

CARACTERIZACIÓN MORFOAGRONÓMICA DE CLONES DE ESTEVIA (*Stevia rebaudiana* Bert.) EN LA REGIÓN CARIBE DE COLOMBIA

ANA MELISA JIMÉNEZ RAMÍREZ, Bigo.



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS

MAESTRIA EN CIENCIAS AGRONÓMICAS

MONTERIA

2023

CARACTERIZACIÓN MORFOAGRONÓMICA DE CLONES DE ESTEVIA (*Stevia rebaudiana* Bert.) EN LA REGIÓN CARIBE DE COLOMBIA

ANA MELISA JIMÉNEZ RAMÍREZ, Blg.

**Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de
Magister en Ciencias Agronómicas, énfasis en Fisiología de cultivos.**

**DIRECTOR
HERMES ARAMENDIZ TATIS, Ph.D.**

**CODIRECTOR
LUIS ALFONSO RODRIGUEZ PAÉZ, Ph.Dc**

**UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS
MAESTRIA EN CIENCIAS AGRONÓMICAS
MONTERÍA**

2023

**La responsabilidad ética, legal y científica de las ideas expresadas,
conceptos y resultados del proyecto son responsabilidad del autor.**

**Artículo 17, acuerdo No. 039 del 24 de junio de 2005 del Consejo Superior de
la Universidad de Córdoba.**

Nota de aceptación

Director:
Hermes Araméndiz Tatis, I.A., Ph. D

Codirector:
Luis Alfonso Rodríguez Páez, I.A., Ph. Dc

Miguel Espitia Camacho, I.A., Ph. D
Jurado

Marcelo Francisco Pompelli, Ph. D
Jurado

Montería, junio 7 de 2023

DEDICATORIA

A el amado de mi alma, Dios que con su infinita misericordia y amor me permitió culminar este logro. Para Él sea toda la gloria.

A mis padres Rusbel Jiménez y Tarcila Ramírez, por su entrega total y completa hacia mí.

A mis hermanos y sobrinos, por llenarme de motivación.

Ana Melisa Jiménez Ramírez

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi más profunda gratitud al Profesor Luis Alfonso Rodríguez Páez, cuyo respaldo ha sido fundamental para el éxito de esta investigación, por la oportunidad que me brindó para llevar a cabo este estudio y por compartir su conocimiento.

Asimismo, extiendo mi reconocimiento al grupo regional de investigación participativa de los pequeños productores de la costa Atlántica (INVEPAR), cuya ejecución y financiamiento hicieron posible la realización de este proyecto titulado “Contribución a la diversidad genética de la estevia *Stevia rebaudiana* (Bert.) mediante mejoramiento genético convencional y técnicas biotecnológicas en Colombia”.

Mi más sincero agradecimiento Al Dr. Hermes Araméndiz Tatis, por su invaluable asesoría académica y profesional para el desarrollo de este trabajo de investigación. Su orientación ha sido fundamental para el logro de los objetivos planteados.

A los distinguidos jurados Dr. Marcelo Pompelli y Dr. Miguel Espitia, les agradezco por su orientación, sugerencias y valiosos aportes a este estudio que contribuyeron significativamente en esta investigación.

Al Ingeniero agrónomo Jenry Hernández Murillo, por su valiosa colaboración en la corrida de los análisis de caracterización y por la facilitación de implementos en campo.

A Andrés Vega, por su consejería, lo cual fue esencial para culminar este logro.

A la asistente de campo Libia Ochoa, por enseñarme el manejo agronómico de la estevia.

A los señores del vivero, Julio y Jhon Jairo, por su ayuda en la preparación de sustrato, así como a los trabajadores de la plancha por el transporte de este.

Al Ingeniero agrónomo Anthony Ariza, por su apoyo en la toma de los parámetros fisiológicos con el analizador de gases infrarrojo.

A la Universidad de Córdoba, por brindarme la oportunidad de formarme académica y profesionalmente. Su compromiso con la excelencia académica ha sido fundamental en mi desarrollo como investigadora.

TABLA DE CONTENIDO	pág.
RESUMEN	11
ABSTRACT	13
1. INTRODUCCION.....	16
2. ESTADO DEL ARTE.....	20
2.1 GENERALIDADES DE LA ESPECIE.....	20
2.2 GLUCÓSIDOS DE ESTEVIOL.....	21
2.3 ESTEVIÓSIDO.....	22
2.4 REBAUDIÓSIDO A	22
2.5 RENDIMIENTO DE LA ESTEVIA.....	24
2.6 CARACTERIZACIÓN MORFOAGRONÓMICA.....	24
2.7 DESCRIPTORES.....	25
2.8 VARIABILIDAD GENÉTICA	26
2.9 ANÁLISIS DE CLÚSTER (AC).....	27
2.10 ASPECTOS FISIOLÓGICOS DE LA FLORACIÓN.....	29
3. MATERIALES Y MÉTODOS	32
3.1. LOCALIZACIÓN.....	32
3.2. VARIABLES E INDICADORES.....	32
3.2.1 Variables independientes.....	32
3.2.2 Variables dependientes.	34
3.3 DISEÑO EXPERIMENTAL.....	37
3.4 OBJETIVO 1: CARACTERIZAR MORFOAGRONÓMICAMENTE LOS CLONES DE ESTEVIA	38
3.4.1. Fase de invernadero.	38
3.4.2. Fase de campo.	39
3.4.3. Caracterización morfoagronómica.	39
3.4.4. Análisis de datos.	39
3.5 OBJETIVO 2: REALIZAR EL AGRUPAMIENTO GENÉTICO DE LOS CLONES EVALUADOS.....	40

3.6 OBJETIVO 3: DETERMINAR LA EFICIENCIA DEL INTERCAMBIO GASEOSO DE CINCO GENOTIPOS DE ESTEVIA CON BASE EN SU PRECOCIDAD A FLORACIÓN	40
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	42
4.1 OBJETIVO 1. CARACTERIZACIÓN MORFOAGRONÓMICA DE 87 CLONES DE ESTEVIA (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni) DE LA COLECCIÓN DE LA UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA	42
4.1.1 Variables cualitativas.	42
4.1.2 Análisis de varianza de las variables cuantitativas.	46
4.1.3 Análisis de componentes principales	48
4.1.4 Análisis biplot.	54
4.2. OBJETIVO 2. REALIZAR AGRUPAMIENTO GENETICO DE LOS CLONES EVALUADOS.....	59
4.2.1 Proyección 2D y 3D..	59
4.2.2 Análisis clúster mediante método jerárquico.	64
4.3. OBJETIVO 3. DETERMINAR LA EFICIENCIA DEL INTERCAMBIO GASEOSO DE CINCO GENOTIPOS DE ESTEVIA CON BASE EN SU PRECOCIDAD A FLORACIÓN	77
4.3.1 El intercambio de gases.	77
5. CONCLUSIONES.....	83
6. RECOMENDACIONES	84
7. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	85

INDICE DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Nombre y origen de los clones segregantes de <i>Stevia rebaudiana</i> para caracterización morfoagronómica.	32
Tabla 2. Variables evaluadas para caracterización de 87 clones de <i>Stevia rebaudiana</i> de acuerdo con Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales (UPOV).	35
Tabla 3. Frecuencias para características cualitativas de 87 clones de <i>Stevia rebaudiana</i> Bert.	42
Tabla 4. Análisis de varianza para 87 clones de <i>Stevia rebaudiana</i>	46
Tabla 5. Cuadrados medios y estadísticas descriptivas para variables cuantitativas de 87 clones de <i>Stevia rebaudiana</i>	47
Tabla 6. Matriz de correlaciones para variables cuantitativas de <i>Stevia rebaudiana</i>	49
Tabla 7. Estimativas de autovectores e importancia de descriptores.	52
Tabla 8. Peso de variables discriminantes en los ocho componentes principales del ACP.	52
Tabla 9. Clones y distancias genéticas calculadas por el método K means.	59
Tabla 10. Descriptores cuantitativos para 87 clones de <i>S. rebaudiana</i> agrupados por el método K means.	63
Tabla 11. Distancia de Gower entre 87 clones de <i>Stevia rebaudiana</i>	64

Tabla 12. Genotipos más y menos divergentes de <i>S. rebaudiana</i> , según distancia de Gower.....	66
Tabla 13. Descriptores cualitativos determinados en 87 clones de <i>Stevia rebaudiana</i>	69
Tabla 14. Descriptores cuantitativos determinados en 87 clones de <i>Stevia rebaudiana</i>	73
Tabla 15. Datos cuantitativos mostrados por clones del grupo I.....	73
Tabla 16. Datos cuantitativos mostrados por clones del grupo II.....	74
Tabla 17. Datos cuantitativos mostrados por clones del grupo III.....	74
Tabla 18. Datos cuantitativos mostrados por clones del grupo IV.	76

INDICE DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Estructura genérica de glucósidos de esteviol, presentes en las hojas de <i>Stevia rebaudiana</i>	21
Figura 2. Estructura de los principales glucósidos de esteviol.....	23
Figura 3. Componentes de las vías de inducción floral en <i>Stevia rebaudiana</i>	31
Figura 4. Histograma de EIFC - EIF	45
Figura 5. Biplot CP1 vs CP2 para variables discriminantes en 87 clones de <i>S. rebaudiana</i>	55
Figura 6. Biplot CP1 vs CP3 para variables discriminantes en 87 clones de <i>S. rebaudiana</i>	56
Figura 7. Biplot CP2 vs CP3 para variables discriminantes en 87 clones de <i>S. rebaudiana</i>	58
Figura 8. Proyección de agrupamiento 2D de 87 clones de <i>Stevia rebaudiana</i> por método de agrupamiento K means.	62
Figura 9. Agrupamiento para 87 clones de <i>Stevia rebaudiana</i> con distancia de Gower método UPGMA.....	68
Figura 10. Intercambio gaseoso de cinco genotipos de <i>Stevia rebaudiana</i>	79
Figura 11. Regresión entre la relación de la tasa de transporte de electrones (ETR) y la fotosíntesis neta (AN) vs la conductancia estomática (gs).....	80
Figura 12. Mapa de calor de variables fisiológicas en los cinco genotipos de <i>Stevia rebaudiana</i>	81

INDICE DE ANEXOS

	pág.
ANEXO 1. Análisis químico del suelo.	95
ANEXO 2. Mapa de campo y distribución de los clones en el experimento.	96
ANEXO 3. Medias de caracteres cuantitativos en 87 clones de <i>Stevia rebaudiana</i>	97
ANEXO 4. Variabilidad de la forma de la hoja.	101
ANEXO 5. Variabilidad en etapa de floración.	101
ANEXO 6. Variabilidad en color de la flor.	102
ANEXO 7. Fotografía del ensayo bajo condiciones de umbráculo.	102

RESUMEN

La estevia (*Stevia rebaudiana* Bert.) es un edulcorante natural con glucósidos de esteviol (GS) bajos en calorías y propiedades medicinales que conceden grandes beneficios a la salud. La Universidad de Córdoba necesita caracterizar los recursos fitogenéticos de *S. rebaudiana* para identificar genotipos divergentes y mejorar la especie. El estudio se realizó en el año 2022 en el área experimental de la Universidad de Córdoba, y para ello se estableció un diseño de bloques completos al azar (DBCA), con 87 tratamientos y 3 repeticiones, evaluando 25 caracteres morfoagronómicos basados en el descriptor de la UPOV. Se utilizó el análisis de componentes principales para la identificación de caracteres discriminantes y el análisis de divergencia genética mediante el método UPGMA basado en la distancia de Gower. Además, se evaluó la eficiencia de intercambio gaseoso mediante un analizador de gases infrarrojo portátil de flujo abierto. Los resultados demostraron que los clones exhibieron una amplia gama de variabilidad genética para las características: etapa inicial de floración y forma de la hoja. El análisis de componentes principales explicó el 69,57% de la variación con ocho componentes e identificó las variables con más variación: CP1 con 19,65% en altura de la planta, CP2 con 12,58% en etapa inicial de floración, CP3 con 10,58% en tamaño de la flor, CP4 con 7,04% en tipo de planta, CP5 con 5,71% en presencia de antocianina en el tallo, CP6 con 4,84% en número de nodos, CP7 con 4,80% en resistencia ante la enfermedad tizón del sur y CP8 con 4,37% en incisión del margen de la hoja. Los descriptores cuantitativos, que más contribuyen a la diversidad genética fueron capacidad de propagación vegetativa, número de nudos y el grosor del tallo, estos rasgos fueron más eficientes para explicar la disimilitud entre los genotipos. Mediante el análisis de conglomerado, se formaron 4 grupos, de los cuales tuvieron 3, 1, 66 y 17 genotipo; donde el clon L052 se identificó como un genotipo a parte de las demás, debido a que no presenta pubescencia en la hoja, etapa de floración tarde, color de la hoja verde pálido y un rasgo favorable de número de ramas primarias. Los genotipos L020 y L102 del primer grupo presentaron características deseables para producción de biomasa, siendo estos los más divergentes y con atributos agronómicos favorables. Además, el clon L020 posee características como

alta eficiencia en el uso del agua y alta fotosíntesis neta, reflejado en una mayor producción de área foliar. Los clones del grupo 3 fueron los más precoces a floración, ciclo corto y las tasas más bajas de rendimiento seco, siendo el clon L082 quien presentó la floración más temprana, lo que convierte a este grupo agronómicamente no deseable; mientras que el último grupo posee los genotipos con el menor grosor del tallo y floraciones intermedias representado por el clon L057. Estos resultados permiten seleccionar los clones L020 y L102 para su evaluación en las áreas productoras de la región Caribe, a través de Pruebas de Evaluación Agronómica y/o ser usados como parentales para el programa de mejoramiento genético.

Palabras claves: Recursos fitogenéticos, descriptores, análisis multivariado, afinidad genética

ABSTRACT

Stevia (*Stevia rebaudiana* Bert.) is a natural sweetener with low-calorie steviol glycosides (GS) and medicinal properties that provide great health benefits. The University of Córdoba needs to characterize the plant genetic resources of *S. rebaudiana* to identify divergent genotypes and improve the species. The study was carried out in the year 2022 in the experimental area of the University of Córdoba, and for this purpose a randomized complete block design (DBCA) was established, with 87 treatments and 3 repetitions, evaluating 25 morphoagronomic characters based on the descriptor of UPOV. Principal component analysis was used to identify discriminant characters and analysis of genetic divergence using the UPGMA method based on Gower's distance. In addition, the gas exchange efficiency was evaluated using an open-flow portable infrared gas analyzer. The results demonstrated that the clones exhibited a wide range of genetic variability for the characteristics: initial flowering stage and leaf shape. Principal component analysis explained 69.57% of the variation with eight components and identified the variables with the most variation: CP1 with 19.65% in plant height, CP2 with 12.58% in the initial flowering stage, CP3 with 10.58% in flower size, CP4 with 7.04% in plant type, CP5 with 5.71% in the presence of anthocyanin in the stem, CP6 with 4.84% in number of nodes, CP7 with 4.80% in resistance to the southern blight disease and CP8 with 4.37% in incision of the leaf margin. The quantitative descriptors that most contributed to genetic diversity were vegetative propagation capacity, number of nodes and stem thickness; these traits were more efficient to explain the dissimilarity between genotypes. Through the cluster analysis, 4 groups were formed, of which they had 3, 1, 66 and 17 genotypes; where clone L052 was identified as a genotype apart from the others, because it does not present pubescence on the leaf, late flowering stage, pale green leaf color and a favorable trait of number of primary branches. The L020 and L102 genotypes of the first group presented desirable characteristics for biomass production, these being the most divergent and with favorable agronomic attributes. In addition, clone L020 has characteristics such as high efficiency in water use and high net photosynthesis, reflected in a greater

production of leaf area. The clones of group 3 were the earliest to flowering, short cycle and the lowest rates of dry yield, with clone L082 presenting the earliest flowering, which makes this group agronomically undesirable; while the last group has the genotypes with the smallest thickness of the stem and intermediate flowering represented by clone L057. These results allow the selection of clones L020 and L102 for their evaluation in the producing areas of the Caribbean region, through Agronomic Evaluation Tests and/or to be used as parents for the genetic improvement program. *Stevia* (*Stevia rebaudiana* Bert.) is a natural sweetener with low-calorie steviol glycosides (GS) and medicinal properties that provide great health benefits. The University of Córdoba needs to characterize the plant genetic resources of *S. rebaudiana* to identify divergent genotypes and improve the species. The study was carried out in the year 2022 in the experimental area of the University of Córdoba, and for this purpose a randomized complete block design (DBCA) was established, with 87 treatments and 3 repetitions, evaluating 25 morphoagronomic characters based on the descriptor of UPOV. Principal component analysis was used to identify discriminant characters and analysis of genetic divergence using the UPGMA method based on Gower's distance. In addition, the gas exchange efficiency was evaluated using an open-flow portable infrared gas analyzer. The results demonstrated that the clones exhibited a wide range of genetic variability for the characteristics: initial flowering stage and leaf shape. Principal component analysis explained 69.57% of the variation with eight components and identified the variables with the most variation: CP1 with 19.65% in plant height, CP2 with 12.58% in the initial flowering stage, CP3 with 10.58% in flower size, CP4 with 7.04% in plant type, CP5 with 5.71% in the presence of anthocyanin in the stem, CP6 with 4.84% in number of nodes, CP7 with 4.80% in resistance to the southern blight disease and CP8 with 4.37% in incision of the leaf margin. The quantitative descriptors that most contributed to genetic diversity were vegetative propagation capacity, number of nodes and stem thickness; these traits were more efficient to explain the dissimilarity between genotypes. Through the cluster analysis, 4 groups were formed, of which they had 3, 1, 66 and 17 genotypes; where clone L052 was identified as a genotype apart from the others, because it does not present pubescence on the leaf, late

flowering stage, pale green leaf color and a favorable trait of number of primary branches. The L020 and L102 genotypes of the first group presented desirable characteristics for biomass production, these being the most divergent and with favorable agronomic attributes. In addition, clone L020 has characteristics such as high efficiency in water use and high net photosynthesis, reflected in a greater production of leaf area. The clones of group 3 were the earliest to flowering, short cycle and the lowest rates of dry yield, with clone L082 presenting the earliest flowering, which makes this group agronomically undesirable; while the last group has the genotypes with the smallest thickness of the stem and intermediate flowering represented by clone L057. These results allow the selection of clones L020 and L102 for their evaluation in the producing areas of the Caribbean region, through Agronomic Evaluation Tests and/or to be used as parents for the genetic improvement program.

Keywords: Plant genetic resources, descriptors, multivariate analysis, genetic affinity

1. INTRODUCCION

Stevia rebaudiana (Bert.), es una planta herbácea perteneciente a la familia Asteraceae, se encuentra en las regiones del noroeste de América del sur (Samsulrizal et al., 2019), siendo Paraguay su centro de origen. La estevia es considerada de gran valor medicinal y comercial (Sharma et al., 2016) ya que sus hojas contienen una gran cantidad de glucósidos de esteviol y sus extractos se utilizan como alternativa frente a otros azúcares sintéticos, donde su demanda mundial es de 450.000 ha y la oferta solo cubre 50.000 (Rodríguez, 2021).

El sabor dulce de la hoja de estevia se le atribuye a la presencia de esteviósido y rebaudiósido A (Samuel et al., 2018; Martins et al., 2017) que proporcionan un poder de hasta 300 veces más potente que la sacarosa (Giri et al., 2014; Kovačević et al., 2018).

Los metabolitos secundarios de la estevia tienen diferentes propiedades terapéuticas: son antihipertensivos, antimicrobianos, anticancerígenos y hiperglucémicos (Pande et al., 2013; Rojas et al., 2018). Por tanto, los esteviósidos se consideran saludables y un alimento seguro para los pacientes diabéticos, ya que reducen el nivel de azúcar en la dieta (Anker et al., 2019). Es por eso, que la estevia es considerada un cultivo importante por sus características socioeconómicas y bondades en la salud que aportan beneficios para la calidad de vida, lo cual motiva al sector público y privado a colaborar y participar para fortalecer la cadena productiva de la agricultura (FAO, 2022).

Esta especie fue introducida a Colombia en los años 90 desde el sur del continente y dada su importancia económica y en la salud, se viene trabajando en el fomento de la misma sobre una base genética muy estrecha, con los clones Morita 1 y Morita 2, lo cual hace al país dependiente de tecnología foránea, con incertidumbre de su comportamiento bajo condiciones del trópico y es un riesgo para la agricultura, en razón a la vulnerabilidad de la especie a factores bióticos y abióticos, como

aconteció en el pasado con la papa en Irlanda con el tizón causada por *Phytophthora infestans* (Rojas Estrella, 2021) y la roya del café en Latinoamérica con *Hemileia vastatrix* (Quiroga-Cardona, 2021).

De acuerdo con reportes de AGRONET (2022), el área cultivada en estevia para el año 2020 fue de 100 ha, siendo Antioquia y Valle del Cauca, los principales productores del país con un área de 75 y 25 has, respectivamente; rendimiento promedio de 1,78 y 2.5 t ha⁻¹ de biomasa seca, registrándose un aumento progresivo del área cultivada desde el año 2011 al presente, pero con bajos rendimientos con relación a otros países como Turquía, que posee rendimientos de biomasa fresca y seca de 26,5 y 7,5 t ha⁻¹ (Uçar et al., 2018), lo cual refleja una significativa brecha tecnológica que se sustenta en lo genético como en el manejo agronómico, dado que la producción nacional, depende en un alto porcentaje de la siembra de la variedad Morita II proveniente de Japón, la cual posee floración temprana y poca acumulación y distribución de biomasa (Ramírez-Jaramillo et al., 2020).

La significativa uniformidad genética y el costo de inversión en un cultivo como estos, pone en riesgo cualquier inversión agrícola dada la base genética estrecha de dicho genotipo y la alta dependencia del país por esta variedad, que es vulnerable tanto a los efectos del cambio climático como la competencia con cultivos tradicionales como la caña de azúcar que posee una fortaleza desde hace muchos años y amerita ser mucho más competitivo (Jarma et al., 2005; Jarma Orozco et al., 2011).

El programa de mejoramiento genético de estevia de la Universidad de Córdoba posee una riqueza genética con riesgos de perderse, lo cual puede conducir a erosión genética, dado que la forma de conservación es a través de la reproducción asexual, ello implica, aumento de costos por la cantidad de mano de obra y logística para poder hacerlo. Por tal razón, es de vital importancia la caracterización y evaluación de aquellos genotipos que presenten características agronómicas y fisiológicas deseables para el programa de fitomejoramiento, como lo han hecho

otros países en sus estudios sobre variabilidad genética reportados por Guerrero et al (2015); Francisco et al. (2018); Othman et al. (2018).

Los factores ambientales como radiación solar, precipitación, intensidad de la precipitación y temperatura pueden afectar las expresiones fisiológicas y fenotípica de las plantas, ya que inciden en los procesos de fotosíntesis, transpiración, alargamiento celular, crecimiento, desarrollo y competencia entre clones (Orozco et al., 2022). Sin embargo, la uniformidad genética de la variedad Morita representa una amenaza de erosión genética por su limitada capacidad para responder a los cambios en el clima, las poblaciones de patógenos y las prácticas agrícolas con el fin de desarrollar clones con perspectivas para su siembra en nuestro medio.

Existe una problemática a gran escala por la falta de material de siembra de calidad, ya que las plantas cultivadas a partir de semilla sexual varían en su crecimiento, calidad y cantidad de glucósidos de diterpeno y proporción deseable de rebaudiósido-A y esteviósidos (Benítez, 2020), debido a la segregación presentando fenotipos heterogéneos. De igual manera, la autofecundación genera una baja tasa de germinación y alta tasa de semillas infértiles (Arpita et al., 2011), por los efectos de la endogamia.

La Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Agrosavia) ha realizado estudios en distintos lugares de Colombia, registrando hasta cinco cosechas al año, obteniendo para el primer año de producción, entre 6 a 7 toneladas de hoja seca por hectárea (Trujillo-Motta, 2010). Es por eso, que el estudio de los recursos fitogenéticos en *Stevia rebaudiana*, es una alternativa viable y económica como ambiental que favorece al país, puesto que impulsará la economía y generación de empleo, ya que el Caribe colombiano presenta diferentes zonas agroecológicas, que pueden proporcionar el desarrollo y adaptabilidad de esta especie (Jarma-Orozco et al., 2020), siendo una favorable opción para la producción agrícola a escala nacional e internacional beneficiando al sector agroindustrial y a la población rural de los pequeños productores, dado que genera 40 jornales en la etapa de

vivero y en el manejo del cultivo de siembra a cosecha 57 jornales por ha (Azul, 2017).

La caracterización de los recursos fitogenéticos nos permite conocer la variabilidad genética presente, siendo una herramienta disponible que puede contribuir a la sustentabilidad de los sistemas agrícolas. De este modo, los clones segregantes de la Universidad de Córdoba, pueden ser aprovechados y a través de la selección clonal, seleccionar aquellos que poseen combinaciones de genes superiores, relacionados con mayor producción de biomasa fresca/seca y tolerancia a factores bióticos como *Sclerotium* sp y *Septoria* sp y abióticos (Velázquez, 2021).

Considerando lo antes anotado surge la siguiente pregunta problema ¿Cuáles clones con características agronómicas pueden ser aprovechados para un avance generacional y/o ser utilizados para crear cultivares para las condiciones tropicales? Por tanto, se pretende caracterizar morfoagronómica y fisiológicamente los clones de estevia para beneficio del programa de mejoramiento genético de esta especie en la Universidad de Córdoba y de esta manera: 1) Caracterizar morfoagronómicamente los clones de estevia 2) Realizar el agrupamiento genético de los clones evaluados 3) Determinar la eficiencia del intercambio gaseoso de cinco genotipos de estevia con base en su precocidad.

2. ESTADO DEL ARTE

2.1 GENERALIDADES DE LA ESPECIE

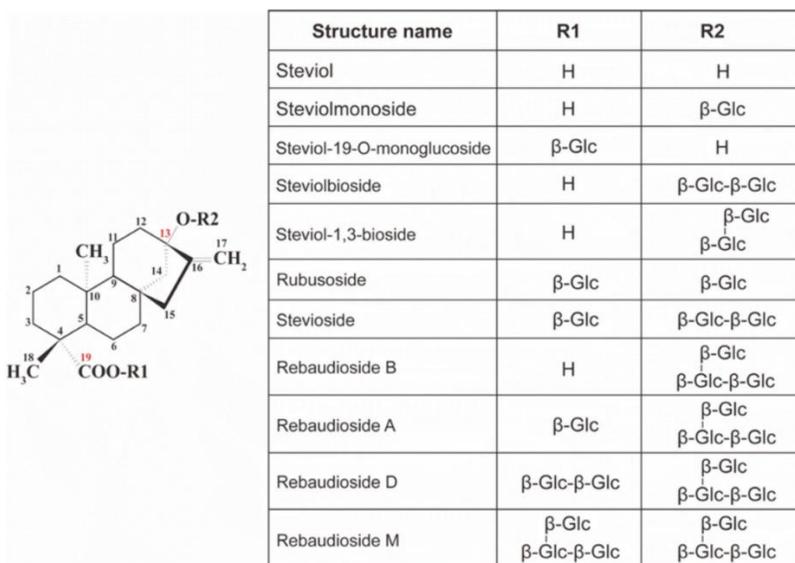
Stevia rebaudiana Bertoni, conocida como hierba dulce o Kaa-He-é (Howlader et al., 2016), es una planta nativa de la región del noroeste de Paraguay. En sus hojas acumula más del 25% al 30% de glucósidos de esteviol (Hajihashemi et al., 2018). Entre los diferentes glucósidos producidos en las hojas de estevia, los esteviosidos son los más abundantes, seguidos del rebaudiósido A. Estos glucósidos son los más importantes y tienen la capacidad de convertirse en un sustituto más saludable de los azúcares de mesa por lo que tienen cero calorías y un perfil de sabor deseable (Samsulrizal et al., 2019).

La estevia se ha cultivado en China, Japón, Estados Unidos, Canadá, Paraguay, Brasil, Argentina, Colombia, donde ha tenido un aumento en la demanda en los últimos años por ser una alternativa atractiva al azúcar en la industria alimentaria y en el sector de la salud (Jarma et al., 2012; Šic Žlabur et al., 2013; Ahmad et al., 2020). Cerca de 230/260 especies se agrupan dentro del género *Stevia*, de las cuales solo producen, glucósidos de esteviol: *S. phlebophylla* y *S. rebaudiana* (Ali et al., 2010).

Los factores abióticos influyen en la productividad, el crecimiento y el desarrollo de las plantas; en cuanto a *S. rebaudiana* es considerada una planta de noche larga, favoreciendo la floración y acortando el crecimiento (Rivera-Avilez et al., 2021), en donde las condiciones físicas y químicas variaran considerablemente, afectando sus caracteres cuantitativos como el tamaño en las hojas, el número de ramas, la altura de la planta, etc por ser características influenciadas por el ambiente (Hernández-Fernández et al., 2021), lo cual puede ocasionar un crecimiento heterogéneo, situación que hace impredecible el rendimiento y reducción de la producción de biomasa de la estevia.

2.2 GLUCÓSIDOS DE ESTEVIOL

Es un compuesto natural, de sabor dulce y sin calorías, que puede utilizarse como sustituto del azúcar y como alternativa a los edulcorantes artificiales (Anton et al., 2010). Dentro de los principales compuestos de glucósidos de esteviol que existen, se destacan, rebaudiósido A, rebaudiósido C y rebaudiósidos dulcósidos, y en pequeñas cantidades, rebaudiósidos D (<0,4%) junto con rebaudiósidos C (1%-2%), dulcósidos A (0,4 % -0,7%) esteviosidos rubusósidos, rebaudiósidos B, E y F (< 0,4% cada uno) (Figura 1). Los glucósidos de esteviol contienen una molécula de carbohidrato (azúcar) unida a un componente que no es azúcar (aglicona) y se pueden convertir mediante escisión hidrolítica en un componente de azúcar y otro que no es azúcar (aglicona). Los glucósidos dulces de estevia contienen glucósidos (glucosa), pentosidos (pentosa), fructósidos (fructosa) (Bernal et al., 2011; Chaturvedula y Prakash, 2011).



(Chaturvedula y Prakash, 2011).

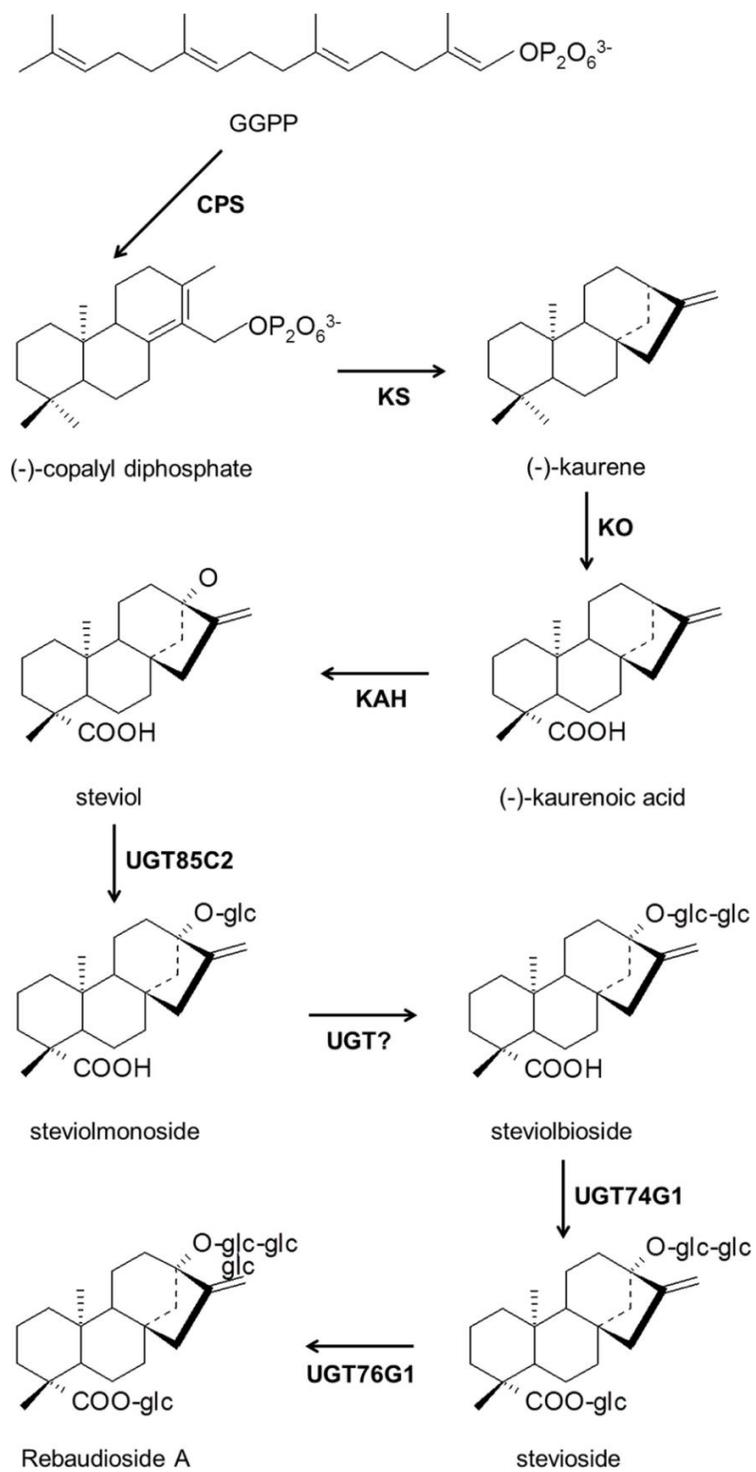
Figura 1. Estructura genérica de glucósidos de esteviol, presentes en las hojas de *Stevia rebaudiana*.

2.3 ESTEVIÓSIDO

Los esteviósidos se encuentran más frecuente en las hojas, siendo el tejido principal para la síntesis y acumulación primaria de glucósidos de esteviol (Karimi et al., 2014). Bioquímicamente hablando es un glucósido formado por tres moléculas de glucosa unidas a una aglicona (Figura 2) y es responsable de las propiedades edulcorantes junto con rebaudiósido A. Fue clasificado como edulcorante no nitrogenado por componerse sólo de moléculas de carbono, hidrógeno y oxígeno (Jarma-Orozco, 2008; Lemus-Mondaca et al., 2012). Químicamente es un compuesto levógiro, no fermentable y soluble en agua, alcohol etílico y metílico. Su poder edulcorante en estado puro y cristalino puede llegar a ser hasta 300 veces mayor que la sacarosa en una solución al 0,4% (Geuns et al., 2007; Lemus et al., 2012). Las moléculas de esteviósido son muy estables en soluciones acuosas dentro de un margen amplio de pH (1-10) y en temperaturas de hasta 198°C (Marcinek y Krejpcio, 2015).

2.4 REBAUDIÓSIDO A

Es un glucósido de esteviol derivado de *Stevia rebaudiana* Bertoni, el rebaudiósido A tiene en su estructura química una unidad más de glucosa (Figura 2) y posee una potencia edulcorante más elevada que esteviósidos, llegando a ser entre 250 y 450 veces superior a la sacarosa (Geuns, 2003). Se encuentra en las hojas de la planta en concentraciones que oscilan entre un 2-4%. Tiene una elevada estabilidad comparado con los otros glucósidos y no tiene sabor amargo a diferencia del esteviósido (Marcinek y Krejpcio, 2015). Además, se han identificado más de 30 tipos de SG en las hojas de estevia, incluidos el esteviolbiósido (SB), Reb B, C, D, E, F y M, y el dulcósido A (Dul A), se han detectado en niveles bajos (Ceunen y Geuns, 2013; Samuel et al., 2018).



(Barbet-Massin et al., 2015)

Figura 2. Estructura de los principales glucósidos de esteviol.

2.5 RENDIMIENTO DE LA ESTEVIA

La producción de biomasa de hojas de estevia es un factor clave de variabilidad del rendimiento, puede variar según las condiciones ambientales, como el clima, el sistema de cultivo, los años de producción, la diversidad genética y la interacción con factores ambientales. Los factores ambientales que pueden desempeñar un papel fundamental en el rendimiento de la estevia, se asocian a la respuesta a la disponibilidad de agua y a los nutrientes (Angelini et al., 2018 ; Barbet-Massin et al., 2015 ; Pordel et al., 2015).

2.6 CARACTERIZACIÓN MORFOAGRONÓMICA

La caracterización de los recursos fitogenéticos es la determinación de un grupo de características mediante el uso de descriptores morfológicos definidos que permiten diferenciar las accesiones, siendo el objetivo principal medir la variabilidad genética. Algunos caracteres pueden ser altamente heredables, fácilmente observables y expresables en la misma forma en cualquier ambiente. Por tanto, la caracterización es el primer paso en el mejoramiento de los cultivos y programas de conservación (Hernández, 2013); donde se involucra el registro de variables de naturaleza cuantitativa y cualitativa (Correa et al., 2019).

En la caracterización de una especie se estima la variabilidad existente en el genoma de la población de individuos que la conforman. Así, el genoma de las plantas contiene toda la información codificada en forma de genes que se necesitan para establecer su identidad morfológica, para desarrollar los procesos y funciones vitales para su supervivencia (Franco e Hidalgo, 2003).

Estudios realizados por Othman et al. (2018), reportaron la existencia de variabilidad genética en *Stevia rebaudiana* Bertoni y fue detectada a través de la caracterización morfológica, bioquímica y molecular. Los análisis revelaron una alta variabilidad con el contenido de esteviosidos entre el 4,54% y el 20, 36%. De los marcadores ISSR, el 78% fueron polimórfico, siendo un indicador prometedor del desarrollo de nuevas variedades de estevia.

Francisco et al. (2018), caracterizaron siete accesiones de estevia en Brasil mediante caracteres morfológicos y fisiológicos, donde las accesiones de estevia

mostraron características de interés por el mejoramiento de cultivos tanto para producción de biomasa como de glucósidos de esteviol (SGs).

Anami et al. (2010), realizaron una caracterización y divergencia genética de clones de *Stevia rebaudiana* basados en características agronómicas y morfológicas. Se observó una amplia variabilidad genética, donde se correlacionaron positiva y significativamente entre producción de materia fresca y número de ramas por planta, con el método UPGMA, utilizando la distancia generalizada de Mahalanobis como medida de disimilitud genética reportaron una divergencia genética del (79%) en relación rebaudiósido A / esteviósidos.

Pico-González et al. (2020), en Colombia realizaron la caracterización morfoagronómicas de 25 clones de estevia, en el cual contemplaron características agronómicas de hábito de crecimiento erecto, rendimiento de follaje y número de días a floración para la selección de clones que son de interés para adelantar programas de mejoramiento genético en la especie.

Rivera-Avilez et al. (2021), evaluaron la interacción de la interrupción nocturna en el intercambio de gases, el retraso de la floración y la síntesis de glucósidos de esteviol, demostrando que la luz suplementaria retrasa significativamente la floración y aumenta en una proporción similar los niveles de esteviósidos y rebaudiosido-A, por lo que NI (interrupción de noche) aumentó la fotosíntesis neta (9% al 20 %) mientras que se retrasa de 4 a 10 días de la floración.

2.7 DESCRIPTORES

Los descriptores son las características mediante las cuales se puede dar a conocer el germoplasma y determinar su utilidad potencial. Deben ser específicos para cada especie, diferenciar los genotipos y expresar el atributo de manera precisa y uniforme. Por tanto, se usan descriptores específicos de acuerdo al tipo de cultivo o especie (Biodiversity International, 2023).

Un descriptor es una característica o atributo cuya expresión es fácil de medir, registrar o evaluar y que hace referencia a la forma, estructura o comportamiento de una accesión. Según Querol (1992), los descriptores indican en forma práctica y

fácil a cada accesión. Los más utilizados en las plantas son: de pasaporte, de manejo, del sitio y del medio ambiente, de caracterización y de evaluación. Los descriptores de caracterización permiten la discriminación fácil entre fenotipos. Generalmente son caracteres altamente heredables que pueden ser fácilmente detectados a simple vista y se expresan igualmente en todos los ambientes (Franco e Hidalgo, 2003).

2.8 VARIABILIDAD GENÉTICA

Es el componente básico de la biodiversidad y se define como las variaciones heredables que ocurren en cada organismo, entre los individuos de una población y entre las poblaciones dentro de una especie. En la caracterización de una especie se estima la variabilidad existente en el genoma de la población de individuos que la conforma (Piñero et al., 2008). Para estudiar la variación genética existente entre individuos, se emplean diferentes tipos de marcadores: morfológicos, bioquímicos y moleculares.

Los marcadores morfológicos, se han venido utilizando para estudiar la diversidad genética, identificar plantas cultivadas y conservar los recursos genéticos. Por tanto, es el primer paso en el mejoramiento de los cultivos y programas de conservación. Asimismo, establecen las bases para identificar y diferenciar variedades, pero presentan las siguientes limitantes: su obtención es tardada, son métodos complejos, limitados, subjetivos, involucran estados de desarrollo específicos del cultivo (Yasmin et al., 2006).

Los marcadores bioquímicos, se basan en la separación de enzimas con la misma función y que se diferencian en tamaño, carga o conformación. El extracto proteico se obtiene mediante trituración del tejido elegido, y se lleva a cabo la separación de las isoenzimas mediante un campo eléctrico que produce un desplazamiento de las proteínas en función de su carga y tamaño. Como soporte donde se produce dicha separación se pueden utilizar geles de poliacrilamida o de almidón, siendo estos últimos los más utilizados. Para visualización de las enzimas se aprovecha su

actividad catalítica, provocando una reacción en la que intervienen el sustrato específico y un producto coloreado o fluorescente. Se trata de una técnica muy popular por su sencillez, bajo coste, rapidez y la gran cantidad de información que puede aportar. Presenta la limitación de unos bajos niveles de polimorfismo, lo que la limita para algunos usos de análisis de parentesco e identificación de material (Jiménez y Collada, 2000).

Los marcadores moleculares, se conocen como el método de caracterización rápida de la diversidad genética y poblacional. El estudio de la diversidad y variabilidad genética se ha estimado a través de marcadores RAPD e ISSR / microsatélites (SSR) (Sharma et al., 2016).

El análisis de microsatélites es una de las herramientas moleculares más usadas en la actualidad por sus diversas aplicaciones y cualidades, debido a que son marcadores genéticos altamente variables (Ramesh et al., 2020). Estas variaciones están dadas por la longitud del fragmento entre individuos que dan lugar a diferentes alelos, exhibiendo una amplia variación alélica que los vuelve altamente polimórficos. Otras características que los hacen altamente informativos y prácticos son: herencia mendeliana simple, codominancia, selección neutra, tasa de mutación alta, los cuales son amplificables por PCR, fáciles de medir, analizar, y pueden ser altamente reproducibles y confiables (Aguirre et al., 2017).

2.9 ANÁLISIS DE CLÚSTER (AC)

El análisis clúster, conocido como análisis de conglomerados, es una técnica estadística multivariante que busca agrupar elementos (o variables) tratando de lograr la máxima homogeneidad en cada grupo y la mayor diferencia entre los grupos (Lin y Chen, 2006). Los grupos se forman de tal manera que cada objeto es parecido a los que hay dentro del clúster con respecto a algún criterio de selección predeterminado (Hair et al., 2004; Rao y Srinivas, 2006)

Los conglomerados se agrupan en dos categorías:

Algoritmos de partición: Método que se caracteriza por dividir el grupo de accesiones en un número preseleccionado de conglomerados que no tienen una estructura jerárquica.

Algoritmos jerárquicos: Método que entrega una jerarquía de divisiones del conjunto de elementos en conglomerados.

Un método jerárquico aglomerativo parte con una situación en que cada observación forma un conglomerado y en sucesivos pasos se van uniendo, hasta que finalmente todas las situaciones están en un único conglomerado.

Un método jerárquico disociativo sigue el sentido inverso, parte de un gran conglomerado y en pasos sucesivos se va dividiendo hasta que cada observación queda en un conglomerado distinto (López Razo, 2016).

Dentro de los métodos jerárquicos aglomerativos se tienen: (i) método de encadenamiento simple, (ii) métodos de encadenamiento completo, (iii) método de encadenamiento medio, (iv) método de Ward, y (v) método del centroide (Hair et al., 2004). Estos procedimientos difieren en la forma como se calcula la distancia entre los conglomerados, entre los que se encuentran Manhattan, coeficiente de correlación de Pearson, Chebichev y Cosine (Carrasco Oberto, 2020).

El clúster por medio de técnicas no jerárquicas no requiere de procesos de construcción de árboles; en su lugar, asignan los objetos a clústeres una vez que el número de grupos a formar esté especificado.

Método de Ward. Este procedimiento tiende a combinar los conglomerados con un número reducido de observaciones y a formar grupos con aproximadamente el mismo número de grupos (Rao y Srinivas, 2006).

Encadenamiento medio entre grupos. Mide la proximidad entre dos grupos calculando la media de las distancias entre objetos de ambos grupos o las medias de las similitudes entre objetos de ambos grupos. Algunos autores, como Hair et al.

(2004), afirman que el método está sesgado a formar conglomerados con aproximadamente la misma varianza.

Método del centroide. En este método la distancia entre los grupos se define como la distancia entre sus centroides. El centroide de cada grupo o clúster es a su vez el promedio de las posiciones de todos los puntos dentro del clúster. En este método, cada vez que se agrupa a los individuos se calcula nuevamente el centroide; así el centroide cambia a medida que se fusionan los grupos (Hair et al., 2004).

El análisis de patrones, que es el uso combinado del análisis de clúster y técnicas de ordenamiento, brinda una poderosa herramienta para examinar grandes conjuntos de datos. Variables continuas y categóricas son evaluadas en cada accesión o cultivares de los bancos de germoplasmas, dificultando la elaboración de escalas numéricas que integren variables continuas, nominales u ordinales. Entre las alternativas metodológicas para abordar este problema, está la combinación de técnicas que permiten el análisis de variables mixtas (Molina et al., 2019). Es por lo que, el método de aglomeración adecuado se define principalmente por el objetivo de la caracterización (Núñez-Colín y Escobedo-López, 2014).

2.10 ASPECTOS FISIOLÓGICOS DE LA FLORACIÓN

La transición a la floración es el proceso por el cual las plantas pasan del estado vegetativo al reproductivo. El desarrollo floral, es de suma importancia agronómica para la formación de las semillas, el crecimiento de los frutos y la productividad de los cultivos, ya que afecta directamente su éxito reproductivo y tiene repercusiones en la productividad de las plantas de interés agronómico (Infantes, 2020).

Para que la reproducción sea exitosa, las plantas tienen que florecer cuando han llegado a un estado de desarrollo maduro. Esto se alcanza tanto por la regulación genética mediada principalmente por los microARNs *miR156* y *miR172*, como por el estado fisiológico de la planta dado por las hormonas, y la señalización por azúcares como la trehalosa-6-fosfato (Wahl et al., 2013; Conti, 2017).

En los últimos años se ha venido estudiando la fenología de las angiospermas como mecanismo de optimización de rasgos agronómicos en órganos de interés agrícola: semilla, frutos u hojas, dado la estrecha relación de la domesticación de cultivos con la fase vegetativa o reproductiva, así como la adaptabilidad regional, el rendimiento y calidad de los cultivos (Lin et al., 2020). Por tanto, el estudio de los parámetros fotoperiódicos de la etapa de floración es cruciales para seleccionar las condiciones ambientales adecuadas donde una especie o genotipo pueda establecerse y crecer con éxito y también para desarrollar modelos predictivos de crecimiento y rendimiento de cultivos (Moraes et al., 2019).

En la inducción floral, se da una integración combinada de estímulos exógenos y endógenos: cambios fotoperiódicos /reloj circadiano , vernalización, acción de giberelinas , metabolismo autónomo y de edad (Figura 3), que conducen a la transición de la fase vegetativa a la reproductiva (Bäurle y Dean, 2006). Durante los cambios fotoperiódicos, los fotorreceptores FITOCROMOS (PHY A y B), CRIPTOCROMOS (CRY1 y 2) y FLAVIN-BINDING, KELCH REPEAT, F-BOX 1 (FKF1) junto con genes relacionados con el ritmo circadiano PSEUDO-REPRESSOR REGULATOR (PRR), CIRCADIAN CLOCK ASSOCIATED 1 (CCA1), CYCLING DOF FACTOR (CDF) y CONSTITUTIVE PHOTOMORFOGENIC 1 (COP1) regulan la expresión del gen CONSTANS (Figura 3).

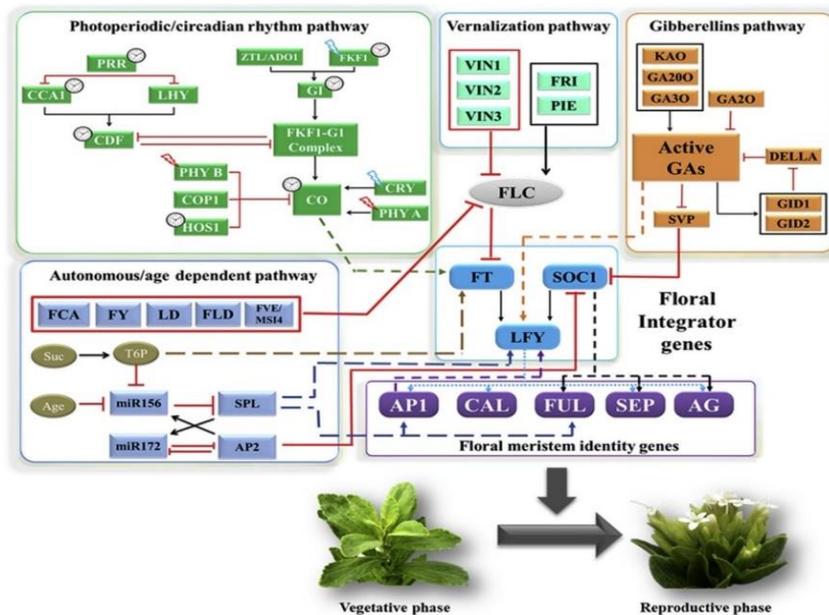
Las fitohormonas, principalmente los ácidos giberélicos (GAs) actúan como moléculas de señalización floral endógenas al modular la actividad de las proteínas DELLA (regulador transcripcional que contiene dominio GRAS) (Davis, 2009; Hernández-garcía et al., 2019).

Todas estas vías de señalización se integran para activar el gen integrador floral FLOWERING LOCUS T (FT) en los tejidos de las hojas (Davis, 2009), esta molécula de señalización de larga distancia viaja para disparar el meristema apical y activar otros integradores florales (SUPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS1 (SOC1) and LEAFY (LFY). De modo que, la regulación positiva de los genes de identidad de meristemas florales aguas abajo APETALA 1

(AP1), COLIFLOR (CAL), AGAMOUS (AG), FRUITFUL (FUL) y SEPALLATA (SEP) indican su competencia para la transición del meristemo apical del brote (SAM) al meristemo floral (FM).

Por tanto, FLOWERING LOCUS T (FT), tiene una fuerte actividad de inducción floral, por lo que promueve la transición al desarrollo reproductivo, es decir esta regulación de la expresión de genes aguas abajo que comienzan la floración/señalización floral (Spitz y Furlong, 2012). Al ser una parte esencial del modelo ABCE de desarrollo floral, se informa que las cajas MADS (tipo MIKC) son los factores de transcripción (TF) más importantes relacionados con la floración en las plantas superiores (Kumar et al., 2016).

Sin embargo, la inducción de la floración en plantas superiores está determinada tanto por factores genéticos como por factores ambientales externos, producto de la expresión secuencial de genes de floración tanto en el tiempo como en el espacio (Vañó, 2021). Es por eso, que el estudio de las diferentes vías de regulación de la floración es fundamental para conocer la reproducción y viabilidad de los cultivos.



(Singh et al., 2020)

Figura 3. Componentes de las vías de inducción floral en *Stevia rebaudiana*

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LOCALIZACIÓN

La investigación se realizó en Montería, en los lotes experimentales de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad de Córdoba en el semestre I del año 2022, localizada en las coordenadas geográficas 8°47'37"1 latitud N 75° 51'51"4 longitud W a 14 m. s.n.m con precipitación anual promedio de 1.346,1 mm, humedad relativa del 84%, temperatura promedio anual de 27.4°C, brillo solar anual de 2.108,2 horas y zona de vida denominada bosque seco tropical (bs-T), según la clasificación de Holdrige (Palencia et al., 2006; Schludecker, 2022).

3.2. VARIABLES E INDICADORES

3.2.1 Variables independientes.

Se evaluaron 86 clones experimentales de *Stevia rebaudiana* Bertoni, obtenidos por selección clonal y que forman parte de la colección de estevia de la Universidad de Córdoba, y la variedad comercial Morita II, los cuales se relacionan en la tabla 1.

Los clones se originaron a partir de semillas de origen sexual, resultante de cruzamientos controlados entre plantas de la variedad comercial Morita II originando un total de 115 plantas genéticamente variables por provenir de padres heterocigotos y así conformar una población heterogénea heterocigota, de los cuales fueron seleccionados 86 genotipos.

Tabla 1. Nombre y origen de los clones segregantes de *Stevia rebaudiana* para caracterización morfoagronómica.

N° CLON	ORIGEN	Nombre
L003	Colombia – Universidad de Córdoba	Experimental
L005	Colombia – Universidad de Córdoba	Experimental
L006	Colombia – Universidad de Córdoba	Experimental
L008	Colombia – Universidad de Córdoba	Experimental
L009	Colombia – Universidad de Córdoba	Experimental
L010	Colombia – Universidad de Córdoba	Experimental
L011	Colombia – Universidad de Córdoba	Experimental

L067	Colombia – Universidad de Córdoba	Experimental
L068	Colombia – Universidad de Córdoba	Experimental
L069	Colombia – Universidad de Córdoba	Experimental
L070	Colombia – Universidad de Córdoba	Experimental
L071	Colombia – Universidad de Córdoba	Experimental
L072	Colombia – Universidad de Córdoba	Experimental
L073	Colombia – Universidad de Córdoba	Experimental
L074	Colombia – Universidad de Córdoba	Experimental
L075	Colombia – Universidad de Córdoba	Experimental
L076	Colombia – Universidad de Córdoba	Experimental
L077	Colombia – Universidad de Córdoba	Experimental
L078	Colombia – Universidad de Córdoba	Experimental
L079	Colombia – Universidad de Córdoba	Experimental
L081	Colombia – Universidad de Córdoba	Experimental
L083	Colombia – Universidad de Córdoba	Experimental
L085	Colombia – Universidad de Córdoba	Experimental
L086	Colombia – Universidad de Córdoba	Experimental
L087	Colombia – Universidad de Córdoba	Experimental
L088	Colombia – Universidad de Córdoba	Experimental
L089	Colombia – Universidad de Córdoba	Experimental
L092	Colombia – Universidad de Córdoba	Experimental
L094	Colombia – Universidad de Córdoba	Experimental
L096	Colombia – Universidad de Córdoba	Experimental
L097	Colombia – Universidad de Córdoba	Experimental
L098	Colombia – Universidad de Córdoba	Experimental
L100	Colombia – Universidad de Córdoba	Experimental
L102	Colombia – Universidad de Córdoba	Experimental
L113	Colombia – Universidad de Córdoba	Experimental
L114	Colombia – Universidad de Córdoba	Experimental
MORITA II	Paraguay	Comercial

3.2.2 Variables dependientes.

Las variables de respuesta del estudio se evaluaron teniendo en cuenta el descriptor propuesto por la UPOV (2022), y comprenden variables cualitativas categorizadas y cuantitativas, que en su conjunto suman 25 variables y se detallan en la tabla 2.

Tabla 2. Variables evaluadas para caracterización de 87 clones de *Stevia rebaudiana* de acuerdo con Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales (UPOV).

N°	Variable Cualitativa	Definición	Método	Ítem	Grado	Nota
1**	Tipo de planta	Grado de propagación de las ramas, forma de las ramas primarias y tallo en la etapa inicial de floración en el primer año después de la siembra.	Observación	I II III IV V VI	1 2 3 4 5 6	Densidad de plantación: 1 planta / 0.06 m ²
2**	Presencia de antocianinas en el tallo	Presencia de antocianinas en el tallo principal, en la etapa vegetativa y en la etapa reproductiva	Observación	Ausente Presente	1 9	
3**	Cantidad de pubescencia en el tallo	Cantidad de pubescencia en el tallo principal, en la etapa vegetativa	Observación	Nulo Pocos Medio Muchos	1 3 5 7	
4*	Forma de la hoja	Forma de la lámina de la hoja más grande del tallo principal, en la etapa vegetativa tardía	Observación	Elíptica Rómbica Obovada Aovada Lanceolada	1 3 1 3 5 7 9	
5*	Grosor de la hoja	Grosor de la lámina de la hoja más grande en el tallo principal, en la etapa vegetativa tardía	Observación	Muy delgado Delgado Medio Grueso Muy grueso	1 3 5 7 9	
6*	Color de la hoja	Color en el lado adaxial de la hoja, en la etapa vegetativa y reproductiva.	Observación	Verde pálido Verde Verde oscuro	3 5 7	
7**	Incisión del margen de la hoja	Profundidad de serratura en la hoja más grande del tallo principal, en la etapa vegetativa tardía	Observación	Toda Superficial Media Profunda Muy profunda	1 3 5 7 9	
8**	Cantidad de pubescencia en la hoja	Cantidad de pubescencia en la lámina de la hoja más grande en el tallo principal, en la etapa vegetativa	Observación	Nula Pequeña Media Abundante	1 3 5 7	
9*	Tamaño de la flor	Tamaño de la corola, en la etapa de plena floración.	Observación	Pequeña Media Grande	3 5 7	
10**	Color de la flor	Color del centro de la corola, en la etapa de plena floración.	Observación	Blanco Rojizo claro Púrpura Púrpura rojizo	3 5 7 9	

11**	Vigor de crecimiento	Grado de crecimiento y desarrollo.	Observación	Bajo Medio Alto	3 5 7	Investigación al mes y medio después de la puesta en el campo
12*	Etapa inicial de floración en ciernes	Fecha inicial de floración en ciernes	Observación a. Fecha	Muy temprana Temprana Intermedia Tarde Muy tarde	1 3 5 7 9	
13*	Etapa de floración inicial	Fecha de floración inicial	Observación a. Fecha	Muy temprana Temprana Intermedia Tarde Muy tarde	1 3 5 7 9	
14*	Hábito de ramificación	Crecimiento y desarrollo de las ramas	Observación	Pobre Medio Bueno	3 5 7	
15*	Habito de crecimiento	Grado de inclinación de las ramas con el tallo principal	Observación	Erecto Semierecto Postrado	1 3 5	
16*	Periodo de crecimiento	Días para la etapa inicial de floración después de la puesta en el campo	Observación a. Día	Corto Medio Largo	3 5 7	
17**	Resistencia a la enfermedad del tizón del sur	Nivel de resistencia evaluado por el grado de infección con <i>Sclerotium rolfsii</i> SAAC, en la etapa de manifestación aparente de la enfermedad	Observación	Débiles Medio Fuerte	3 5 7	Escriba la fecha
18**	Enfermedad de la mancha foliar	Nivel de resistencia evaluado por el grado de infección <i>Septoria steviae</i> , en la etapa de manifestación aparente de la enfermedad.	Observación	Débiles Medio Fuerte	3 5 7	Escriba la fecha
	Variable cuantitativa	Definición	Método	Ítem	Grado	Nota
19*	Altura de la planta	Longitud de la planta desde el nivel del suelo hasta la parte superior o longitud de la planta desde la base hasta la parte superior, en la etapa inicial de floración	Medición a. cm	Muy corto Corto Medio Largo Muy largo	3 4 5 6 7	3: ≤ 99cm 4: 100-119 cm 5: 120-139 cm 6: 140-159 cm 7: 160cm≤
20*	Número de ramas primarias	Número total de ramas que se originan del tallo principal con más de diez hojas en la etapa inicial de floración.	Medición a. Rama	Muy pocos Pocos Medio Muchos Muchísimos	3 4 5 6 7	3: ≤19 4: 20-29 5: 30-39 6: 40-49 7: 50 ≤
21*	Grosor del tallo	Diámetro de la base del tallo principal en la etapa inicial de floración	Medición a.mm	Delgado Medio Grueso	3 5 7	3. 7mm 5. 12mm 7. 17mm
22*	Número de nudos	Número de nudos del tallo principal, en la etapa inicial de floración	Medición a. Nudo	Pocos Medio Muchos	3 5 7	3: 10 5: 25 7: 40

25*	Tamaño de la hoja	Tamaño de la lámina de la hoja más grande del tallo principal, en la etapa vegetativa tardía	Medición	Muy pequeña Pequeña Medio Grande Muy grande	1 3 5 7 9	
24**	Capacidad de propagación vegetativa	Capacidad de propagación vegetativa por yema apical	Medición $\frac{\text{Número de enraizamiento}}{\text{Número de corte}} \times 100$	Pobre Pasable Bueno Muy bien	3 5 7 9	3: ≤25% 5: 50% 7: 75% 9: 100%
25**	Tasa de rendimiento	Proporción en peso de hojas secas al aire a hojas frescas	Medición $\frac{\text{Peso de hojas secas al aire}}{\text{Peso de hojas frescas}} \times 100$ a. g			

* Ítems para propiedades esenciales sujetos a cambios de acuerdo con las condiciones climáticas y del cultivo

** Ítems para propiedades esenciales

3.3 DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño experimental fue de bloques completos al azar (DBCA), con ochenta y siete (87) tratamientos y tres (3) repeticiones. El experimento se estableció y evaluó en una sola localidad de la ciudad de Montería, campus de la Universidad de Córdoba en el semestre I del año 2022. El tamaño de parcela o unidad experimental (UE) fue de un (1) surco de 30,2m de longitud y 1,2m de ancho, con tres plantas, los surcos estaban separados a una distancia de 0,40m y distancia entre plantas de 0,30m. El área experimental utilizada fue de 478,8m² (ANEXO 2).

3.4 OBJETIVO 1: CARACTERIZAR MORFOAGRONÓMICAMENTE LOS CLONES DE ESTEVIA

3.4.1. Fase de invernadero. La primera fase de este primer objetivo consistió en la propagación del material vegetal a partir de esquejes de aproximadamente 10cm, provenientes de plantas madre durante el primer y segundo semestre del año 2021. El sustrato utilizado fue de una mezcla 1:1:1 de arena, aluvión y turba de coco, bajo riego permanente diario de forma manual, hasta obtener 783 plantas para llevar a campo. Se codificaron los clones provenientes de la hibridación artificial con la variedad Morita II y se identificaron con la letra L, seguido del respectivo número.

Inicialmente la multiplicación se realizó en bandejas pequeñas (48cm de largo x 24cm de ancho), con unas dimensiones de 4cm con capacidad de 210g de sustrato y posteriormente en bandejas grandes (64cm de largo x 32cm de ancho) con capacidad de 540g de sustrato. Los sustratos usados para esta fase fueron turba de coco por su capacidad de retención de agua y un mejor enraizamiento de los esquejes (De Luna-Jiménez et al., 2019).

Posterior a esto, los esquejes de 15cm fueron trasplantado a bolsas plástica (20cm de ancho x 25cm de longitud, calibre 2) para luego ser llevadas a campo.

En esta fase se presentó un brote del hongo fitopatógeno *Sclerotium rolfsii*, y se identificó como *Athelia rolfsii* UCLV-IBP (GenBank: OM345235.1), causando pudrición de tallo y raíz en *Stevia rebaudiana* Bertoni reportado para Colombia, el cual esta consignado en la base del NCBI (Rodriguez-Paez et al., 2022) y de la plaga cochinilla harinosa, identificada como *Phenacoccus solani* isolate UC (GenBank: OM368062.1) reportado para Colombia en la base del NCBI (Rodriguez-Paez et al., 2022).

3.4.2. Fase de campo. Una vez completo el número de plantas del experimento (783 plantas), se realizó el trasplante al sitio definitivo en campo en el primer semestre de 2022. Las condiciones de suelo presentaron un pH de 6,08, materia orgánica de 1,64, Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC) de 18,8 y textura franco-arcillosa-limosa (ANEXO 1).

El ensayo se estableció en el campo experimental de la Facultad de Ciencias Agrícolas en un área de 34,2m x 14m para un total de 478,8m². Se realizó el trazado del lote y se construyeron caballones de tal manera que la distancia de siembra de acuerdo (Agrosavia, 2006) de 0,30m entre planta y 0,40m entre surco. Se trasplantaron 9 plantas por cada clon, ubicándose 3 plantas en cada surco o unidad experimental (ANEXO 2). El ensayo contó con un total de 783 plantas, bajo condiciones de umbráculo (ANEXO 7).

3.4.3. Caracterización morfoagronómica. Para la toma de información de las variables cualitativas y cuantitativas, éstas se realizaron sobre la base de tres plantas por cada unidad experimental, atendiendo los criterios de guía propuestos por el (UPOV, 2022) y que corresponden a las variables relacionadas en la (Tabla 2). Las evaluaciones se hicieron mediante observación visual previo a la realización de la cosecha. Se empleó estadística descriptiva para el cálculo de la frecuencia de aparición (%) de las variantes evaluadas para cada atributo cualitativo estudiada y se determinó la moda para las variables cualitativas y promedio para cada variable cuantitativa. Así mismo, se descartaron aquellos descriptores que no presentaron variación.

3.4.4. Análisis de datos. Los datos de cada clon fueron consignados en formatos contenidos en una libreta de campo, donde se contemplan los descriptores.

Los datos se tabularon en una base de datos de Microsoft Excel, para su posterior procesamiento. Se organizaron por separado los datos de las variables cualitativas categorizadas y las variables cuantitativas, después se halló la moda a los caracteres cualitativos, para elaborar las respectivas tablas de frecuencia.

La información de los caracteres cuantitativos se procesó para obtener el promedio por repetición, se realizó un análisis de varianza (ANAVA) utilizando el software GENES versión 1990.2020.12. Desarrollado por Cruz en (2013). Los tratamientos que arrojaron diferencias significativas ($p < 0,05$) se les realizó la prueba de medias de Tukey, con el fin de identificar el promedio por clon en cada variable y verificar la diferencia estadística.

Por último, se desarrolló un análisis de componentes principales (ACP) aplicado simultáneamente a 25 variables para obtener en su salida el grupo de caracteres con mayor poder discriminante. Finalmente, se generaron gráficos en 2D de las decenas de factores de carga de los primeros tres componentes en los cuales se trazaron ejes de origen y se identificaron los puntos, los biplots resultantes se editaron para asignar el número de cada cuadrante a la figura.

3.5 OBJETIVO 2: REALIZAR EL AGRUPAMIENTO GENÉTICO DE LOS CLONES EVALUADOS

A partir de la matriz de medias que se generó del análisis de varianza, se realizó el análisis de diversidad genética entre clones empleando la opción de variables cualitativas y cuantitativas, este procedimiento generó la matriz de distancia de Gower sugerida para analizar datos mixtos, y esta se utilizó para agrupar por métodos jerárquicos y CCC, a través del método UPGMA, donde se obtuvo el dendograma; adicionalmente, se calculó la distancia de Mahalanobis para agrupar los clones por la proyección 2D y 3D, por el método K Means, los análisis se realizaron usando el programa genes versión 1990.2020.12; desarrollado por Cruz (2013).

3.6 OBJETIVO 3: DETERMINAR LA EFICIENCIA DEL INTERCAMBIO GASEOSO DE CINCO GENOTIPOS DE ESTEVIA CON BASE EN SU PRECOCIDAD A FLORACIÓN

Los clones se evaluaron en los periodos de floración (muy temprana, intermedia y muy tarde) con base en el descriptor de la UPOV. Los parámetros de intercambio gaseoso se realizaron en plantas de *Stevia rebaudiana*. El intercambio de gases de

la hoja se determinó en la tercera hoja adherida completamente expandida desde el ápice, utilizando un analizador de gases infrarrojo portátil de flujo abierto (LI-6400XT; LI-COR Inc., Lincoln, NE, EE. UU.). La fotosíntesis neta (A_N , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), conductancia estomática (g_s , $\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), transpiración (E , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), y la concentración interna de CO_2 (C_i , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$) se midieron aproximadamente entre las 09:00 y las 11:00 h hora solar, bajo un cielo despejado y bajo una irradiación foliar de $1300 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ como el 80 % del punto de saturación de luz, como lo describió recientemente (Pompelli et al., 2022), una concentración fija de CO_2 (C_a) en $400 \mu\text{mol mol}^{-1}$, y un flujo de aire de $400 \mu\text{mol s}^{-1}$ (Corte-Real et al., 2019). Para evaluar si la disminución de A_N en *S. rebaudiana* está limitada por barreras estomáticas, se aplicó el concepto de limitación de umbral estomático (SL), calculado según la siguiente fórmula: $SL = -\frac{C_i}{C_a}$ (Wang et al., 2018); donde C_i es una concentración interna de CO_2 (en la cámara subestomatal) y C_a es un CO_2 estándar, proporcionado por un cartucho de CO_2 (cartucho de CO_2 puro iSi, soluciones inspiradoras iSi, Wien, Austria). A partir de los parámetros de la fotosíntesis, calculamos la eficiencia intrínseca del uso del agua (WUEi) y el déficit de presión de vapor (VPD; kPa).

Todas las características analizadas se componían de 5 repeticiones, compuesto por 5 genotipos (L020, L057, L082, L102 y Morita II). Se realizó el ANOVA de una vía para comparar medianas utilizando una prueba SNK ($p < 0,05$) en SigmaPlot para Windows v. 14.0 (Systat Software, Inc., San Jose, CA, EE. UU.).

Se utilizó mapa de calor para comparar la media de cada genotipo, tomando como referencia el genotipo Morita II. Después de la transformación \log_2 , se utilizó el método de escala de color. El mapa de calor se construyó con Microsoft® Office 360 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, EE. UU.) y CorelDRAW Graphics Suite X8 (Corel Corporation, Ottawa, ON, Canadá)

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 OBJETIVO 1. CARACTERIZACIÓN MORFOAGRONÓMICA DE 87 CLONES DE ESTEVIA (*Stevia rebaudiana* Bertoni) DE LA COLECCIÓN DE LA UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

Los resultados de la caracterización morfoagronómica están consignados en la tabla 3. En ella se identifican 17 de los 18 descriptores cualitativos, lo cual equivale al 94,44% de características con variabilidad entre los clones evaluados, lo que refleja la existencia de variabilidad genética a causa del proceso evolutivo, sustentado en mutaciones e hibridaciones naturales y artificiales entre clones (Tomate, 2018).

Una sola característica acusó ausencia de variabilidad y es la resistencia a la mancha foliar causada por *septoria* resultado que concuerda con Ramírez-Jaramillo et al. (2020) e importante, dado que ello no afecta la calidad de la hoja en cuanto a la residualidad de productos inorgánicos que afecten el producto final y con ello el consumidor (Koehler y Shew 2018).

4.1.1 Variables cualitativas. Los resultados de categorías por variable y la frecuencia respectiva en características cualitativas, se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. Frecuencias para características cualitativas de 87 clones de *Stevia rebaudiana* Bert.

CARÁCTER	CLASE	CLASIFICACION	FRECUENCIA	PORCENTAJE
TIPO DE PLANTA	2	II	35	40,2
	3	III	52	59,7
PRESENCIA DE ANTOCIANINAS EN EL TALLO	1	Ausente	52	59,7
	9	Presente	35	40,2
CANTIDAD DE PUBESCENCIA EN EL TALLO	3	Pocos	38	43,6
	5	Medio	39	44,8
	7	Muchos	10	11,4

FORMA DE LA HOJA	1	Elíptica	37	42,5
	5	Obovada	35	40,2
	7	Aovada	4	4,5
	9	Lanceolada	11	12,6
GROSOR DE LA HOJA	3	Delgado	2	2,29
	5	Medio	38	43,6
	7	Grueso	37	42,5
	9	Muy grueso	10	11,4
COLOR DE LA HOJA	3	Verde pálido	3	3,4
	5	Verde	80	91,9
	7	Verde oscuro	4	4,5
INCISIÓN DEL MARGEN DE LA HOJA	1	Toda	1	1,1
	3	Superficial	54	62,0
	5	Media	32	36,7
CANTIDAD DE PUBESCENCIA EN LA HOJA	1	Nula	35	40,2
	3	Pequeña	49	56,3
	5	Media	3	3,4
TAMAÑO DE LA FLOR*	3	Pequeña	15	17,2
	5	Media	38	43,6
	7	Grande	33	37,9
COLOR DE LA FLOR*	3	Blanco	26	26,8
	5	Rojizo claro	25	28,7
	7	Purpura	35	40,2
VIGOR DE CRECIMIENTO	3	Bajo	4	4,5
	5	Medio	33	37,9
	7	Alto	50	57,4
ETAPA INICIAL DE FLORACIÓN EN CIERNES*	1	Muy temprana	12	13,7
	3	Temprana	37	42,5
	5	Intermedia	27	31,0
	7	Tarde	8	9,1
	9	Muy tarde	2	2,2
ETAPA DE FLORACIÓN INICIAL*	1	Muy temprana	12	13,7
	3	Temprana	37	42,5
	5	Intermedia	27	31,0
	7	Tarde	8	9,1
	9	Muy tarde	2	2,2
HÁBITO DE RAMIFICACIÓN	3	Pobre	1	1,1
	5	Medio	21	24,1
	7	Bueno	65	74,7
HABITO DE CRECIMIENTO	1	Erecto	2	2,29
	3	Semierecto	26	29,8

		5	Postrado	59	67,8
PERIODO DE CRECIMIENTO		3	Corto	20	22,9
		5	Medio	49	56,3
		7	Largo	18	20,6
RESISTENCIA <i>Sclerotium rolfsii</i>	A	3	Débiles	7	8,04
		9	Resistente	80	91,95

*Ausencia del clon L020

Los caracteres con mayor variación corresponden a: etapa inicial de floración en ciernes (EIFC) y floración inicial (EIF) (ANEXO 5), con cinco alternativas cada una (Figura 4); seguido de forma y grosor de la hoja (ANEXO 4) con cuatro (FH-GH), esto demuestra mayor evolución y enriquece el acervo genético de la especie. Othman et al. (2018) reportó variabilidad en la hoja; González et al. (2019) identificó las características de mayor variabilidad en la fase inicio de floración, lo que sugiere que la floración tardía es una de las características de gran relevancia en esta especie, porque permite prolongar la duración de las cosechas (Ceunen y Geuns 2013) y mejorar los rendimientos generales de glucósidos de esteviol (SG), ya que según Angelini et al. (2018) demostraron que las mayores cantidades de SG se acumulan en las hojas durante el período de floración.

En atención a los resultados, el clon L020 se escapa a la clasificación definida por el descriptor, ya que este genotipo no floreció en los tiempos establecidos para este estudio, siendo una variable agronómica deseable para los principales objetivos del programa de mejoramiento en *Stevia rebaudiana*.

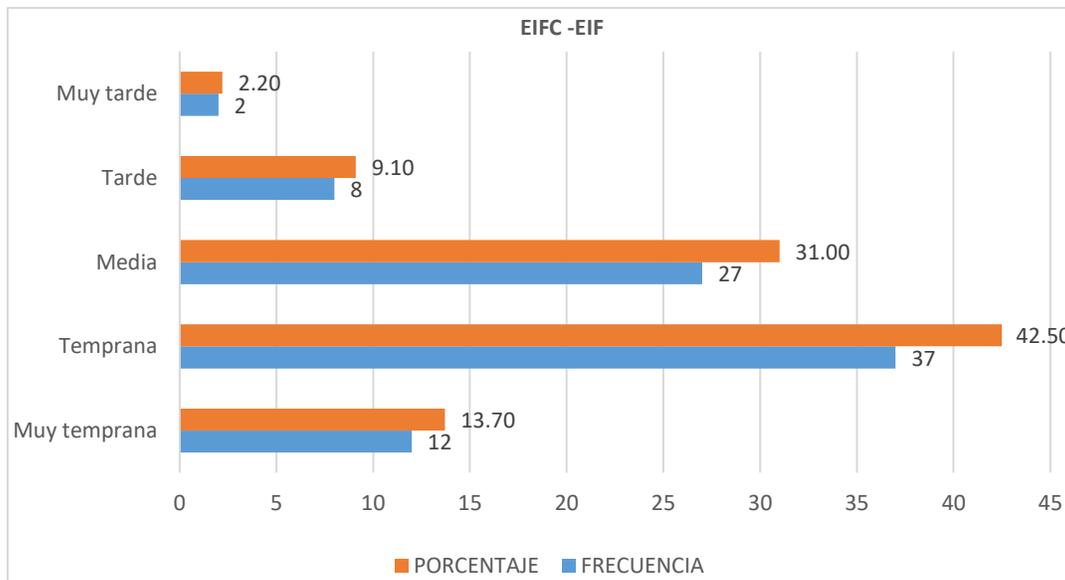


Figura 4. Histograma de EIFC – EIF (Etapa inicial de floración en ciernes y Etapa inicial de floración).

Mientras que los de menor aporte sobresalen: presencia de antociana en el tallo (PAT) y resistencia a *Sclerotium rolfsii* (RETS) con dos variantes. Sin embargo, el 91,95% de los genotipos presentaron resistencia parcial ante el tizón del sur (*Sclerotium rolfsii*), lo que otorga un valor significativo relacionado con la contribución genética hacia la progenie (Allier et al., 2019). Para la característica de hábito de crecimiento (HC), los genotipos acusaron un 2,29% de hábito erecto representado por los clones L020 y L102 (Tabla 13); seguido de 29,8% de hábito semierecto y un 67,8% de hábito postrado, mientras que Pico-González et al. (2020) reportaron que el 60% de los clones de estevia evaluados acusaron hábito erecto, seguido de un 24% de hábito postrado y un 16% de hábito semierecto, por ende esta variable es de mayor interés por que está estrechamente relacionado con la arquitectura de la planta y la mecanización de labores de cosecha.

4.1.2 Análisis de varianza de las variables cuantitativas. Los resultados del análisis de varianza (Tabla 4) demuestran diferencias significativas y altamente significativas entre los clones en todos los caracteres cuantitativos evaluados, por lo que corrobora la existencia de variabilidad genética, lo cual es producto de la segregación y se puede verificar en la prueba de medias (ANEXO 3). De acuerdo con los valores obtenidos, los coeficientes de variación (CV) fueron menores al 20%, lo que indica confiabilidad en la calidad del experimento (Ruíz-Ramírez, 2010).

Tabla 4. Análisis de varianza para 87 clones de *Stevia rebaudiana*

F. V	GL	AP (cm)	NRP (N°)	GT (mm)	NN (N°)	TH (cm)	CPV (%)	TRS (g)
BLOQUES	2	36,39	73,37	0,33	3,66	0,06	0	2,79
GENOTIPOS	86	38,17**	3,69**	52,59**	71,91**	31,00**	83,44**	41,32**
ERROR	172	17,10	8,81	0,13	1,04	0,19	4,84	1,74
TOTAL	260	227,55	17,17	2,43	24,45	2,13	136,9	24,98
\bar{x}		44,15	16,78	4,68	15,76	5,30	58,05	6,99
C.V (%)		9,37	17,70	7,85	6,47	8,34	3,79	18,87

F. V= Fuente de variación, GL= Grados libertad, \bar{x} = Media, C. V= Coeficiente de variación, AP= Altura de la planta, NRP=Numero de ramas primarias, GT= Grosor del tallo, NN=Numero de nodos, TH=Tamaño de la hoja, CPV=Capacidad de propagación vegetativa, TRS=Tasa de rendimiento seco, ** Significativos a 1 y 5 % de probabilidad, respectivamente por el test F.

La tabla 5 contiene estadísticas simples, relacionadas con los valores cuantitativos de los genotipos para cada variable. Se observa que con el aumento de CPV, representado por capacidad de propagación vegetativa de 58,05 %, se deriva un aumento significativo de altura de la planta (AP) de 44,15cm. Lo cual sugiere que, cuanto más altas sean las plantas mayores será su enraizamiento; permitiendo un aumento en la captación de agua y mejores producciones de procesos fotosintéticos para transferir a las partes en crecimiento.

En esta investigación, se detectó la mayor altura en el clon L102 con un valor de 119,5cm (Tabla 15). En este sentido, estudios realizados por de Castro et al. (2022) de genotipos élite de estevia de la sabana brasileña presentó una altura máxima de 118cm; Francisco et al (2018) en Brasil obtuvieron una altura de 116cm y Taleie et al. (2012) en Irán alcanzó los 80cm de altura. Por lo tanto, el clon L102 representa un excelente índice de crecimiento vegetativo de manera que beneficia la acumulación de materia seca de la planta.

El promedio para la variable grosor del tallo (GT) fue de 4,68mm resultado que difiere con Morelo (1984) de 5,2 mm; estas diferencias encontradas con relación al grosor de tallo en las plantas pueden ser debido al desarrollo de los tejidos en función a sus características genéticas, partiendo de que diámetros muy delgados afectan el soporte de la planta, lo que puede incidir en la capacidad fotosintética de la planta. Sin embargo, el clon L020 presentó el mayor valor de GT con 8,96mm (Tabla 15), con valor intermedio el clon L113 de 6,33mm y en menor medida L006 con valor de 2,4mm (ANEXO 3) estos resultados son superiores a lo reportado por Torres et al., (2015) quienes encontraron grosores de 1,45 y 2,15 mm, respectivamente.

El promedio de número de ramas primarias (NRP) fue de 16,78 mientras que la variedad comercial Morita II presentó el mayor valor de 27,6 (Tabla 15) seguido del clon L113 con un valor intermedio de 22,4 en tanto que el genotipo L008 mostró el menor promedio de 11, 4 (Tabla 17), estos valores fueron superior a lo reportado por Morelo (1984) de 10,3 y una desviación estándar de 1 a 25 ramas por planta; esta característica es muy importante desde el punto de vista agronómico ya que contribuye a un buen rendimiento de materia seca.

Tabla 5. Cuadrados medios y estadísticas descriptivas para variables cuantitativas de 87 clones de *Stevia rebaudiana*.

Variable	Media	C.V. (%)	D.E.	Mínimo	Máximo	Varianza	CM
AP (cm)	44,15	9,37	4,13	24,10	128,70	17,10	652,89 **
NRP (N°)	16,78	17,70	2,96	10,00	32,00	8,81	32,58 **
GT (mm)	4,68	7,85	0,36	2,30	9,40	0,13	7,08 **
NN (N°)	15,76	6,47	1,01	8,70	28,30	1,04	74,79 **
TH (cm)	5,30	8,34	0,43	2,10	10,30	0,19	6,07 **
CPV (%)	58,05	3,79	2,20	50,00	75,00	4,84	404,30 **
TRS (g)	6,99	18,87	1,31	0,72	33,28	1,74	71,98 **

AP: Altura de la planta; NRP: Numero de ramas primarias; GT: Grosor del tallo; NN: Numero de nudos; TH: Tamaño de la hoja; CPV: Capacidad de propagación vegetativa, TRS: Tasa de rendimiento seco; C.V: Coeficiente de variación; D.E: Desviación estándar; CM: Cuadrado medio; **: Diferencias significativas al 1% ($p < 0,01$).

La tasa de rendimiento seco (TRS) mostró un promedio de 6,99 g, donde los clones oscilaron entre 0,94 y 28,55 gramos por planta de biomasa seca (ANEXO 3). Estos resultados concuerdan con Aguirre-Medina et al. (2018); Velázquez Duarte et al. (2016) presentaron de 4 a 7 g planta⁻¹ de masa seca de las hojas por planta en condiciones de campo. Según Espitia et al. (2008), el rendimiento se incrementa con la densidad hasta alcanzar el óptimo, después del cual permanece constante o decrece al aumentar el número de plantas. Mientras que Serfaty et al. (2013) obtuvieron rendimientos mayores de 4,3 t ha⁻¹ de hojas secas, considerando que las diferentes prácticas de manejo del cultivo, la densidad de plantación y el tiempo de recolección influyen en la producción de biomasa, ya que, el rendimiento depende del genotipo, ambiente y la interacción del genotipo con el ambiente.

En cuanto al genotipo con mayor rendimiento, el clon L020 mostró un promedio de TRS de 28,55 g superando al cultivar Morita II con 20,58 g (Tabla 15). Teniendo en cuenta que la producción de biomasa se expresa en productividad tanto fotosintética y fotoprotectora. En este contexto cabe resaltar que el clon L020 acumuló 93% más biomasa que el testigo (Morita II), siendo un rasgo favorable en estevia para identificar genotipos superiores, que puede ser utilizado para uso directo en producción comercial o como nuevos progenitores en programas de mejoramiento. Sin embargo, el clon L041 mostró el menor valor para esta variable de 0,94 g (Tabla 17) por lo que se recomienda realizar estudios de adaptabilidad y estabilidad del rendimiento a lo largo de los años en distintos ambientes.

4.1.3 Análisis de componentes principales

El análisis de componentes principales (ACP) para 24 variables discriminantes, empieza con la matriz de correlaciones de las variables cuantitativas, esta se calculó por el método de Pearson, que están consignadas en la tabla 6, la cual nos permite evaluar la magnitud y dirección de las relaciones entre dos variables, siendo útil para la mejora y así evaluar la viabilidad de la práctica de la selección indirecta (Cruz, 2013). En ella, el carácter altura de la planta (AP) se correlacionan alta y positivamente, con las variables NRP, GT, NN, TH, CPV y TRS. Por lo tanto, a

mayor AP mayor crecimiento vegetativo, ya que este aumento es concomitante en la producción de biomasa que está relacionado con el rendimiento de la hoja, esto sugiere que las plantas de mayor altura son de alto rendimiento (Buana y Goenadi, 1985 ; Tavarini, et al., 2018).

El número de ramas primarias (NRP), esta correlacionado con GT y TRS (Tabla 6), es directa la relación entre las variables, lo cual coincide con (Yadav et al., 2011); esto se puede atribuir a la síntesis de citoquininas que ocurre principalmente en los ápices radiculares, dado que un sistema radicular más desarrollado permite una mayor producción de estas fitohormonas y su exportación a los tallos, donde estimulan la producción de ramas laterales (Pal et al., 2015). El número de nudos (NN), se incrementa con el tamaño de la hoja, por tanto, hay una correlación positiva (Tabla 6). Según, Ramírez Jaramillo (2011) los fotoperiodos largos aumentan la longitud de entrenudos y el área foliar, acelerando la aparición de las hojas en las plantas.

Tabla 6. Matriz de correlaciones para variables cuantitativas de *Stevia rebaudiana*.

	AP	NRP	GT	NN	TH	CPV	
AP	-						
NRP	0.4078**	-					
GT	0.5248**	0.4849**	-				
NN	0.2967**	0.1952	0.3405**	-			
TH	0.4879**	0.1688	0.3503**	0.2954**	-		
CPV	0.2788**	0.0328	0.006	0.1055	0.0437	-	
TRS	0.6727**	0.2987**	0.3936**	0.2406*	0.3923**	0.2423*	-

*Correlaciones significativas entre variables **correlaciones altamente significativas entre dos variables AP: Altura de la planta, NRP: Numero de ramas primarias, GT: Grosor del tallo, NN: Numero de nudos, TH: Tamaño de la hoja, CPV: Capacidad de propagación vegetativa, TRS: Tasa de rendimiento seco

El tamaño de la hoja (TH), está correlacionado altamente con TRS (Tabla 6), es decir que a mayor índice de área foliar mayor será la masa seca foliar, por tanto, se puede inferir que este aumento de la parte aérea está asociado al rendimiento foliar en función de un mayor desarrollo de la planta, lo cual ha sido reportado por de Lima-Filho (2004); ya que en condiciones de baja radiación, las plantas aumentan la expansión foliar, dando como resultado una mayor interceptación de la radiación, aumentando la eficiencia fotosintética (Lambers et al., 2008; de Bang et al., 2021).

El aumento de biomasa expresado en TRS, está correlacionado con la capacidad de propagación vegetativa, debido a que, durante el crecimiento de la planta, el nitrógeno es rápidamente absorbido por las raíces y transportado a las hojas (Peralta y Dianelly, 2016), esto produce aminoácidos que se incorporan a la proteína de la hoja aumentando los niveles de clorofila los cuales se asocian positivamente con la acumulación de biomasa y la biosíntesis de enzimas asociadas con el transporte de electrones, proteínas y carbohidratos en plantas de *Stevia rebaudiana* (Jain et al., 2009; Guerrero, 2018).

La diversidad fenotípica, la importancia de los caracteres y la contribución por rasgo se determinaron mediante la aplicación de las técnicas del análisis multivariado conocidas como análisis de componentes principales y diversidad por variables cuantitativas y cualitativas.

La tabla 7, muestra las estimativas de los autovalores por componente, a estos se asocia el porcentaje de variación explicada, se seleccionan aquellos con autovalor mayor o igual a 1. En este caso, el 69,57 % de la variación, se explica con 8 componentes principales, y sus autovectores aparecen en la tabla 8, lo cual se sustenta de acuerdo Gerrano et al., (2019) en donde los valores propios iguales o mayores que 1 indican la existencia de un nivel de significancia de las características evaluadas en los genotipos estudiados.

La interpretación de los componentes principales se debe centrar en el valor de los coeficientes, de tal manera que, a mayor valor de estos, independiente de su signo,

más eficiente es la discriminación. Los coeficientes con valores negativos significan que están caracterizado en sentido contrario en relación con las variables positivas y viceversa (Franco e Hidalgo, 2003). En la salida del ACP, se identificaron 8 descriptores como las variables más discriminantes para la diversidad genética de *Stevia rebaudiana*, cinco de ellos cualitativas y dos cuantitativas; estas son: altura de la planta (AP), etapa inicial de floración en ciernes (EIFC), tamaño de la flor (TF), tipo de planta (TP), presencia de antocianina en el tallo (PAT), número de nudos (NN), resistencia a la enfermedad tizón del sur (RETS) e incisión del margen de la hoja (IMH).

El primer componente (CP1), explica el 19,65% de la variación total de la información, lo determinan las variables AP y VIGC con 0,3639 y 0,3217 al igual que la variable cuantitativa TRS con 0,3229. Los resultados anteriores indican que el primer componente está relacionado con el rendimiento de biomasa seca.

En el segundo componente (CP2), se explica el 12,58 % de los datos, está estrechamente relacionado con etapa inicial de floración EIF y periodo de crecimiento PC con 0, 5341 y 0,4531 respectivamente, lo que está asociado con el inicio de la floración.

En el tercer componente (CP3), se demuestra el 10,58% de la variación, donde predominan los caracteres CF (ANEXO 6) con 0,4546 y cantidad de pubescencia en la hoja CPH con 0, 3114, lo cual permite discriminar las accesiones tanto por el color de la flor como por la pubescencia de sus hojas.

El cuarto componente (CP4), recoge el 7,04% de la explicación de la información, está determinado por 0,3754 de FH y el 0,3738 del CH, lo que permite separar las accesiones por las características de las hojas.

Las características del quinto componente (CP5), representa con el PAT de 0,5784 y -0,3464 de resistencia ante el tizón del sur y este componente explica el 5,71% de la variación total de los datos.

Tabla 7. Estimativas de autovectores e importancia de descriptores.

Autovalor	%Explicado	%Acumulado	N°	Autovalor	Importancia (%)	Destacado	Recomendación
4,72	19,65	19,65	1	4,7165294	19,65	AP	
3,02	12,58	32,23	2	3,0198696	12,58	EIFC	
2,54	10,58	42,81	3	2,5383572	10,58	TF	
1,69	7,04	49,85	4	1,6899809	7,04	TP	
1,37	5,71	55,56	5	1,3697402	5,71	PAT	
1,16	4,84	60,39	6	1,1610084	4,84	NN	
1,15	4,80	65,20	7	1,1527852	4,80	RETS	
1,05	4,37	69,57	8	1,0486117	4,37	IMH	
0,94	3,90	73,47	9	0,9365328	3,90	NRP	
0,91	3,80	77,27	10	0,9126886	3,80	CH	
0,81	3,37	80,64	11	0,808494	3,37	HR	
0,74	3,10	83,74	12	0,7449015	3,10	HC	
0,64	2,65	86,39	13	0,6361753	2,65	GT	Descarte
0,57	2,36	88,76	14	0,5671128	2,36	IMH	Descarte
0,46	1,93	90,69	15	0,4636916	1,93	NN	Descarte
0,39	1,64	92,33	16	0,3941604	1,64	CPT	Descarte
0,37	1,54	93,87	17	0,3693364	1,54	GH	Descarte
0,33	1,38	95,25	18	0,3319211	1,38	PC	Descarte
0,31	1,29	96,54	19	0,3097375	1,29	NRP	Descarte
0,28	1,17	97,71	20	0,280613	1,17	CF	Descarte
0,22	0,93	98,64	21	0,2235148	0,93	TF	Descarte
0,19	0,81	99,45	22	0,1944495	0,81	AP	Descarte
0,13	0,54	100,00	23	0,1297881	0,54	VIGC	Descarte

Valores en negrilla indican el número de componentes necesarios para explicar el **69,57 %** de la variación de los datos.

AP=Altura de la planta, EIFC= Etapa inicial de floración en ciernes, TF=Tamaño de la flor, TP= Tipo de planta, PAT=Presencia de anticianina en el tallo, NN=Numero de nudos, RETS= Resistencia a la enfermedad tizón del sur, IMH= Incisión del margen de la hoja

Tabla 8. Peso de variables discriminantes en los ocho componentes principales del ACP.

	CP1	CP2	CP3	CP4	CP5	CP6	CP7	CP8
TP	0,0333	0,1175	-0,097	0,5256	0,0144	-0,0051	-0,3727	0,0895
PAT	0,0437	0,1079	0,0655	-0,056	0,5784	-0,1439	0,3815	-0,0895
CPT	0,2345	0,1054	0,0849	0,2164	0,3087	-0,0454	0,338	0,1876
FH	0,027	-0,0882	0,0538	0,3754	-0,2037	0,4398	0,2635	0,3312
GH	0,2773	0,1435	0,0096	0,2106	0,1617	0,0037	-0,1757	-0,3825
CH	0,0141	0,0725	0,1955	0,3738	0,2949	-0,3065	-0,0476	0,2205
IMH	0,2135	0,0772	0,0525	0,1215	0,0063	0,3514	0,1125	-0,4574
CPH	0,1703	0,1176	0,3114	-0,0409	-0,0207	0,0731	-0,1139	0,4432
TF	0,0236	0,0673	0,5115	-0,019	-0,1186	-0,0152	0,0356	-0,0791
CF	-0,0574	0,1327	0,4546	0,0967	-0,1803	0,0631	-0,114	-0,223
VIGC	0,3217	-0,019	0,223	-0,2377	-0,0331	-0,0182	0,0726	-0,0863
EIFC	-0,0856	0,5341	0,0193	-0,1138	-0,0813	-0,0126	0,0026	0,1006
EIF	-0,0856	0,5341	0,0193	-0,1138	-0,0813	-0,0126	0,0026	0,1006
HR	0,2723	-0,0637	0,2365	-0,1577	-0,1036	-0,0779	-0,053	0,1394

HC	-0,1655	-0,0337	0,2718	-0,1154	0,1633	0,3217	0,0968	0,071
PC	0,1109	0,4531	-0,1338	-0,0955	-0,1391	0,0927	-0,0044	0,061
RETS	-0,1556	0,0797	-0,1198	0,1939	-0,3464	-0,0677	0,5932	-0,1234
AP	0,3639	0,0169	-0,2203	0,0167	0,0308	0,1504	-0,0045	0,1262
NRP	0,2691	-0,2026	0,0963	-0,1407	-0,0991	0,1506	0,1262	0,2126
GT	0,2924	-0,1198	-0,0708	-0,039	-0, 2	-0,1911	-0,1062	0,1746
NN	0,2208	0,0127	-0,0476	-0,0248	-0,239	-0,4918	0,2398	0,0229
TH	0,2825	0,1028	-0,0636	0,2497	-0,1909	-0,0435	0,0256	-0,1606
CPV	0,0794	0,1829	-0,264	-0,2448	0,144	0,1373	-0,0246	0,091
TRS	0,3229	0,0195	-0,1359	-0,1037	0,1102	0,2504	-0, 0175	-0,0425

VIGC= Vigor de crecimiento, **TRS**= Tasa de rendimiento seco, **EIF**= Etapa inicial de floración, **PC**= Período de crecimiento, **CF**=Color de la flor, **CPH**= Cantidad de pubescencia en la hoja, **FH**=Forma de la hoja, **CH**= Color de la hoja, **RETS**=Resistencia al tizón del sur, **CPT**=Cantidad de pubescencia en el tallo, **HC**=Hábito de crecimiento, **IMH**=Incisión del margen de la hoja, **TP**= Tipo de planta, **PAT**= Presencia de antocianina en el tallo, **GH**= Grosor de la hoja. *Valores en negrilla representan descriptores de mayor contribución para cada componente principal.

El sexto componente (CP6), está asociado a tres variables cualitativas, FH con 0,4398, IMH con 0,3514 y HC con 0,3217; permite identificar a los cultivares por su hábito de crecimiento y morfología de la hoja y representa el 4,84% de la varianza.

El séptimo componente (CP7), está determinado por la influencia positiva de los cultivares con RETS con 0,5932 y 0,3815 de presencia de antocianina en el tallo, y aportan el 4,80 % la variación de la información.

El octavo componente (CP8), contiene el 4,37 % de la variación total y se asocia con las características IMH con -0,4574 y CPH con 0,4432 que facilita discriminar los clones con incisión en los márgenes de las hojas y su respectiva pubescencia.

En este sentido, el análisis multivariado por componentes principales permitió determinar las variables más discriminantes: altura de la planta, etapa inicial de floración en ciernes, tamaño de la flor, tipo de planta, presencia de antocianina en el tallo, número de nudos, resistencia a la enfermedad *Sclerotium* e incisión del margen de la hoja, fundamentada en las estimativas de autovalores e importancia de descriptores (Tabla 7), por tanto, estas características contribuyen a la variabilidad genética de la especie (Gutierrez Casas, 2019), tal como lo reporta (Buana, 1989, Tateo et al., 1998; Hastoy et al., 2019; Tavarini et al., 2018); estos rasgos pueden ser utilizados para la identificación de progenitores genéticamente divergentes en programas de mejoramiento genético en *S. rebaudiana*, con el fin de mantener la diversidad de una población elite o identificar progenitores con

caracteres deseables contrastantes para seleccionar individuos segregantes en F2 que combinen las características de los padres.

4.1.4 Análisis biplot.

En el biplot de la figura 5, se muestra la dispersión de los clones y cada una de las variables en un espacio bidimensional donde relaciona los dos primeros componentes del ACP. En el primer cuadrante, sobresalen los genotipos L013, Morita II, L035, L056, L088, L102, L071, L070, L052, L046; estos clones se caracterizan por presentar un periodo de crecimiento largo y capacidad de propagación vegetativa buena. Los genotipos más discriminantes en este cuadrante corresponden a la variedad Morita II y el clon L102, teniendo en cuenta que en las variables cuantitativas Morita II presentó el mayor número de ramas primarias, lo cual lo convierte en un genotipo con buen desarrollo vegetativo y el L102 presentó la mayor altura y tamaño de la hoja, siendo características agronómicas de gran importancia, ya que la hoja es el órgano con mayor contenido de glucósidos de esteviol (Nuñez, 2011).

En el cuadrante segundo, las variables que más aportan a la divergencia es la etapa inicial de floración en ciernes (EIFC) y resistencia al tizón del sur (REST), donde se agrupan los clones L006, L017, L062, L073, L092, L100, L069, L087, L008, L005, L039, L057, L034, L075. El genotipo L062, es el más discriminante al estar más alejado del origen.

En la figura 6, se muestra la dispersión en 2D, de los clones y las características por cuadrante al comparar los componentes 1 y 3 del análisis. En el primer cuadrante de este biplot, se ubican como variables discriminantes TF, CPH, VIGC, CH, NRP, se agrupan los clones L032, L070, L045, L098, L056, L082, L063, L088, L022, L013, L037, L054, L096, L044, L041, L023. Los genotipos L081 y L028 son los más alejados al origen del cuadrante, lo que demuestra que son los más divergentes.

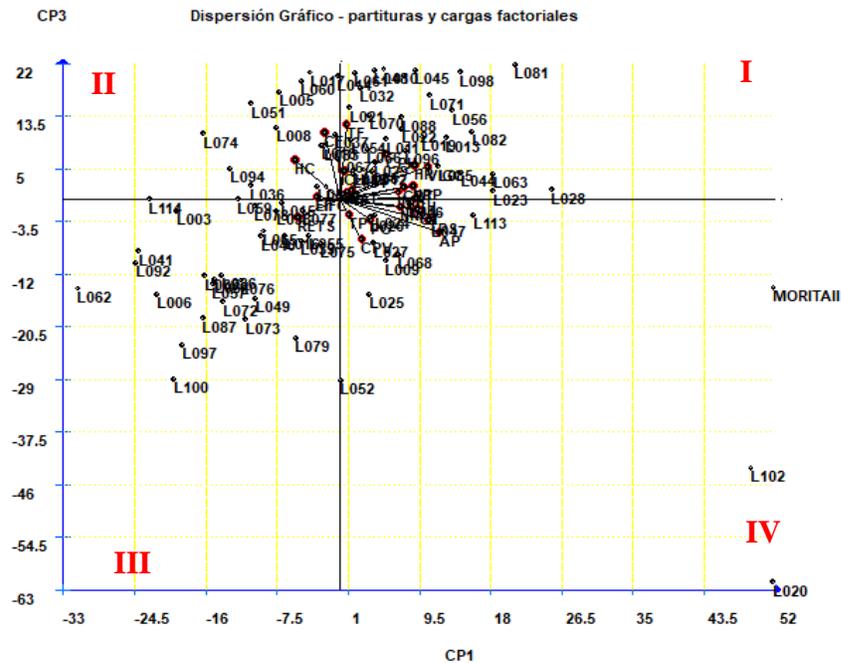


Figura 6. Biplot CP1 vs CP3 para variables discriminantes en 87 clones de *S. rebaudiana*.

En el segundo cuadrante, se alojan los clones L008, L060, L017, L005, L051, L094, L036, L074, donde se asocian las variables CF (ANEXO 6) y HC. El clon L114 es el más distante marcando mayor diferencia.

En el tercer cuadrante se encuentran los clones L003, L055, L075, L049, L073, L079, L087, L062, L041, L092, L006, L072 siendo el genotipo L100 el divergente por la distancia con respecto a los demás clones. Las características EIFC y REST son las que discriminan para este cuadrante.

El cuarto cuadrante, se ubican los clones L113, L047, L027, L048, L009, L068, L025, L024, L052, sobresaliendo los genotipos Morita II, L020 y L102, lo que indica que son los más contrastantes genéticamente por estar más alejado del origen del gráfico, siendo estos los que presentan las mejores características agronómicas en cuanto a altura de la planta, tasa de rendimiento seco, periodo de crecimiento, grosor del tallo, tipo de planta y capacidad de propagación vegetativa, por tanto, son rasgos útiles y de interés para mejorar la eficiencia de la reproducción y ganancia de la estevia.

El tercer biplot de la figura 7, se relaciona los componentes 2 y 3; se observa que en el primer cuadrante se agrupan los clones L035, L017, L021, L014, L031, L010, L051, L056, L022, L070, L008, L034, L094, L030, L088, L013; a estos se asocian las variables discriminantes cantidad de pubescencia en el tallo (CPT), color de la flor (CF), cantidad de pubescencia en la hoja (CPH) y color de la hoja (CH). Los genotipos destacados por su divergencia son el L035 y L017, siendo este último el que se encuentra distante del origen.

En el segundo cuadrante, la característica discriminante número de ramas primarias (NRP) marcando la diversidad. Se ubican los genotipos L032, L005, L060, L037, L074, L054, L085, L030, L082, L045, L044 y L012, sobresaliendo como divergentes L012 y L044, esto debido a la posición distante del origen de ambos clones.

El tercer cuadrante aparece los clones L025, L020, L003, L077, L078, L016, L009, L114, L015, L038, L040, L041, L027, L072, L097 en este cuadrante las variables grosor del tallo (GT) y tamaño de la hoja (TH) permiten discriminar estos genotipos. El genotipo L020 se encuentra separado de los demás del cuadrante porque es el genotipo que más presenta grosor del tallo de 8,96mm por lo que es el más divergente de este grupo.

El cuadrante cuatro agrupa los clones L046, L055, L039, L065, L075, L068, L092, L069, L057, L062, Morita II, L087, L073, L079, L100, L052, L102. Las variables que más aportan a la divergencia son EIFC, PC, CPV, CH, NN, RETS, TRS y AP. El genotipo L102 se encuentra más distante que los demás clones dado a que

Se detectó una alta variabilidad genética entre los clones, sobresaliendo los genotipos L020 y L102, presentan característica deseable para progenitores y/o cultivares en cuanto altura de planta, grosor del tallo, producción de follaje y una floración tardía, que los hace interesante para su valoración en Pruebas de Evaluación Agronómica.

4.2. OBJETIVO 2. REALIZAR AGRUPAMIENTO GENETICO DE LOS CLONES EVALUADOS

4.2.1 Proyección 2D y 3D. Mediante la técnica de proyección se logró identificar tres grupos de clones, y cada grupo se puede identificar con el color asignado por el programa luego de calcular la distancia entre los genotipos, los valores correspondientes se pueden apreciar en la tabla 9 y la proyección en la figura 8. Con la distancia de Mahalanobis se permiten la asignación de genotipos en grupos, de manera que haya una máxima homogeneidad dentro de los grupos y una máxima heterogeneidad entre los grupos. Por lo tanto, se pudo identificar genotipos con frecuencia alélica contrastante para diferentes rasgos, los cuales se pueden hibridar, lo que aumenta la probabilidad de seleccionar segregantes transgresivas en poblaciones de dichos cruzamientos (Maluf y Miranda 1983; Cruz et al., 2012).

Tabla 9. Clones y distancias genéticas calculadas por el método K means.

ORDEN	CLONES		DISTANCIA	COORDENADA ESTIMADA		
				CLONES	x (i)	y (i)
1	16	L020	0,0	1	1286,20	0,0
2	1	L003	1286,20	2	1070,36	72,48
3	23	L027	1436,17	3	1257,93	118,27
4	84	L102	1997,09	4	1026,10	89,30
5	86	L114	2821,32	5	813,58	66,39
6	4	L008	3020,11	6	915,91	115,19
7	87	MORITAI	3486,27	7	819,54	39,15
8	78	L092	4030,44	8	723,20	37,59

9	55	L065	4147,54	9	622,02	97,36
10	52	L062	4195,79	10	941,48	70,27
11	21	L025	4285,58	11	993,31	121,47
12	83	L100	4585,44	12	1094,05	11,48
13	31	L036	4717,15	13	988,78	106,53
14	71	L082	5101,23	14	1010,13	78,45
15	27	L031	5254,10	15	821,32	103,83
16	42	L049	5637,20	16	0,0	0,0
17	24	L028	5699,96	17	879,32	163,87
18	12	L016	5979,34	18	654,05	12,30
19	63	L073	6150,02	19	659,38	-26,13
20	47	L056	6570,93	20	724,87	108,19
21	48	L057	6538,85	21	868,99	181,39
22	44	L052	6790,26	22	773,19	136,32
23	53	L063	7037,52	23	917,63	295,20
24	75	L087	7234,99	24	691,75	86,05
25	77	L089	7461,49	25	965,76	-7,85
26	25	L029	7653,64	26	979,24	89,15
27	57	L067	7840,55	27	787,75	155,65
28	9	L013	8102,59	28	797,56	91,93
29	56	L066	8358,96	29	883,17	115,98
30	64	L074	8338,56	30	859,54	-13,06
31	19	L023	8525,08	31	1285,36	21,83
32	3	L006	8728,56	32	1049,62	22,41
33	58	L068	8843,14	33	1048,29	27,67
34	36	L041	9082,60	34	947,67	60,13
35	73	L085	9292,64	35	1084,74	-56,12
36	59	L069	9430,21	36	1245,35	44,30
37	38	L045	9595,16	37	713,99	48,49
38	8	L012	9767,92	38	925,32	-22,41
39	76	L088	9943,74	39	629,90	78,21
40	22	L026	10128,41	40	886,25	-45,18
41	39	L046	10115,63	41	872,84	35,78
42	81	L097	10452,09	42	1095,44	26,45
43	35	L040	10550,75	43	1112,57	43,53

44	30	L035	10354,84	44	826,52	-2,80
45	43	L051	10450,41	45	933,75	-31,37
46	29	L034	10480,60	46	1013,85	56,79
47	32	L037	10704,15	47	658,19	0,766
48	70	L081	10802,56	48	1166,68	150,22
49	49	L059	10861,84	49	827,84	92,94
50	40	L047	11070,55	50	1112,60	133,18
51	45	L054	11066,83	51	1025,70	53,34
52	60	L070	11248,70	52	1258,17	53,84
53	69	L079	11398,47	53	735,04	124,49
54	67	L077	11379,55	54	1115,41	98,89
55	82	L098	11526,91	55	1187,53	117,62
56	79	L094	11595,02	56	984,97	171,01
57	20	L024	11756,72	57	983,90	-52,04
58	34	L039	11646,73	58	699,89	137,20
59	80	L096	11839,69	59	891,63	143,11
60	68	L078	11975,89	60	820,89	93,49
61	17	L021	11912,76	61	868,95	32,57
62	13	L017	11886,71	62	1190,13	136,39
63	72	L083	11826,72	63	957,55	73,61
64	18	L022	11898,02	64	1135,70	30,24
65	85	L113	12032,42	65	767,11	117,48
66	50	L060	12135,68	66	971,23	46,48
67	65	L075	12176,19	67	863,71	20,66
68	62	L072	12214,77	68	945,82	-45,97
69	11	L015	12044,12	69	898,25	-36,22
70	33	L038	12073,70	70	667,03	75,67
71	74	L086	12075,98	71	570,09	160,27
72	5	L009	12132,87	72	974,14	-25,09
73	26	L030	12039,44	73	628,25	108,44
74	37	L044	12034,92	74	1034,33	142,33
75	14	L018	12006,98	75	920,71	102,27
76	6	L010	12027,56	76	910,21	-23,08
77	54	L064	11980,39	77	808,49	36,52

78	15	L019	11950,93	78	1133,70	36,09
79	28	L032	11900,47	79	1199,47	32,59
80	61	L071	11904,24	80	680,01	83,07
81	46	L055	11764,14	81	1027,71	102,84
82	2	L005	11608,03	82	852,18	-84,32
83	51	L061	11593,96	83	848,97	107,39
84	7	L011	11567,33	84	289,35	-633,74
85	41	L048	11580,05	85	765,25	-57,25
86	66	L076	11559,66	86	1256,16	97,28
87	10	L014	11073,89	87	299,95	29,50

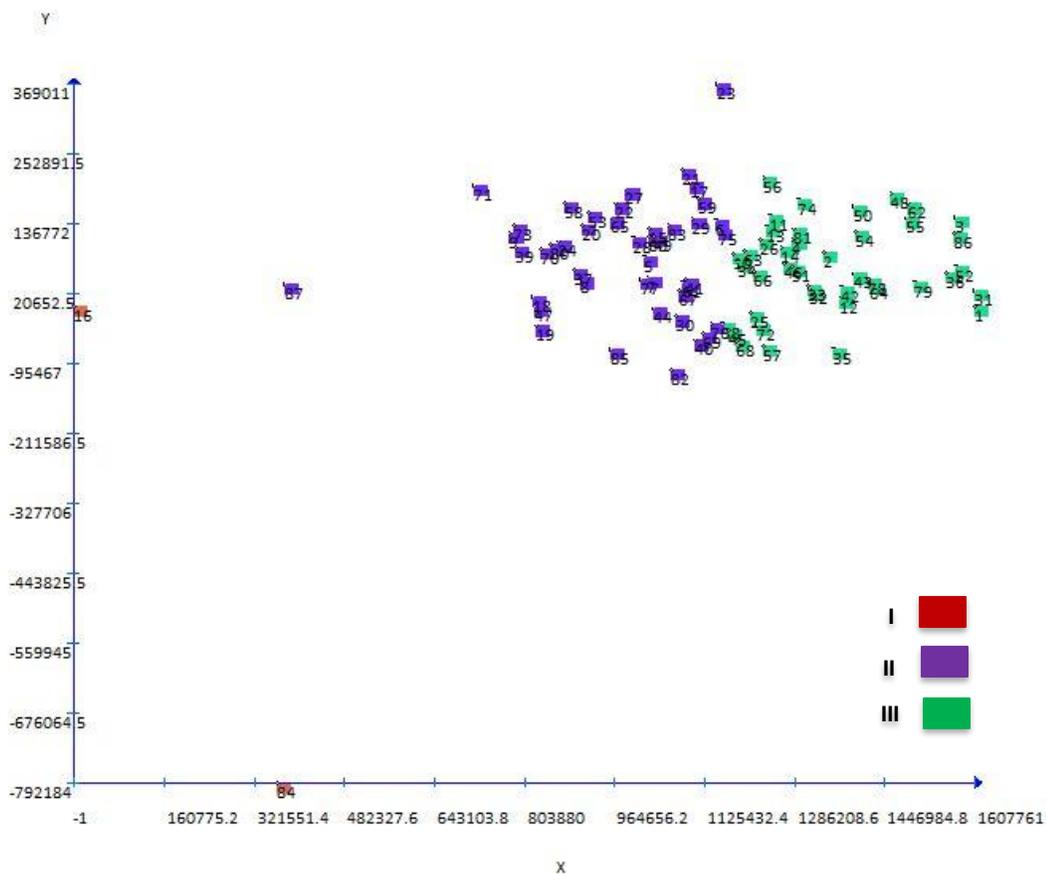


Figura 8. Proyección de agrupamiento 2D de 87 clones de *Stevia rebaudiana* por método de agrupamiento K means.

En el grupo I, representado por el color rojo, se encuentran los genotipos L020 y L102. Este grupo presenta la mayor altura de planta, grosor del tallo, número de nudos, mayor tamaño de hoja y capacidad vegetativa, esta información se puede corroborar en la tabla 10.

El grupo II de color morado, está representado por 45 genotipos L098, Morita II L113, L023, L022, L082, L027, L031, L025, L021, L069, L085, L044, L012, L087, L026, L075, L024, L013, L056, L009, L047, L052, L035, L010, L034, L063, L068, L081, L011, L089, L096, L028, L079, L088, L077, L048, L074, L032, L029, L013, L019, L056, L100, L046, L059; estos se caracterizan por presentar el mayor número de ramas primarias, lo que favorece la producción de biomasa.

El grupo III representado por el color verde, se agrupan 40 genotipos L040, L067, L078, L029, L083, L003, L036, L062, L041, L114, L006, L072, L065, L057, L060, L064, L094, L066, L086, L015, L017, L030, L076, L073, L039, L097, L008, L005, L018, L051, L016, L054, L014, L037, L038, L061, L055, L092, L049 y L045. Siendo el grupo más desfavorable al considerar los datos de la tabla 10, ya que presentan los menores valores en todos los caracteres: de altura de la planta, número de nudos, grosor del tallo, tamaño de la hoja, capacidad de propagación vegetativa y tasa de rendimiento seco; por lo que no poseen ventajas agronómicas.

Tabla 10. Descriptores cuantitativos para 87 clones de *S. rebaudiana* agrupados por el método K means.

DESCRIPTOR	GRUPO			CRCD- Singh (1981) *	
	GI (2)	GII (45)	GIII (40)	S j (1)	Valor (%)
Altura de la planta	114,9 ± 6,5	46,5 ± 11,7	38,1 ± 5,1	87167,397346	11,01
Número de ramas primarias	16,4 ± 0,3	18,1 ± 3,3	15,3 ± 2,8	4626,780763	0,584
Grosor del tallo	8,5 ± 0,6	5,36 ± 1,7	3,9 ± 0,9	130246,083246	16,45
Número de nudos	24,2 ± 5,4	17,9 ± 4,6	12,9 ± 3,6	177877,768556	22,47
Tamaño de la hoja	9,1 ± 0,9	5,3 ± 1,3	5,0 ± 1,3	76914,4395	9,719
Capacidad de propagación vegetativa	75,0 ± 0,0	61,7 ± 12,6	54,6 ± 9,6	216387,238899	27,34
Tasa de rendimiento seco	23,0 ± 7,9	4,81, ± 1893,3	4,3 ± 2,7	98157,345831	12,40

GI: L020, L102; GII: Morita II, L098, L113, L023, L022, L082, L027, L031, L025, L021, L069, L085, L044, L012, L087, L026, L075, L024, L013, L056, L009, L047, L052, L035, L010, L034, L063, L068, L081, L011, L089, L096, L028, L079, L088, L077, L048, L074, L032, L013, L019, L056, L100, L046, L059; GIII: L040, L067, L078, L029, L083, L003, L036, L062, L041, L114, L006, L072, L065, L057, L060, L064, L094, L066, L086, L015, L017, L030, L076, L073, L039, L097, L008, L005, L018, L051, L016, L054, L014, L037, L038, L061, L055, L092, L049, L045 *CRCD: contribución relativa de los caracteres a la diversidad, Valores en negrilla descriptores más discriminantes

La contribución relativa de cada rasgo a la diversidad genética, mostró que tres de estos rasgos cuantitativos contribuyeron con 66,26% de divergencia genética entre los genotipos (Tabla 10). Estas características fueron capacidad de propagación vegetativa, que contribuyó con el 27,34%, número de nudos con el 22, 47% y el grosor del tallo, con el 16,45 %, lo que indica la existencia de variabilidad genética para estas características. Estos rasgos fueron más eficientes para explicar la disimilitud entre los genotipos y, por lo tanto, deben priorizarse al elegir los padres para el futuro en programas de mejoramiento.

4.2.2 Análisis clúster mediante método jerárquico. El análisis de agrupamiento jerárquico por el método de UPGMA, usando la distancia de GOWER, muestra inicialmente la distancia entre los clones (Tabla 11). En esta se muestran los valores máximo y mínimo y aquellos genotipos involucrados en los distanciamientos. En este sentido, la distancia genética máxima se obtiene con los genotipos más divergentes, en tanto que la distancia genética mínima, se logra con los genotipos más similares (Lagos et al., 2003).

Tabla 11. Distancia de Gower entre 87 clones de *Stevia rebaudiana*.

N°	GENOTIPO	Distancia entre genotipos			
		Menor distancia		Mayor distancia	
1	L003	0,099325	68	0,57343	87
2	L005	0,116548	66	0,48422	87
3	L006	0,081291	74	0,518579	84
4	L008	0,118787	10	0,468411	23
5	L009	0,089122	85	0,391463	71
6	L010	0,134949	15	0,416996	84
7	L011	0,112487	29	0,393454	36
8	L012	0,117118	11	0,469205	87
9	L013	0,094319	30	0,516003	36
10	L014	0,094008	32	0,422641	87
11	L015	0,116436	21	0,50857	87
12	L016	0,14512	32	0,401296	87
13	L017	0,149783	43	0,485903	23
14	L018	0,114509	10	0,456135	84
15	L019	0,101972	56	0,400703	36
16	L020	0,093695	84	0,525287	52
17	L021	0,103866	60	0,431614	87
18	L022	0,116991	60	0,455466	33
19	L023	0,123383	85	0,43267	78
20	L024	0,095252	67	0,413885	13
21	L025	0,116436	11	0,474035	30

22	L026	0,08792	45	0,424879	87
23	L027	0,221351	67	0,48767	84
24	L028	0,161018	53	0,449261	52
25	L029	0,137117	67	0,43576	84
26	L030	0,132523	5	0,462414	84
27	L031	0,104571	73	0,424471	83
28	L032	0,097733	50	0,467346	84
29	L034	0,112487	7	0,43973	33
30	L035	0,094319	9	0,474035	21
31	L036	0,127112	46	0,499413	87
32	L037	0,094008	10	0,434261	87
33	L038	0,167002	26	0,523167	44
34	L039	0,151147	55	0,406846	36
35	L040	0,100974	68	0,51805	87
36	L041	0,131689	68	0,64555	87
37	L044	0,123824	40	0,449432	63
38	L045	0,145038	26	0,458725	44
39	L046	0,125195	47	0,392649	86
40	L047	0,123824	37	0,493525	75
41	L048	0,102027	28	0,459139	84
42	L049	0,121728	54	0,426435	40
43	L051	0,121997	79	0,499996	84
44	L052	0,196057	20	0,523167	33
45	L054	0,08792	22	0,446505	87
46	L055	0,109317	79	0,430701	23
47	L056	0,112815	28	0,43386	84
48	L057	0,155076	79	0,471072	40
49	L059	0,125914	64	0,530497	87
50	L060	0,084388	51	0,492163	84
51	L061	0,084388	50	0,490478	75
52	L062	0,137399	3	0,632616	84
53	L063	0,15115	7	0,441779	52
54	L064	0,119634	22	0,495351	87
55	L065	0,151147	34	0,456801	8
56	L066	0,101972	15	0,396239	44
57	L067	0,095838	45	0,433821	87
58	L068	0,167569	19	0,429079	78
59	L069	0,187883	10	0,446263	40
60	L070	0,103866	17	0,467429	33
61	L071	0,121254	10	0,468311	23
62	L072	0,121163	68	0,534759	87
63	L073	0,137647	3	0,475287	82
64	L074	0,102819	1	0,588656	87
65	L075	0,152258	39	0,445075	84
66	L076	0,116548	2	0,477194	87
67	L077	0,095252	20	0,46513	87
68	L078	0,099325	1	0,558026	87
69	L079	0,147895	74	0,425373	14
70	L081	0,16651	51	0,492866	75
71	L082	0,163439	18	0,451449	3
72	L083	0,135645	41	0,471779	84
73	L085	0,102261	80	0,403613	87
74	L086	0,081291	3	0,471627	87
75	L087	0,17403	48	0,493525	40
76	L088	0,126322	61	0,45627	23
77	L089	0,107436	57	0,431958	44

78	L092	0,143999	54	0,546307	84
79	L094	0,109317	46	0,448752	87
80	L096	0,102261	73	0,433957	52
81	L097	0,148452	69	0,513025	87
82	L098	0,126828	41	0,475287	63
83	L100	0,154263	3	0,48566	84
84	L102	0,093695	16	0,632616	52
85	L113	0,089122	5	0,42406	75
86	L114	0,140479	36	0,615289	87
87	Morita II	0,199395	16	0,64555	36

*Los valores en negrilla corresponden a la distancia máxima y mínima entre los clones

Con respecto a la distancia de Gower, se destacan los genotipos L041 y Morita II con el mayor valor de 0,64555, siendo los más diversos, ya que presentan valores cercanos a 1. Por el contrario, los genotipos L006 y L086, resultaron ser los de menor distancia con valor de 0,081291.

En la tabla 12 se detallan sus características morfoagronómicas de los clones más y menos divergente, según la distancia de Gower.

Tabla 12. Genotipos más y menos divergentes de *S. rebaudiana*, según distancia de Gower.

Carácter	Genotipos más divergentes		Carácter	Genotipos menos divergentes	
	L041	Morita II		L006	L086
TP	Tipo II	Tipo III	TP	Tipo III	Tipo III
PAT	Ausente	Presente	PAT	Presente	Presente
CPT	Pocos	Muchos	CPT	Pocos	Pocos
FH	Obovada	Obovada	FH	Elíptica	Elíptica
GH	Delgado	Muy grueso	GH	Medio	Medio
CH	Verde	Verde	CH	Verde	Verde
IMH	Superficial	Media	IMH	Superficial	Superficial
CPH	Nula	Media	CPH	Nula	Nula
TF	Pequeña	Media	TF	Pequeña	Pequeña
CF	Rojizo claro	Blanco	CF	Blanco	Blanco
VIGC	Medio	Alto	VIGC	Medio	Medio
EIFC	Muy temprana	Muy tarde	EIFC	Intermedia	Temprana
EIF	Muy temprana	Muy tarde	EIF	Intermedia	Temprana
HR	Medio	Bueno	HR	Medio	Bueno
HC	Postrado	Semierecto	HC	Postrado	Postrado
PC	Corto	Largo	PC	Medio	Medio
REST	No susceptible	No susceptible	REST	No susceptible	No susceptible
AP	33,06	112,8	AP	32,43	31,63
NRP	12,4	27,6	NRP	12,4	12,3
GT	4,8	7,43	GT	2,4	4,36
NN	10,0	19,2	NN	14,3	15,9

TH	4,1	8,93	TH	5,0	3,26
CPV	50,0	75,0	CPV	50,0	50,0
TRS	0,94	20,58	TRS	2,07	6,17

Los caracteres resaltados en negrilla son aquellos en los que se presentaron diferencias entre los genotipos.

La variedad Morita II presentó mejores atributos en contraste con el genotipo L004, en cuanto a la tasa de rendimiento seco, periodo de crecimiento largo, grosor del tallo grueso, capacidad de propagación vegetativa superior, habito de crecimiento semierecto y destacando la etapa inicial de floración tardía. Para el caso de los genotipos menos divergentes presentaron diferencias con relación a la etapa de floración, habito de ramificación y notoriamente en el índice foliar el L006 presentó mayor tamaño de hoja.

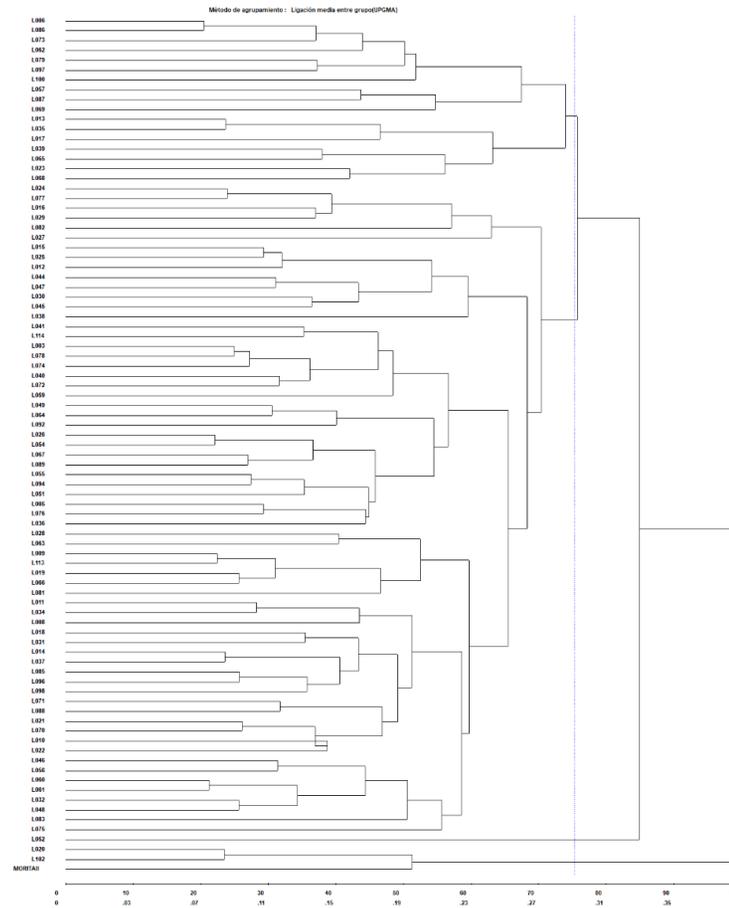


Figura 9. Agrupamiento para 87 clones de *Stevia rebaudiana* con distancia de Gower método UPGMA.

GI: Morita II, L102, L020 **GII:** L052 **GIII:** L075, L083, L048, L032, L061, L060, L056, L046, L022, L010, L070, L021, L088, L071, L098, L096, L085, L037, L014, L031, L018, L008, L034, L011, L081, L066, L019, L113, L009, L063, L028, L036, L076, L005, L051, L094, L055, L089, L067, L054, L026, L092, L064, L049, L059, L072, L040, L074, L078, L003, L114, L041, L038, L045, L030, L047, L044, L012, L025, L015, L027, L082, L029, L016, L077, L024 **GIV:** L068, L023, L065, L039, L017, L035, L013, L069, L087, L057, L100, L097, L079, L062, L073, L086, L006

Utilizando la distancia de Gower, los 87 clones de *S. rebaudiana* se agruparon en cuatro clústeres, por el método UPGMA (Figura 9). Estos resultados indican que existe una alta divergencia genética entre algunos de los genotipos.

Con base en los resultados del agrupamiento, se generaron cuatro grupos. El primero agrupa 3 genotipos, el segundo 1 genotipo, el tercero 66 y el cuarto 17 genotipos. En la tabla 13 se relacionan sus características cualitativas.

Tabla 13. Descriptores cualitativos determinados en 87 clones de *Stevia rebaudiana*.

DESCRIPTOR	GRUPOS			
	GI (3)	GII (1)	GIII (66)	GIV (17)
Tipo de planta				
I	-	-	-	-
II	-	1	30	4
III	3	-	36	13
IV	-	-	-	-
V	-	-	-	-
IV	-	-	-	-
Presencia de antocianinas en el tallo				
Ausente	2	1	44	4
Presente	1	-	22	13
Cantidad de pubescencia en el tallo				
Nulo	-	-	-	-
Pocos	-	1	31	6
Medio	1	-	27	11
Muchos	2	-	8	-
Forma de la hoja				
Elíptica	-	1	25	11
Rómbica	-	-	-	-
Obovada	3	-	30	2
Aovada	-	-	3	1
Lanceolada	-	-	8	3
Grosor de la hoja				
Muy delgado	-	-	-	-
Delgado	-	-	1	1
Medio	-	-	29	8
Grueso	-	1	31	6
Muy grueso	3	-	5	2
Color de la hoja				
Verde pálido	-	1	2	-
Verde	3	-	61	16
Verde oscuro	-	-	3	1
Incisión del margen de la hoja				
Toda	-	-	1	-
Superficial	-	1	41	12
Media	3	-	24	5
Profunda	-	-	-	-
Muy profunda	-	-	-	-

Cantidad de pubescencia en la hoja				
Nula	1	1	23	11
Pequeña	1	-	41	6
Media	1	-	2	-
Abundante	-	-	-	-
Tamaño de la flor				
Pequeña	-	1	5	9
Media	2	-	30	4
Grande	-	-	31	4
Color de la flor				
Blanco	1	1	17	7
Rojizo claro	1	-	19	6
Púrpura	-	-	30	4
Púrpura rojizo	-	-	-	-
Vigor de crecimiento				
Bajo	-	-	1	3
Medio	-	-	25	8
Alto	3	1	40	6
Etapa inicial de floración en ciernes				
Muy temprana	-	-	12	-
Temprana	-	-	34	5
Intermedia	-	-	19	6
Tarde	-	1	1	6
Muy tarde	2	-	-	-
Etapa inicial de floración				
Muy temprana	-	-	12	-
Temprana	-	-	34	5
Intermedia	-	-	19	6
Tarde	-	1	1	6
Muy tarde	2	-	-	-
Habito de ramificación				
Pobre	-	-	-	1
Medio	-	-	12	9
Bueno	3	1	54	7
Habito de crecimiento				
Erecto	2	-	-	-
Semierecto	1	1	21	3
Postrado	-	-	45	14
Periodo de crecimiento				
Corto	-	-	21	-
Medio	-	-	38	9
Largo	3	1	7	8
Resistencia a la enfermedad del tizón del sur (<i>Sclerotium rolfsii</i>)				
No susceptible	3	1	62	14
Débiles	-	-	4	3
Medio	-	-	-	-
Fuerte	-	-	-	-

Los clones del primer grupo, se caracterizan por presentar plantas tipo arbustivas, con mucha pubescencia en el tallo, forma de la hoja obovada, tallo muy grueso, color de la hoja verde, con un margen de incisión de la hoja medio, tamaño de la flor mediana y que se difirió en el color de la flor para el clon L102 rojizo claro mientras que la variedad comercial Morita II blanco, cabe resaltar que para el genotipo L020 no se tiene información de esta variable, ya que en el transcurso de la investigación no presentó floración. El vigor de crecimiento es alto, el hábito de ramificación bueno, los clones L020 y L102 presentaron hábito de crecimiento erecto y Morita II con hábito de crecimiento semierecto, las plantas de este grupo tienen un periodo de crecimiento largo, no presentaron susceptibilidad a *Sclerotium rolfsii*, lo cual convierte a este grupo con las mejores características morfoagronómicas para la selección de caracteres de interés agronómico. En cuanto a la etapa inicial de floración fue muy tardía en el clon L102 y Morita II, siendo un factor muy relevante y determinante debido a que el contenido de compuestos edulcorantes en la estevia tiende a aumentar hasta el inicio de la floración, por lo que convierte como una característica fundamental para los futuros programas de mejoramiento de la estevia.

En el segundo grupo, se encuentra un único clon el L052, quien presenta ausencia de antocianina en el tallo y poca cantidad de pubescencia en el mismo, forma de la hoja elíptica, el grosor del tallo grueso, color de la hoja verde pálido, una incisión del margen de la hoja superficial no presenta pubescencia en la hoja y el tamaño de la flor es pequeña de color blanco, con una etapa de floración tarde. El hábito de ramificación es bueno, con un periodo de crecimiento largo y de hábito semierecto.

El tercer grupo, las plantas se caracterizan por presentar diferentes tipos de hojas la obovada la más predominante, seguido de la elíptica, lanceolada y aovada en menor proporción, en algunas hay ausencia y presencia de antocianina en el tallo, con un grosor de tallo medio y grueso, predominan las plantas con color de hoja verde, siendo los clones L081, L036 y L061 de color verde oscuro, mientras que el L072 y L047 verde pálido. Se encuentran distintos tamaños en las flores, algunas grandes, otras medianas y pequeñas en menor medida. Ante la resistencia a

Sclerotium algunas mostraron debilidad frente a esta enfermedad, tal el caso de L075, L031, L076, L089, lo cual sugiere que agronómicamente no son genotipos deseables para programas de mejoramiento por lo que mantienen carácter indeseable del parental. Sin embargo, los restantes no fueron susceptibles a *Sclerotium rolfsii*. En este conglomerado se encuentran los genotipos con la etapa de floración inicial muy temprana con periodos de crecimiento corto y mediano y en mayor proporción se presentan los clones con hábito de crecimiento postrado y algunos semierecto, lo que agronómicamente no es deseable.

Para el cuarto grupo, predominan las plantas con presencia de antocianina en el tallo, con forma de hoja elíptica, se caracterizan por ser plantas con un vigor de crecimiento medio al igual que la ramificación. La gran mayoría presentan hábito de crecimiento postrado, un tamaño de flor en mayor proporción pequeña, pero algunas muestran tamaño mediano y grande. Se pueden encontrar diferentes tipos de color de la flor de plantas con flores blancas, otras rojizo claro y púrpura. Para la etapa inicial de floración solo cinco presentan floración temprana, seguido de floración intermedia y tardía en la misma proporción.

Con base en las características cualitativas discriminantes de esta investigación se corrobora la existencia de variabilidad genética en el banco de germoplasma de *Stevia rebaudiana* de la Universidad de Córdoba, con rasgos de gran importancia en floración tardía, arquitectura erecta, vigor de crecimiento alto y plantas no susceptibles a *Sclerotium rolfsii*, los cuales son útiles para programas de mejoramiento de esta especie, para una mayor disponibilidad de cultivares para los productores, con el fin de asegurar el rendimiento en la progenie y de esta manera mantener la ganancia genética a largo plazo.

Las variables cuantitativas de esta investigación sugieren la presencia de alta variación entre los clones para todos los caracteres. A partir de los resultados, en la tabla 14 se relacionan los valores de cada grupo, donde se identifican los genotipos con potencialidades por su contribución al rendimiento.

Tabla 14. Descriptores cuantitativos determinados en 87 clones de *Stevia rebaudiana*.

DESCRIPTOR	GRUPO			
	GI (3)	GII (1)	GIII (66)	GIV (17)
Altura de la planta (cm)	114,21± 4,74	39,60	42,24 ± 6,02	39,46 ± 7,73
Numero de ramas primarias (N°)	20,13 ± 6,46	17,90	17,17 ± 3,03	14,43 ± 2,68
Grosor del tallo (mm)	8,16 ± 0,76	5,53	4,75 ± 1,35	3,71 ± 1,36
Numero de nudos (N°)	22,50 ± 4,79	9,10	15,52 ± 5,13	15,71 ± 3,58
Tamaño de la hoja (cm)	9,05 ± 0,65	5,03	5,17 ± 1,29	5,04 ± 1,24
Capacidad de propagación vegetativa (%)	75,00 ± 0,00	75,00	54,55 ± 9,72	67,65 ± 11,74
Tasa de rendimiento seco (g)	22,18 ± 5,73	12,12	6,34 ± 3,60	5,95 ± 4,40

El grupo I es el más interesante, donde están los genotipos erectos de mayor altura, los cuales presentan el mejor promedio de todos los grupos de 114,21± 4,74cm en AP, con mayor número de ramas, tamaño de hoja y grosor del tallo. Por tanto, resultan significativamente valiosos al momento de evaluar o caracterizar rasgos de interés para el mejoramiento de esta especie. Se ubican aquí la variedad Morita II y los clones L102 y L020, este último con excelentes rendimientos en biomasa seca del 28,55g superando a la variedad comercial, rasgo de gran importancia ya que los estudios revelan que los principios activos dependen en gran medida de la biomasa total (Flores González, 2019). En este contexto, cabe resaltar que este clon no floreció, partiendo de que períodos de floración más tardíos permiten mayor tiempo de acumulación de glucósidos (Ceunen y Geuns 2013).

Tabla 15. Datos cuantitativos mostrados por clones del grupo I.

GENOTIPO	AP (cm)	NRP (N°)	GT (mm)	NN (N°)	TH (cm)	CPV (%)	TRS (g)
Morita II	112,80	27,60	7,43	19,20	8,93	75,00	20,58
L102	119,50	16,60	8,10	20,30	9,76	75,00	17,42
L020	110,33	16,20	8,96	28,00	8,46	75,00	28,55
MEDIA	114,21	20,13	8,16	22,50	9,05	75,00	22,18
DESV. E	4,74	6,46	0,76	4,79	0,65	0,00	5,73

AP= Altura de la planta, NRP= Numero de ramas primaria, GT= Grosor del tallo, NN= Numero de nudos, TH= Tamaño de la hoja, CPV= Capacidad de propagación vegetativa, TRS= Tasa de rendimiento seco.

El grupo II, está representado por un solo clon el L052 (Tabla 16), el cual presenta carácter incidente en altura de planta de 39,60cm con respecto al demás grupo. Sin embargo, la capacidad de propagación vegetativa es buena con un 75% que se ve reflejada en los rasgos de número de ramas primarias de 17,90 y tasa de rendimiento seco del 12,12 g/planta.

Tabla 16. Datos cuantitativos mostrados por clones del grupo II.

GENOTIPO	AP (cm)	NRP (N°)	GT (mm)	NN (N°)	TH (cm)	CPV (%)	TRS (g)
L052	39,60	17,90	5,53	9,10	5,03	75,00	12,12

AP= Altura de la planta, NRP= Numero de ramas primarias, GT= Grosor del tallo, NN= Numero de nudos, TH= Tamaño de la hoja, CPV= Capacidad de propagación vegetativa, TRS= Tasa de rendimiento seco.

La tabla 17 muestra los valores del grupo III, el cual es el más amplio. Estos presentan las tasas de rendimientos seco mas más bajas, representado por los clones: L041 de 0,94 g, L016 de 1,02 g, L038 de 1,05 g, L003 de 1,21 g, L074 de 1,39 g, L015 de 1,66 g, L072 de 1,89 g, L025 de 1,90 g, L064 1,91 g y L036 de 1,99g.

Tabla 17. Datos cuantitativos mostrados por clones del grupo III.

GENOTIPO	AP (cm)	NRP (N°)	GT (mm)	NN (N°)	TH (cm)	CPV (%)	TRS (g)
L075	41,03	14,60	4,30	21,10	5,36	50,00	10,15
L083	43,03	16,90	4,10	9,50	6,10	50,00	8,35
L048	42,13	20,30	4,06	13,40	5,80	50,00	10,42
L032	43,56	16,00	5,33	20,20	4,86	50,00	6,19
L061	40,16	12,80	4,06	13,00	4,50	50,00	4,95
L060	37,96	14,20	3,33	15,70	3,60	50,00	3,88
L056	57,43	18,30	8,50	17,90	5,13	50,00	9,07
L046	47,03	14,90	6,46	21,00	4,83	50,00	14,58
L022	50,30	14,50	5,43	18,40	6,40	75,00	7,41
L010	45,16	18,20	3,53	19,90	4,66	50,00	3,35
L070	53,23	16,70	3,06	20,70	5,36	50,00	7,96
L021	39,53	18,20	4,26	20,10	3,30	50,00	8,99
L088	42,06	14,50	3,40	9,90	5,76	75,00	9,25
L071	45,90	18,70	3,73	13,30	5,10	50,00	11,38
L098	52,36	20,90	5,26	9,60	6,66	50,00	8,70

L096	48,20	16,80	5,10	21,70	5,26	50,00	11,72
L085	46,63	20,50	6,10	21,50	3,26	50,00	6,17
L037	33,93	17,20	5,66	9,70	4,83	50,00	5,79
L014	37,80	18,10	4,36	16,00	6,06	50,00	4,67
L031	44,33	16,40	6,16	25,60	5,16	50,00	4,04
L018	39,86	20,40	3,53	16,00	6,40	50,00	3,73
L008	29,13	11,40	3,53	19,20	9,60	50,00	2,93
L034	37,53	14,50	3,50	19,00	4,86	75,00	5,16
L011	35,76	17,20	5,50	15,60	6,20	75,00	4,65
L081	41,60	21,10	5,96	20,60	6,50	50,00	13,09
L066	39,73	14,30	2,43	20,50	5,26	50,00	6,12
L019	42,80	16,50	4,43	20,40	5,53	50,00	6,48
L113	55,46	22,40	6,33	13,00	6,26	50,00	7,30
L009	45,76	15,60	4,56	19,40	6,63	50,00	5,07
L063	52,76	20,60	6,30	24,80	5,96	50,00	3,44
L028	38,76	17,10	7,73	21,50	7,23	50,00	8,31
L036	38,46	15,30	3,80	9,10	3,60	50,00	1,99
L076	39,86	13,50	3,46	13,60	5,83	50,00	6,75
L005	35,80	13,60	3,80	13,70	5,30	50,00	3,57
L051	37,93	13,00	3,83	9,60	4,00	50,00	7,14
L094	40,40	15,10	3,36	10,40	4,90	50,00	2,70
L055	40,90	13,20	3,60	12,90	4,43	50,00	6,78
L089	38,76	19,20	7,83	17,40	7,36	50,00	3,00
L067	45,20	14,80	3,16	9,30	7,40	50,00	9,09
L054	38,96	17,20	5,46	9,30	5,70	50,00	9,19
L026	34,56	18,90	4,43	20,90	7,56	50,00	10,74
L092	32,53	11,60	6,26	9,20	3,60	50,00	3,40
L064	32,66	14,40	4,43	14,30	4,60	50,00	1,91
L049	40,96	17,30	3,36	9,20	3,90	75,00	5,37
L059	46,90	17,30	4,20	18,80	3,10	75,00	6,30
L072	32,13	16,60	3,56	14,70	4,53	50,00	1,89
L040	49,93	19,30	5,06	9,20	5,43	50,00	1,39
L074	41,96	15,30	4,43	9,30	3,30	50,00	5,46
L078	46,33	15,40	5,06	9,40	5,16	50,00	7,51
L003	34,23	12,50	3,50	9,50	4,43	50,00	1,21
L114	34,66	14,70	3,36	9,50	2,60	50,00	5,89
L041	33,06	12,40	4,80	10,00	4,10	50,00	0,94
L038	40,63	20,50	5,40	12,60	5,50	50,00	1,05
L045	49,03	19,60	4,43	9,40	4,23	50,00	12,07
L030	43,83	18,60	3,60	17,80	5,76	50,00	2,91

L047	46,03	23,50	5,30	9,50	5,70	50,00	10,66
L044	51,93	21,00	4,33	17,60	5,26	50,00	13,80
L012	46,53	20,00	7,73	19,40	6,30	50,00	5,15
L025	41,86	21,90	7,70	21,50	4,26	50,00	1,90
L015	39,40	18,10	4,70	18,60	4,56	50,00	1,66
L027	47,63	24,70	4,30	27,40	2,90	75,00	1,85
L082	43,53	20,30	7,43	22,20	7,00	75,00	14,09
L029	47,20	21,20	4,36	9,30	3,83	75,00	7,10
L016	39,66	20,40	5,30	9,50	4,03	75,00	1,02
L077	45,80	15,30	3,60	12,90	4,03	75,00	9,23
L024	37,73	17,80	4,73	19,40	4,83	75,00	10,48
MEDIA	42,24	17,17	4,75	15,52	5,17	54,55	6,34
DESV. E	6,02	3,03	1,35	5,13	1,29	9,72	3,60

AP= Altura de la planta, NRP= Numero de ramas primarias, GT= Grosor del tallo, NN= Numero de nudos, TH= Tamaño de la hoja, CPV= Capacidad de propagación vegetativa, TRS= Tasa de rendimiento seco.

Tabla 18. Datos cuantitativos mostrados por clones del grupo IV.

GENOTIPO	AP (cm)	NRP (N°)	GT (mm)	NN (N°)	TH (cm)	CPV (%)	TRS (g)
L068	45,16	13,90	3,56	22,10	5,26	75,00	11,13
L023	56,03	20,90	4,36	13,20	6,10	75,00	16,12
L065	28,26	13,00	2,70	13,90	4,53	75,00	2,04
L039	37,90	13,90	3,70	14,90	5,50	75,00	3,18
L017	35,83	13,00	3,73	17,90	6,26	50,00	3,21
L035	51,63	15,30	3,43	14,70	6,70	75,00	3,63
L013	50,43	20,90	8,20	21,30	4,43	75,00	7,36
L069	34,60	12,00	3,60	20,70	5,20	75,00	3,93
L087	44,33	16,00	3,26	14,80	2,50	75,00	9,52
L057	36,06	15,20	2,43	17,70	5,10	50,00	2,00
L100	38,23	13,50	2,66	12,80	5,86	75,00	14,58
L097	37,53	14,00	3,10	16,20	4,26	75,00	2,71
L079	42,36	13,90	5,06	10,00	4,96	75,00	5,73
L062	34,83	12,70	3,30	9,30	3,46	50,00	4,73
L073	33,50	12,40	3,16	17,40	7,23	75,00	3,09
L086	31,63	12,30	4,36	15,9	3,26	50,00	6,17
L006	32,43	12,40	2,40	14,30	5,00	50,00	2,07
MEDIA	39,46	14,43	3,71	15,71	5,04	67,65	5,95
DESV. E	7,73	2,68	1,36	3,58	1,24	11,74	4,40

AP= Altura de la planta, NRP= Numero de ramas primarias, GT= Grosor del tallo, NN=Numero de nudos, TH= Tamaño de la hoja, CPV= Capacidad de propagación vegetativa, TRS= Tasa de rendimiento seco.

El grupo IV, presenta el promedio menor de grosor de tallo de 3,71mm (Tabla 18) siendo el clon L006 quien muestra el valor de GT más bajo de 2,40mm.

Las características cuantitativas de esta investigación, permitió identificar genotipos superiores en rendimiento con respecto a la variedad comercial Morita II, siendo el clon L020 y L102 con rasgos favorables para el mejoramiento genético de la especie, a su vez todos los clones presentaron una capacidad de propagación vegetativa buena del 50% en adelante, característica importante ya que permite plantaciones uniformes y con gran capacidad de enraizamiento, factor relevante en la nutrición vegetal de las plantas.

4.3. OBJETIVO 3. DETERMINAR LA EFICIENCIA DEL INTERCAMBIO GASEOSO DE CINCO GENOTIPOS DE ESTEVIA CON BASE EN SU PRECOCIDAD A FLORACIÓN.

4.3.1 El intercambio de gases. Con el analizador de gases infrarrojo portátil de flujo abierto (LI-6400XT; LI-COR Inc., Lincoln, NE, EE. UU.) se pudo determinar los parámetros fisiológicos de los genotipos seleccionados a partir de su etapa inicial de floración (L102-EIF muy tardío 121 días, L057-EIF intermedia 61 a 80 días, L082-EIF muy temprana de 0-40 días, Morita II- testigo 121 días y L020 no floreció) (Figura 10).

En cuanto a la fotosíntesis neta (AN), el genotipo L102 presentó el mayor valor de 74 % de $AN = 23,9 \mu\text{mol CO}_2 \text{ metro}^{-2} \text{ s}^{-1}$ superior al genotipo Morita II con $AN = 13,8 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ que representa el 28 %. Además, el resto de los clones mostraron superioridad al testigo Morita II con valores de AN (46 % = $20,1 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ en L057, 40 % = $19,3 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ en L020 y 28 % = $17,6 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ en L082), esto indica que hay una mayor optimización de la fotosíntesis la cual podría estar relacionada con el área foliar producida, que mejora la intercepción y utilidad de la luz (Tóth et al., 2002; Jarma et al., 2006).

La conductancia estomática (gs), mostró un patrón similar a AN (Figura 10), con los siguientes incrementos: Morita II ($341 \mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-1} \text{ s}^{-1}$), L082 (773.1

$\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-1} \text{s}^{-1}$), L057 ($788,2 \mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-1} \text{s}^{-1}$) y L102 ($961,5 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-1} \text{s}^{-1}$) Por tanto, la apertura de las estomas provoca captura de CO_2 , así como el agua que se pierde en la atmósfera, que tiene un potencial hídrico extremadamente negativo. Entonces, en estos contextos, el mejor genotipo es el que es más capaz de asegurar la fotosíntesis con una apertura estomática baja o muy baja, descrita por la eficiencia intrínseca del uso del agua. (Mendoza, 2002; Cano Martín, 2015). El genotipo L020 mostró una g_s de $239.4 \mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-1} \text{s}^{-1}$ o 30% menos que la medida en la variedad comercial Morita II.

Para el estudio de genotipos elites específicos, las características de intercambio gaseoso más utilizadas son fotosíntesis neta y conductancia estomática. En este sentido en *Stevia rebaudiana* el AN total generalmente se conecta para producir más área foliar y, por lo tanto, más material biológico para producir glucósidos de esteviol. Algunos autores como (Arradaza et al., 2019, Jarma Orozco et al., 2012; Gomes, et al., 2018;) lo han evidenciado en la promoción del rendimiento foliar mientras que (Truong et al., 1999, Singh et al., 2020; Rivera-Avilez et al., 2021; Hernández et al., 2022) en retraso floral, ya que las plantas con un periodo de floración largo tardan más tiempo en vegetar así que dedican toda la energía gastada al crecimiento de la parte aérea, para mayor acumulación de materia seca.

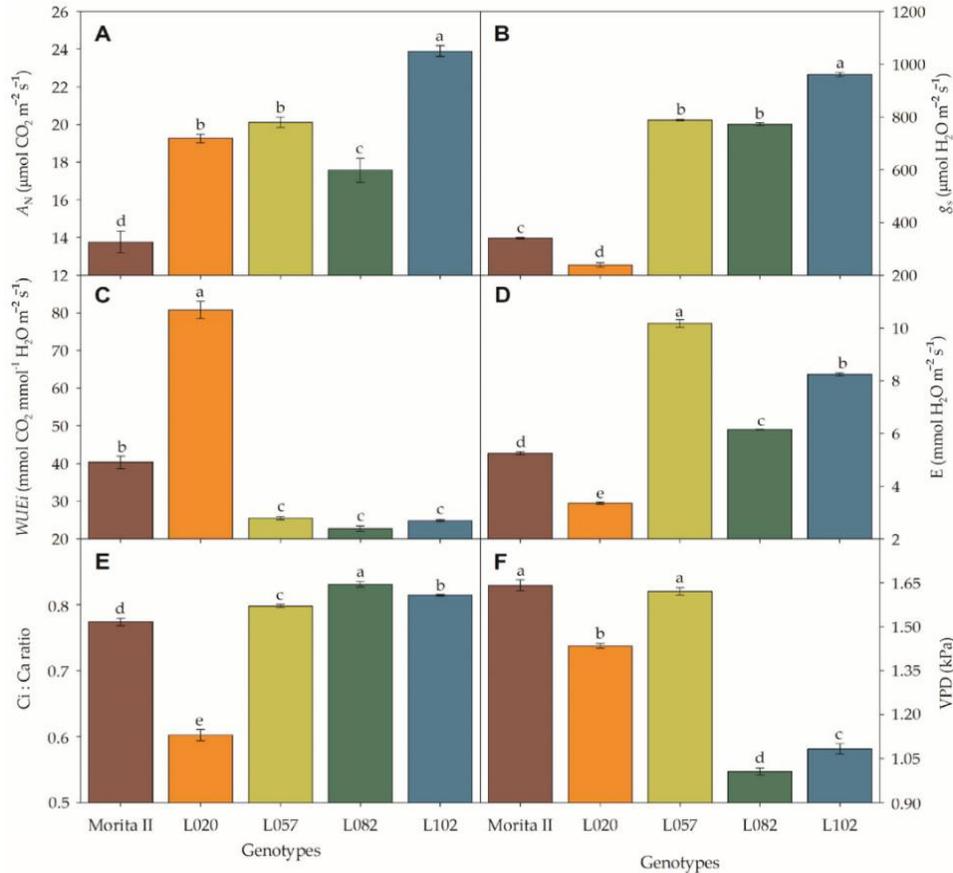


Figura 10. Intercambio gaseoso de cinco genotipos de *Stevia rebaudiana*.

(Morita II, L020, L057, L082 y L102). **A.** Fotosíntesis neta (A_N), **B.** Conductancia estomática (g_s), **C.** Eficiencia intrínseca del uso del agua (WUE_i), **D-E.** Transpiración, **E.** Relación Ci:Ca y **F.** Déficit de presión de vapor (VPD). Las medias seguidas de letras diferentes denotan significación estadística ($p < 0,001$). Medias (\pm DE) ($n = 5$).

Con respecto a la eficiencia intrínseca del uso del agua (WUE_i), el genotipo L020 muestra una dos veces mayor ($80,8 \text{ mmol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) que las medidas en el testigo Morita II ($40,3 \text{ mmol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Para el caso de L057, L102 y L082 mostraron una WUE_i de 36,7 % ($25,5 \text{ mmol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), 38,4 % ($24,9 \text{ mmol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), y 43,6% ($22,7 \text{ mmol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) menor que el genotipo Morita II, por lo que este patrón convierte al L020 en el mejor genotipo en términos de eficiencia intrínseca del uso del agua (Medrano et al., 2007).

La transpiración (E), el clon L082 tuvo un valor de E de 1,2 mientras que el L102 E de 1,6 y L057 mostró un valor de E de 1,9 mayor que los del genotipo Morita II. Por otra parte, el genotipo L020 mostró una E 36% menor que la medida en el genotipo Morita II. Esta caída en E, al disminuir la transpiración y llevar pérdida de calor latente por evaporación, podría conducir a un aumento en la temperatura de la hoja. Para el déficit de presión de vapor (VPD), los genotipos L057, L120 y L082 tuvieron un VPD respectivo de 1.2% ($p= 0.394$), 34% y 39% mayor que el genotipo Morita II, mientras que el genotipo L020 mostró un VPD 12.6% menor. Con relación a esto, cabe señalar que el aumento de VPD conduce, en consecuencia, a una disminución tanto de A_N como de g_s .

En cuanto a la fuerte interacción negativa entre A_N y g_s (-0.970 ; $p = 1.40 \cdot 10^{-15}$), hay que entender que en condiciones normales, la mayor pérdida de electrones es la fotosíntesis que consume CO_2 (Figura 11).

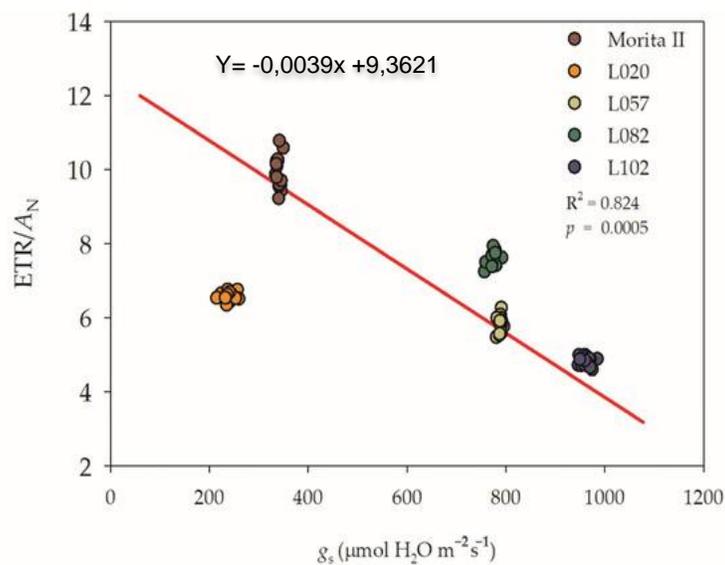


Figura 11. Regresión entre la relación de la tasa de transporte de electrones (ETR) y la fotosíntesis neta (A_N) vs la conductancia estomática (g_s).

El genotipo L102 tiene un mayor uso de ETR para P_{norte} ; sin embargo, este patrón es un proceso que consume agua, porque el mayor uso de electrones para la fotosíntesis se realiza con un máximo de g_s . Contradiendo este patrón,

observamos que el genotipo Morita II tiene la menor eficiencia en el uso de electrones para P_N (Figura 11); sin embargo, este patrón muestra un proceso que consume menos agua. El genotipo L020, por su parte, mostró una mediana eficiencia de uso de electrones a expensas del proceso consumidor de agua que el genotipo Morita II. Tanto L057 como L082 tienen una eficiencia mediana de electrones para P_N , similar al genotipo L020, pero con un proceso de consumo de agua análogo al del genotipo L102.

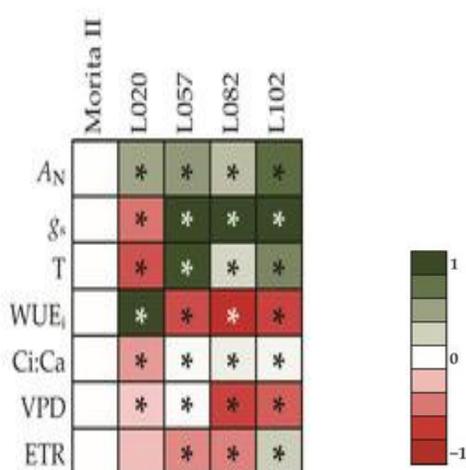


Figura 12. Mapa de calor de variables fisiológicas en los cinco genotipos de *Stevia rebaudiana*. Los valores representan medias \pm SE (SNK; $p \leq 0,05$) de cinco réplicas biológicas. Un asterisco (*) indica que los valores de otras muestras son significativamente diferentes de los controles.

El mapa de calor (Figura 12), es una técnica ampliamente utilizada para comparar perfiles contra un patrón. Como este estudio tuvo como objetivo caracterizar los clones y compararlos con la variedad Morita II, la técnica del mapa de calor proporciona los resultados más interesantes. El análisis directo del mapa de calor muestra que el genotipo L020 tiene un A_N más alto, un WUE_i fuerte (Figura 12). Estas características se traducen en un rendimiento muy impresionante en masa seca, lo que lleva a un aumento putativo en la producción total de esteviósidos por planta. Por otro lado, el genotipo L120 presenta mayor A_N en relación a los genotipos Morita II y L020; sin embargo, esto se logra mediante aumentos tanto en g_s y T, que hacen que el genotipo sea muy ineficiente en el uso del agua (WUE_i).

En este sentido, la acumulación de 2,5 veces H_2O_2 podría interpretarse como una estrategia de señalización celular más que como consecuencia de un proceso de estrés. Los genotipos L057 y L082, a su vez, mostraron un A_N intermedio entre los genotipos L020 y L120, a expensas de un fuerte aumento en g_s y T y, en consecuencia, una disminución significativa en WUE_i .

5. CONCLUSIONES

Los 87 clones del banco de germoplasma de estevia de la Universidad de Córdoba exhibieron una amplia variabilidad en forma de la hoja y etapa inicial de floración.

Se identificaron variables discriminantes en cuanto a: altura de la planta, etapa inicial de floración en ciernes, tamaño de la flor, tipo de planta, presencia de antocianina en el tallo, número de nudos, resistencia a la enfermedad *Sclerotium rolfsii* e incisión del margen de la hoja, rasgos favorables para mejoramiento en selección clonal.

Los caracteres cuantitativos que contribuyeron con la divergencia genética entre los genotipos fueron capacidad de propagación vegetativa, número de nudos y el grosor del tallo para lograr una alta ganancia genética en la especie.

El clon L102 y L020 presentaron características agronómicas deseables que responden a las necesidades de la región, siendo el genotipo L020 con características de élite como alta eficiencia en el uso del agua, no floración y excelente producción de biomasa, el cual puede ser utilizado para la liberación de nuevos cultivares de estevia que satisfagan las demandas de productores y consumidores, previa a la realización de Pruebas de Evaluación Agronómicas.

6. RECOMENDACIONES

Realizar estudios de adaptabilidad y estabilidad fenotípica a largo plazo de los clones L020 y L102, para estudiar su zonificación por productividad y rendimiento, que puedan ser utilizados directamente por los productores regionales.

Profundizar sobre análisis filogenético molecular de estos genotipos que nos permitan conocer con mayor exactitud la similitud y la distancia genética entre los grupos y así obtener un perfil genético que permita determinar el nivel de variabilidad entre la población estudiada.

Determinar los perfiles de esteviósidos individuales y totales, toda vez que los programas de mejoramiento buscan genotipos elites con concentraciones altas de esteviósidos en particular RebA.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Ahmad, J., Khan, I., Blundell, R., Azzopardi, J., & Mahomoodally, M. F. (2020). *Stevia rebaudiana* Bertoni.: An updated review of its health benefits, industrial applications and safety. *Trends in Food Science & Technology*.
2. Agronet. 2022. Reporte: Área, Producción y Rendimiento Nacional por Cultivo. <https://www.agronet.gov.co/estadistica/paginas/home.aspx?cod=1>. (con acceso 05-19-2022).
3. Agrosavia (2006). Tecnología para el cultivo de la estevia. Corporación colombiana de investigación agropecuaria – AGROSAVIA. Recuperado de <https://repository.agrosavia.co/handle/20.500.12324/12839>
4. Aguirre-Medina, J. F., Mina-Briones, F. O., Cadena-Iñiguez, J., & Soto-Hernández, R. M. (2018). Efectividad de biofertilizantes y brasinoesteroide en *Stevia rebaudiana* Bert. *Agrociencia*, 52(4), 609-621.
5. Aguirre, N. C., López, W., Orozco-Cárdenas, M., Coronado, Y. M., & Vallejo-Cabrera, F. (2017). Use of microsatellites for evaluation of genetic diversity in cherry tomato. *Bragantia*, 76, 220-228
6. Ali, A., Gull, I., Naz, S., & Afghan, S. (2010). Biochemical investigation during different stages of in vitro propagation of *Stevia rebaudiana*. *Pak. J. Bot*, 42(4), 2827-2837.
7. Allier, A., Moreau, L., Charcosset, A., Teyssède, S. y Lehermeier, C. (2019). Criterio de utilidad y aportes parentales postselección en cruces multiparentales: aplicación a la introgresión de rasgos poligénicos. *G3: Genes, Genomas, Genética* , 9 (5), 1469-1479.
8. Anami, E. T., Poletine, J. P., Goncalves-Vidigal, M. C., Vidigal, F., Lacanallo, G. F., Kvitschal, M. V., & Gonela, A. (2010). Characterization and genetic divergence in *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni clones based in agronomical and morphological characteristics. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 8(3/4 part 1), 463-469.
9. Angelini, LG, Martini, A., Passera, B. y Tavarini, S. (2018). Cultivo de *Stevia rebaudiana* Bertoni y desafíos asociados. *Edulcorantes*, 35-85.
10. Anker, C. C. B., Rafiq, S., & Jeppesen, P. B. (2019). Effect of steviol glycosides on human health with emphasis on type 2 diabetic biomarkers: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrients*, 11(9), 1965.
11. Anton, S. D., Martin, C. K., Han, H., Coulon, S., Cefalu, W. T., Geiselman, P., & Williamson, D. A. (2010). Effects of stevia, aspartame, and sucrose on food intake, satiety, and postprandial glucose and insulin levels. *Appetite*, 55(1), 37-43.
12. Arpita, D., Saikat, G., & Nirmal, M. (2011). Micropropagation of an elite medicinal plant: *Stevia rebaudiana* Bert. *International Journal of Agricultural Research*, 6(1), 40-48.

13. Arradaza, C., Cedo, M. L. O., & Gonzaga, R. A. (2019). Gibberellin application influences on ex vitro growth, flowering and steviol glycoside accumulation of *stevia rebaudiana* bertoni. *International Journal of Agriculture Forestry and Life Sciences*, 3(1), 75-83.
14. Azul, I. E. E. A. C. (2017). Costo de producción del cultivo de yerba dulce (*Stevia rebaudiana* Bert.) para la provincia de misiones. Estación Experimental Agropecuaria INTA EEA Cerro Azul, CR Misiones, Argentina.
15. Barbet-Massin, C., Giuliano, S., Alletto, L., Daydé, J., & Berger, M. (2015). Nitrogen limitation alters biomass production but enhances steviol glycoside concentration in *Stevia rebaudiana* Bertoni. *PLoS One*, 10 (7), e0133067.
16. Bäurle, I., & Dean, C. (2006). The timing of developmental transitions in plants. *Cell*, 125(4), 655-664.
17. Bernal, J., Mendiola, J. A., Ibáñez, E., & Cifuentes, A. (2011). Advanced analysis of nutraceuticals. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 55(4), 758-774.
18. Biodiversity International. (2023). Guidelines for the development of crop descriptor lists. *Biodiversity Technical Bulletin Series*, 12, 2-2.
19. Buana, L. (1989). Determination of the required growth variables in a *stevia* agronomic experiment. *Menara Perkebunan (Indonesia)* de <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=ID9200109>
20. Buana, L., & Goenadi, D. H. (1985). A study on the correlation between growth and yield in *Stevia*. *Menara perkebunan*, 53(3), 68-71.
21. Cano Martín, F. J. (2015). Conductancia del mesófilo en especies forestales: implicaciones en la respuesta fotosintética a la disponibilidad de agua y luz. [Tesis doctoral]. Universidad Politécnica de Madrid, España.
22. Carrasco, O., Gonzalo, I. (2020). Cluster no jerárquicos versus CART y BIPLLOT. [Tesis doctoral]. Universidad de Salamanca, España.
23. Ceunen, S., & Geuns, J. M. (2013). Steviol glycosides: chemical diversity, metabolism, and function. *Journal of natural products*, 76(6), 1201-1228.
24. Ceunen, S., & Geuns, J. M. (2013). Spatio-temporal variation of the diterpene steviol in *Stevia rebaudiana* grown under different photoperiods. *Phytochemistry*, 89, 32-38.
25. Ceunen, S., & Geuns, J. M. (2013). Influence of photoperiodism on the spatio-temporal accumulation of steviol glycosides in *Stevia rebaudiana* (Bertoni). *Plant Science*, 198, 72-82.
26. Chaturvedula VSP, Prakash I (2011) Structures of the novel diterpene glycosides from *Stevia rebaudiana*. *Carbohydr Res* 346(8):1057– 1060. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2011.03.025>
27. Conti, L. (2017) Hormonal control of the floral transition: Can one catch them all? *Dev. Biol.* 430, 288–301. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2017.03.024>.
28. Correa, E. M., León, R. I., Lobato, M. A., García, M. A., Muñoz, C. G., y Tatis, H. A. (2019). Caracterización morfoagronómica de la colección de

- germoplasma de ají dulce (*Capsicum* spp.) del caribe colombiano. *Temas Agrarios*, 24(2), 81-95. <https://doi.org/10.21897/rta.v24i2.199>
29. Cruz, C. D., Regazzi, A. J., & Carneiro, P. C. (2012). Métodos biométricos aplicados ao melhoramento genético. *Viçosa: UFV, Imprensa Universitária*. 514p.
 30. Cruz, C. D. (2013). GENES: software para análise de dados em estatística experimental e em genética quantitativa. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 35(3), 271-276.
 31. Corte-Real N, Miranda PVVC, Endres L, Souza ER, Pompelli MF, 2019. Tolerance to salinity in *Jatropha curcas* are genotype-dependent. *Braz J Develop* 5, 22169-99.
 32. de Bang, TC, Husted, S., Laursen, KH, Persson, DP y Schjoerring, JK (2021). Las funciones fisiológico-moleculares de los macronutrientes minerales y sus consecuencias para los síntomas de deficiencia en las plantas. *New Phytologist*, 229 (5), 2446-2469.
 33. de Castro, FC, Faleiro, FG, da Silva Oliveira, J., Amabile, RF, & Melo, JVP (2022). Selección de genotipos élite de *stevia* con el objetivo de desarrollar cultivares adaptados a la sabana brasileña. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 16 (3), e14727-e14727.
 34. Davis, S. J. (2009). Integrating hormones into the floral-transition pathway of *Arabidopsis thaliana*. *Plant, cell & environment*, 32(9), 1201-1210.
 35. de Lima Filho, O. F., Valois, A. C. C., & Lucas, Z. M. (2004). *Estévia*. Dourados-Brasil, Embrapa Agropecuária Oeste.
 36. De Luna-Jiménez, A., Luna-Ruíz, J. J., Fuántos-Mendoza, J., & de Lara, J. M. (2019). Propagación clonal de guayabo en distintos medios de enraizamiento. *Revista Biológico Agropecuaria Tuxpan*, 7(2), 174-181.
 37. Espitia, M., Montoya, R., Jarma, A. 2008. *Stevia* en el Caribe Colombiano. Gráficas del Caribe Ltda. Montería - Córdoba. 84p
 38. FAO. (2022). Banco mundial Recuperado de: <https://www.fao.org/statistics/data-collection/en/>
 39. Flores González, A. (2019). Morfología y contenido de glucósidos de *Stevia rebaudiana* Bertoni y su relación con las condiciones edafo-climáticas y de manejo del cultivo. [Tesis de maestría]. Colegio de Postgraduados, México.
 40. Franco, T. L. e Hidalgo, R. (2003). Análisis Estadístico de Datos de Caracterización Morfológica de Recursos Fitogenéticos. Boletín técnico no. 8, Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI), Cali, Colombia. 89 p.
 41. Francisco, F., Pereira, G. P., Machado, M. P., Kanis, L. A., & Deschamps, C. (2018). Characterization of *Stevia rebaudiana* Bertoni accessions cultivated in southern Brazil. *J Agric Sci*, 10(353), 1435-011.
 42. Geuns, J. M. (2003). Stevioside. *Phytochemistry*, 64(5), 913-921.

43. Geuns, J. M., Buyse, J., Vankeirsbilck, A., & Temme, E. H. (2007). Metabolism of stevioside by healthy subjects. *Experimental biology and medicine*, 232(1), 164-173.
44. Giri, A., Rao, H. R., & Ramesh, V. (2014). Effect of partial replacement of sugar with stevia on the quality of kulfi. *Journal of food science and technology*, 51(8), 1612-1616.
45. Gomes, E. N., Moterle, D., Biasi, L. A., Koehler, H. S., Kanis, L. A., & Deschamps, C. (2018). Plant densities and harvesting times on productive and physiological aspects of *Stevia rebaudiana* Bertoni grown in southern Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 90, 3249-3264.
46. González, M., Daquinta, M., Pina, D., Portal, N., Mosqueda, O., Andújar, I., ... & Escalona, M. (2019). Efecto de la poda en la producción de biomasa y contenido de estevioglicósidos de *Stevia rebaudiana* Bertoni var. Morita II. *Biotecnología Vegetal*, 19(3), 155-164.
47. Guerrero, D., Bär, A., Kryvenki, M. y Domínguez, M. (2015). Evaluación morfológica y fenológica de 10 clones de yerba dulce (*Stevia rebaudiana*) según el tiempo térmico. *Rev. investig. agropecu*, 41(3), 317-324. Recuperado:http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1669-23142015000300012
48. Gutiérrez Casas, M. A. (2019). Efecto de las características agronómicas y el secado en el contenido de Esteviósido de la Estevia (*Stevia rebaudiana* Bert.) en la provincia de Caranavi. *Journal de ciencia y tecnologia agraria*, 9, 19.
49. Guerrero, A. R. R. (2018). Respuestas fisiológicas y metabólicas de *Stevia rebaudiana* Bertoni en condiciones de déficit hídrico. [Tesis de maestría]. Instituto Tecnológico de Conkal, México.
50. Hair, J. F., Anderson, R. E., Tatham, R. I. y Black, W. (2004). Análisis Multivariante, Madrid- España: Editorial Pearson Prentice Hall.
51. Hajihashemi, S., Noedoost, F., Geuns, J., Djalovic, I., & Siddique, K. H. (2018). Effect of cold stress on photosynthetic traits, carbohydrates, morphology, and anatomy in nine cultivars of *Stevia rebaudiana*. *Frontiers in plant science*, 9, 1430.
52. Hernández, K. V., Moreno-Romero, J., de la Torre, M. H., Manríquez, C. P., Leal, D. R., & Martínez-García, J. F. (2022). Effect of light intensity on steviol glycosides production in leaves of *Stevia rebaudiana* plants. *Phytochemistry*, 194, 113027.
53. Hernández-García, J., Briones-Moreno, A., Dumas, R., & Blázquez, M. A. (2019). Origin of gibberellin-dependent transcriptional regulation by molecular exploitation of a transactivation domain in DELLA proteins. *Molecular Biology and Evolution*, 36(5), 908-918.
54. Hernández-Villareal, A. E. (2013). Caracterización morfológica de recursos fitogenéticos. *Revista Bio Ciencias*, 2(3).

55. Hastoy, C., Cosson, P., Cavaignac, S., Boutie, P., Waffo-Teguo, P., Rolin, D. y Schurdi-Levraud, V. (2019). Descifrando el rendimiento de quince genotipos de *Stevia rebaudiana* en el suroeste de Francia a través de la evaluación de biomasa seca y glucósidos de esteviol. *Cultivos y productos industriales*, 128, 607-619.
56. Howlader, M. M. S., Ahmed, S. R., Kubra, K., & Bhuiyan, M. K. H. (2016). Biochemical and phytochemical evaluation of *Stevia rebaudiana*. *Asian Journal of Medical and Biological Research*, 2(1), 121-130.
57. Infantes Llorca, P. (2020). Interacción genética entre el activador de la floración FLK y el regulador de la actividad RNA Polimerasa II CPL1, durante la transición reproductiva en *Arabidopsis*. [Tesis de pregrado]. Universidad Miguel Hernández, España.
58. Jain, P., Kachhwaha, S., & Kothari, S. L. (2009). Improved micropropagation protocol and enhancement in biomass and chlorophyll content in *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni by using high copper levels in the culture medium. *Scientia Horticulturae*, 119(3), 315-319.
59. Jarma-Orozco, A. (2008). Estudios de adaptación y manejo integrado de estevia (*Stevia rebaudiana* Bert.): nueva alternativa agroindustrial del Caribe colombiano. Una revisión. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 2(1), 109-121.
60. Jarma Orozco, A., Cardona Ayala, C., & Fernández Herrera, C. (2012). Temperature and radiation effect on steviol glycosides production in *Stevia rebaudiana* in the Colombian humid Caribbean region. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 15(2), 339-347.
61. Jarma-Orozco, A., Combatt-Caballero, E., & Jaraba-Navas, J. (2020). Growth and development of *Stevia rebaudiana* Bert., in high and low levels of radiation. *Current Plant Biology*, 22, 100144.
62. Jarma Orozco, A., Araméndiz Tatis, H., & Leguízamo, A. C. (2011). Estabilidad fenotípica y densidades de planta de genotipos de estevia (*Stevia rebaudiana* Bert.) en la región Caribe de Colombia. *Acta Agronómica*, 60(2), 165-175.
63. Jarma, A., Rengifo, T., & Araméndiz-Tatis, H. (2006). Physiology of stevia (*Stevia rebaudiana*) regarding radiation near the Colombian Caribbean coast.: II. Growth analysis. *Agronomía Colombiana*, 24(1), 38-47.
64. Jarma, A., Rengifo, T., & Araméndiz-Tatis, H. (2005). Aspectos fisiológicos de estevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) en el Caribe colombiano: I. Efecto de la radiación incidente sobre el área foliar y la distribución de biomasa. *Agronomía Colombiana*, 23(2), 207-216.
65. Jiménez, P., & Collada, C. (2000). Técnicas para la evaluación de la diversidad genética y su uso en los programas de conservación: Investigación Agraria: Sistemas y Recursos Forestales. *Fuera de Serie*, 2.
66. Karimi, M., Ahmadi, A., Hashemi, J., Abbasi, A., & Angelini, L. G. (2014). Effect of two plant growth retardants on steviol glycosides content and

- antioxidant capacity in Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni). *Acta Physiologiae Plantarum*, 36(5), 1211-1219.
67. Koehler, AM y Shew, HD (2018). Eficacia de campo y sensibilidad inicial de *Septoria steviae* a los fungicidas utilizados para controlar la mancha foliar de *Septoria* de la stevia. *Protección de Cultivos*, 109, 95-101.
 68. Kovačević, DB, Maras, M., Barba, FJ, Granato, D., Roohinejad, S., Mallikarjunan, K., ... y Putnik, P. (2018). Tecnologías innovadoras para la recuperación de fitoquímicos a partir de hojas de *Stevia rebaudiana* Bertoni: una revisión. *Química de los alimentos*, 268, 513-521.
 69. Kumar, G., Arya, P., Gupta, K., Randhawa, V., Acharya, V., & Singh, A. K. (2016). Comparative phylogenetic analysis and transcriptional profiling of MADS-box gene family identified DAM and FLC-like genes in apple (*Malus x domestica*). *Scientific reports*, 6(1), 20695.
 70. Lagos, T. C., Criollo, H., & Checa, O. (2003). Divergencia genética y heterosis. *Revista de Ciencias Agrícolas*, 20(1 y 2).
 71. Lambers, H., Chapin, F. S., & Pons, T. L. (2008). *Plant physiological ecology* (Vol. 2, pp. 11-99). New York: Springer.
 72. Lemus-Mondaca, R., Vega-Gálvez, A., Zura-Bravo, L., & Ah-Hen, K. (2012). *Stevia rebaudiana* Bertoni, source of a high-potency natural sweetener: A comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. *Food chemistry*, 132(3), 1121-1132.
 73. Lin, G. & L. Chen. (2006). Identification of homogeneous regions for regional frequency analysis using the selforganizing map. *Journal of Hydrology* 324, pp 1–9.
 74. Lin, X., Liu, B., Weller, J. L., Abe, J., & Kong, F. (2020). Molecular mechanisms for the photoperiodic regulation of flowering in soybean. *Journal of Integrative Plant Biology*.
 75. López Razo, B. S. (2016). Análisis de algoritmos para la generación de filogenias. [Tesis de maestría]. Universidad Autónoma del Estado de México.
 76. Maluf, W. R., Ferreira, P. E., & Miranda, J. D. (1983). Genetic divergence in tomatoes and its relationship with heterosis for yield in F1 hybrids. *Revista Brasileira de Genética*, 3(02).
 77. Martins, P. M., Lanchote, A. D., Thorat, B. N., & Freitas, L. A. (2017). Turbo-extraction of glycosides from *Stevia rebaudiana* using a fractional factorial design. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 27(4), 510-518.
 78. Marcinek, K., & Krejpcio, Z. (2015). *Stevia rebaudiana* bertoni-chemical composition and functional properties. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 14(2).
 79. Medrano, H., Bota, J., Cifre, J., Flexas, J., Ribas-Carbó, M., & Gulías, J. (2007). Eficiencia en el uso del agua por las plantas. *Investigaciones geográficas (Esp)*, (43), 63-84.
 80. Mendoza, A. B. (2002). Ecofisiología y bioquímica del estrés en plantas. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Departamento de Horticultura Buenavista, Saltillo, Coah. México. 287 p. ISBN 968- 844 - 042- 6.

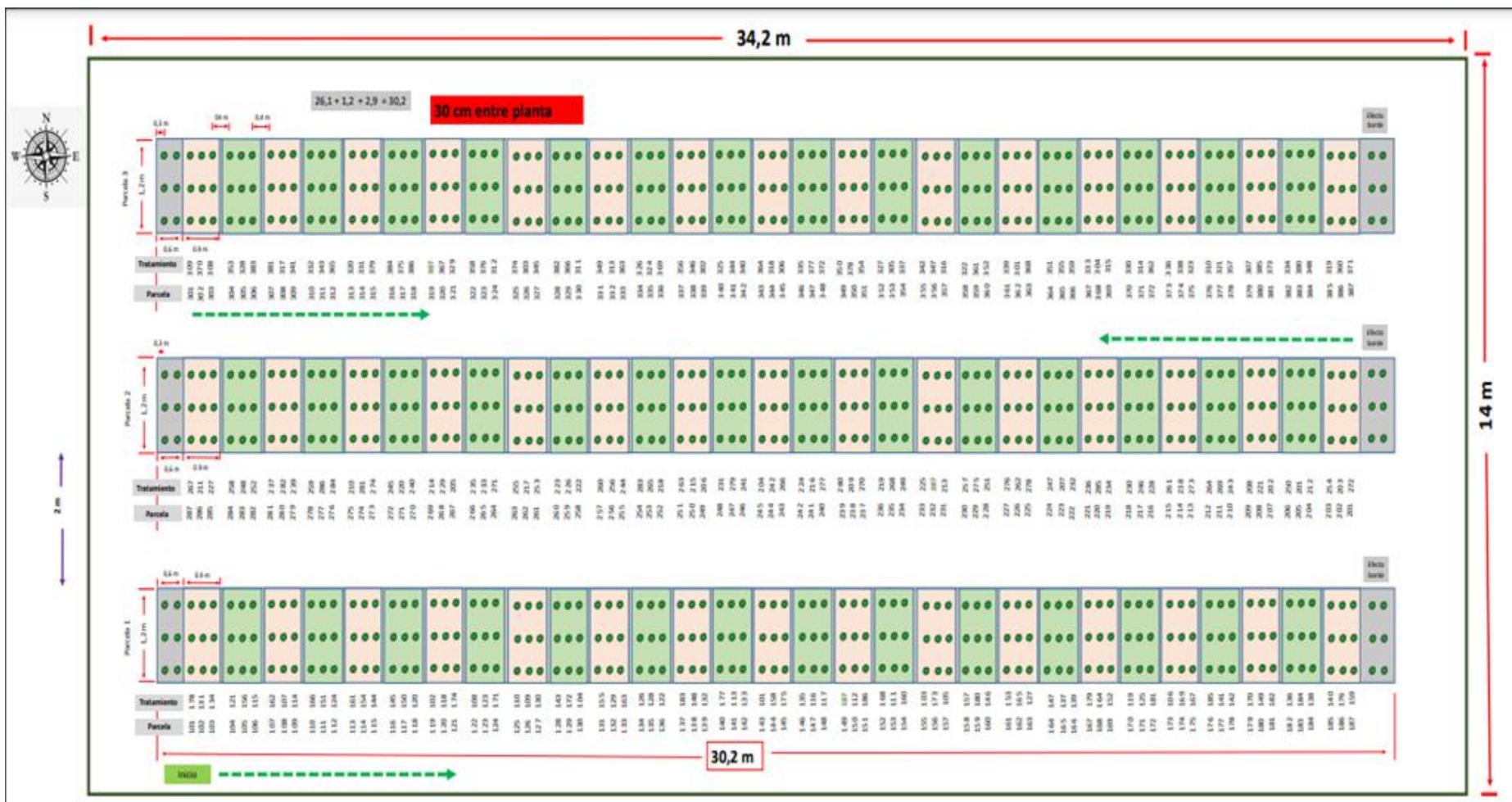
81. Molina, O., Milián, M., y Pons, C. C. (2019). Análisis multivariado con variables mixtas en el germoplasma de ñame (*Dioscorea* spp.). *Rev. Agricultura Tropical* 5 (1), 45-50.
82. Moraes, TS, Dornelas, MC y Martinelli, AP (2019). FT / TFL1: Calibración de la arquitectura de la planta. *Fronteras en ciencia vegetal*, 10, 97
83. Molero, F. (1984). El ka'a he'e, *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni: análisis bibliográfico y anotaciones hortícolas. Ministerio de Agriculture y Ganadería, Dirección de Investigación y Extensión Agropecuaria y Forestal, Proyecto de Intensificación de Cultivos en Fincas Pequeñas (USAID-CREDICOOP), Paraguay. 75 p.
84. Nuñez, E. (2011). *Stevia rebaudiana* Bertoni, un sustituto del azúcar. *Área Ciencia de las Plantas y Recursos Naturales Maestría en Producción Vegetal–Ciclo de Seminarios*, 97.
85. Orozco, A. D. J. J., Cordero, C. C. C., & Leguízamo, J. A. C. (2022). Pigmentos fotosintéticos de *Stevia rebaudiana* Bert en condiciones diferenciales de luz solar y fertilización nitrogenada en invernadero. *RIAA*, 13(1), 7.
86. Othman, H., Osman, M., & Zainuddin, Z. (2018). Genetic variabilities of *Stevia rebaudiana* Bertoni cultivated in Malaysia as revealed by morphological, chemical and molecular characterisations. *AGRIVITA Journal of Agricultural Science*, 40(2),267–283. doi: <http://doi.org/10.17503/agrivita.v40i2.1365>
87. Pal, P. K., Mahajan, M., Prasad, R., Pathania, V., Singh, B., & Ahuja, P. S. (2015). Harvesting regimes to optimize yield and quality in annual and perennial *Stevia rebaudiana* under sub-temperate conditions. *Industrial Crops and Products*, 65, 556-564.
88. Pande, S. S., & Gupta, P. (2013). Plant tissue culture of *Stevia rebaudiana* (Bertoni): A review. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 5(1), 26-33.
89. Peralta, V., & Dianelly, C. (2016). Efecto de la fertilización nitrogenada en el cultivo de stevia (*stevia rebaudiana bertoni*) en la producción de materia seca bajo condiciones de San Martín.
90. Pico-González, A., Aramendiz-Tatis, H., & Pérez-Polo, D. (2020). Caracterización morfoagronómica de 25 clones de estevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni.), en condiciones del valle del Sinú medio. *Temas Agrarios*, 25(2), 106-116. <https://doi.org/10.21897/rta.v25i2.2365>
91. Piñero, D., Caballero-Mellado, J., Cabrera-Toledo, D., Canteros, C. E., Casas, A., & Castañeda-Sortibrán, A. (2008). La diversidad genética como instrumento para la conservación y el aprovechamiento de la biodiversidad: estudios en especies mexicanas. *Capital natural de México*, 1, 437-494.
92. Pompelli, M. F., Espitia-Romero, C. A., de Diós Jaraba-Navas, J., Rodríguez-Paez, L. A., & Jarma-Orozco, A. (2022). *Stevia rebaudiana* under a CO2 Enrichment Atmosphere: Can CO2 Enrichment Overcome Stomatic,

- Mesophilic and Biochemical Barriers That Limit Photosynthesis?. *Sustainability*, 14(21), 14269.
93. Pordel, R., Esfahani, M., Kafi, M., & Nezami, A. (2015). Response of *Stevia rebaudiana* Bertoni root system to waterlogging and terminal drought stress. *J. Biodivers. Environ. Sci.*, 6, 238-247.
 94. Querol D. (1992). Genetic resources, our forgotten treasure: technical and socio-economic approaches. Third World Network.
 95. Quiroga-Cardona, J. (2021). La resistencia incompleta del café a la roya: una revisión. *Revista Cenicafé*, 72(2), e72208-e72208.
 96. Ramesh, P., Mallikarjuna, G., Sameena, S., Kumar, A., Gurulakshmi, K., Reddy, B. V., ... & Sekhar, A. C. (2020). Advancements in molecular marker technologies and their applications in diversity studies. *Journal of Biosciences*, 45(1), 1-15
 97. Ramírez-Jaramillo, G., Lozano-Contreras, M. G., & Moguel-Ordóñez, Y. B. (2020). Ch'ujuk: variedad clonal de 'estevia' como alternativa al cultivo masivo de Morita II para el Trópico de México. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 11(8), 2005-2010.
 98. Rao, A. R. & Srinivas, V. (2006). Regionalization of Watersheds by hybrid-cluster analysis. *Journal of Hydrology*, 318, pp 37–56.
 99. Ramírez Jaramillo, G. (2011). Programa Estratégico para el Desarrollo Rural sustentable de la Región Sur Sureste de México: Trópico Húmedo 2011. *Paquete Tecnológico Estevia*, 0-15.
 100. Rivera-Avilez, J. A., Jarma-Orozco, A., & Pompelli, M. F. (2021). *Stevia rebaudiana* Bertoni: The Interaction of Night Interruption on Gas Exchange, Flowering Delay, and Steviol Glycosides Synthesis. *Horticulturae*, 7(12), 543.
 101. Rodríguez-Paez, LA., Pineda-Rodríguez, YY., Jaraba-Navas, JDD., Jarma-Orozco, ADJ., Combatt-Caballero, E., Jimenez-Ramirez, AM., Oloriz-Ortega, MI and Veitia-Rodríguez, N. (2022). *Athelia rolfsii* aislado gen de ARN ribosomal UCLV-IBP 5.8S, secuencia parcial; espaciador interno transcrito 2, secuencia completa; y gen de ARN ribosomal de subunidad grande, secuencia parcial. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/OM345235>
 102. Rodríguez-Paez, L.A., Pineda-Rodríguez, Y.Y., Jarma-Orozco, A.D.J., Jimenez-Ramirez, A.M., Jaraba-Navas, J.D.D., Combatt-Caballero, E., Fernandez-Herrera, C., Oloriz-Ortega, M.I and Veitia-Rodríguez, N. (2022). *Phenacoccus solani* isolate UC 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, partial sequence. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/OM368062>
 103. Rojas Estrella, T. P. (2021). Búsqueda de resistencia al Tizón tardío (*Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary) en especies silvestres de Papa del Germoplasma del CIP. [Tesis de Pregrado]. Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima- Perú.

- 104.** Rojas, E., Bermúdez, V., Motlaghzadeh, Y., Mathew, J., Fidilio, E., Faria, J., ... & Kuzmar, I. (2018). *Stevia rebaudiana* Bertoni and its effects in human disease: emphasizing its role in inflammation, atherosclerosis and metabolic syndrome. *Current nutrition reports*, 7(3), 161-170.
- 105.** Samsulrizal, N. H., Zainuddin, Z., Noh, A. L., & Sundram, T. C. (2019). A Review of Approaches in Steviol Glycosides Synthesis. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 2(3), 145-157.
- 106.** Samuel, P., Ayoob, KT, Magnuson, BA, Wölwer-Rieck, U., Jeppesen, PB, Rogers, PJ, ... y Mathews, R. (2018). Hoja de stevia a edulcorante de stevia: exploración de su ciencia, beneficios y potencial futuro. *The Journal of Nutrition* , 148 (7), 1186S-1205S.
- 107.** Serfaty, M., Ibdah, M., Fischer, R., Chaimovitsh, D., Saranga, Y., & Dudai, N. (2013). Dynamics of yield components and stevioside production in *Stevia rebaudiana* grown under different planting times, plant stands and harvest regime. *Industrial crops and products*, 50, 731-736.
- 108.** Sharma, S., Walia, S., Singh, B., & Kumar, R. (2016). Comprehensive review on agro technologies of low-calorie natural sweetener stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni): a boon to diabetic patients. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(6), 1867-1879.
- 109.** Singh, G., Pal, P., Masand, M., Seth, R., Kumar, A., Singh, S., & Sharma, R. K. (2020). Comparative transcriptome analysis revealed gamma-irradiation mediated disruption of floral integrator gene (s) leading to prolonged vegetative phase in *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Plant Physiology and Biochemistry*, 148, 90-102.
- 110.** Šic Žlabur, J., Voća, S., Dobričević, N., Ježek, D., Bosiljkov, T., & Brnčić, M. (2013). *Stevia rebaudiana* Bertoni-A review of nutritional and biochemical properties of natural sweetener. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 78(1), 25-30.
- 111.** Schludecker, M. (2022). Tiempo Montería. meteoblue. https://www.meteoblue.com/es/tiempo/semana/monter%c3%ada_colombia_3674453
- 112.** Spitz, F., & Furlong, E. E. (2012). Transcription factors: from enhancer binding to developmental control. *Nature reviews genetics*, 13(9), 613-626.
- 113.** Tavarini, S., Passera, B., & Angelini, L. G. (2018). Crop and steviol glycoside improvement in stevia by breeding. Edited by Ursula Wölwer-Rieck. DOI: <https://doi.org/10.1039/9781788010559>
- 114.** Taleie, N., Hamidoghli, Y., Rabiei, B., & Hamidoghli, S. (2012). Effects of plant density and transplanting date on herbage, stevioside, phenol and flavonoid yield of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Intl J Agri Crop Sci*, 4(6), 298-302.
- 115.** Torres, M. C. D., Jurado, J. A., & Torres, V. M. (2015). Efecto de aplicación de diferentes láminas de riego en estevia (*Stevia rebaudiana* Bert.) bajo invernadero. *Temas agrarios*, 20(1), 81-9

116. Truong, T. T., & Valicek, P. (1999). Verification of growth and stevioside content of Stevia plants propagated by vegetative and generative method. *Agric. Trop. Subtrop*, 32, 79-84.
117. Tomate, A. L. M. E. (2018). El mejoramiento vegetal en estos días. *Journal of Basic and Applied Genetics*, 29(1), 29-50.
118. Trujillo-Motta, D. M. (2010). Mapeo y análisis preliminar de la cadena de valor de la estevia (*stevia rebaudiana* Bert.) en Colombia. [Tesis de maestría]. Universidad Javeriana, Colombia.
119. Uçar, E., Turgut, K., Özyigit, Y., Özek, T., & Özek, G. (2018). The effect of different nitrogen levels on yield and quality of stevia (*stevia rebaudiana* bert.). *Journal of Plant Nutrition*, 41(9),1130-1137. doi:<https://doi.org/10.1080/01904167.2018.1431673>
120. UPOV. (2022). Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales. Plant variety protection. Recuperado de: https://hinshu2.maff.go.jp/info/sinsakijun/botanical_taxon_e.ht6ml#S
121. Vañó, M. S. (2021). Identificación de dianas e interactores de tfl1, un regulador clave en la floración y la arquitectura de la inflorescencia. [Tesis doctoral]. Universidad de Valencia, España.
122. Velázquez Duarte, J. A., Rodríguez Espínola, H. N., Ferreira Agüero, M. A., Vega Britez, G. D., Lesmo Duarte, N. D., & Alvarenga Serafini, J. D. (2016). Efecto de diferentes dosis de estiércol bovino en el cultivo orgánico de *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni bajo sistema de riego por goteo. *Investigación Agraria*, 18(2), 101-110.
123. Wahl, V., Ponnu, J., Schlereth, A., Arrivault, S., Langenecker, T., Franke, A., Feil, R., Lunn, J. E., Stitt, M., and Schmid, M. (2013) Regulation of flowering by trehalose-6-phosphate signaling in *Arabidopsis thaliana*. *Science*. 339,704–707. <https://doi.org/10.1126/science.1230406>
124. Yadav, A. K., Singh, S., Dhyani, D., & Ahuja, P. S. (2011). A review on the improvement of stevia [*Stevia rebaudiana* (Bertoni)]. *Canadian journal of plant science*, 91(1), 1-27.
125. Yasmin, S., Islam, M. S., Kondoker, M., Nasiruddin, M., & Alam, S. (2006). Molecular characterization of potato germplasm by Random Amplified Polymorphic DNA markers. *Biotechnology*, 5(1), 27-31.
126. Wang, W., Wang, C., Pan, D., Zhang, Y., Luo, B., & Ji, J. (2018). Effects of drought stress on photosynthesis and chlorophyll fluorescence images of soybean (*Glycine max*) seedlings. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, 11(2), 196-201.

ANEXO 2. Mapa de campo y distribución de los clones en el experimento.



ANEXO 3. Medias de caracteres cuantitativos en 87 clones de *Stevia rebaudiana*.

CLON	AP (cm)	NRP (N°)	GT (mm)	NN (N°)
L003	34.23 lmnopqrstu	12.5 def	3.5 opqrstuvx	9.5 vxzAB
L005	35.8 jklmnopqrstu	13.6 cdef	3.8 mnopqrstu	13.7 qrs
L006	32.43 qrstu	12.4 def	2.4 x	14.3 opqr
L008	29.13 tu	11.4 f	3.53 nopqrstuvx	19.2 defghijk
L009	45.76 bcdefghijklmnopqrs	15.6 bcdef	4.56 hijklmnopq	19.4 defghi
L010	45.16 bcdefghijklmnopqrs	18.2 abcdef	3.53 nopqrstuvx	19.9 defgh
L011	35.76 jklmnopqrstu	17.2 bcdef	5.5 efghi	15.6 lmnopqr
L012	46.53 bcdefghijklmnopqr	20.0 abcdef	7.73 abc	19.4 defghij
L013	50.43 bcdefghi	20.9 abcdef	8.2 ab	21.3 def
L014	37.8 hijklmnopqrstu	18.1 abcdef	4.36 ijklmnopqrs	16.0 ijklmnopqr
L015	39.4 efghijklmnopqrstu	18.1 abcdef	4.7 ghijklmnop	18.6 defghijkl
L016	39.66 efghijklmnopqrstu	20.4 abcdef	5.3 efghijk	9.5 vxzAB
L017	35.83 jklmnopqrstu	13.0 def	3.73 nopqrstu	17.9 fghijklmn
L018	39.86 efghijklmnopqrstu	20.4 abcdef	3.53 nopqrstuvx	16.0 ijklmnopqr
L019	42.8 cdefghijklmnopqrst	16.5 bcdef	4.43 hijklmnopqr	20.4 defgh
L020	110.33 a	16.2 bcdef	8.96 a	28.0 a
L021	39.53 efghijklmnopqrstu	18.2 abcdef	4.26 ijklmnopqrst	20.1 defgh
L022	50.3 bcdefghi	14.5 bcdef	5.43 efghij	18.4 efghijklm
L023	56.03 bc	20.9 abcdef	4.36 ijklmnopqrs	13.2 qrstu
L024	37.73 hijklmnopqrstu	17.8 abcdef	4.73 ghijklmno	19.4 defghi
L025	41.86 cdefghijklmnopqrstu	21.9 abcde	7.7 abc	21.5 cde
L026	34.56 lmnopqrstu	18.9 abcdef	4.43 hijklmnopqr	20.9 defgh
L027	47.63 bcdefghijklm	24.7 ab	4.3 ijklmnopqrst	27.4 a
L028	38.76 fghijklmnopqrstu	17.1 bcdef	7.73 abc	21.5 cde
L029	47.2 bcdefghijklmn	21.2 abcdef	4.36 ijklmnopqrs	9.3 zAB
L030	43.83 bcdefghijklmnopqrs	18.6 abcdef	3.6 nopqrstuvx	17.8 fghijklmno
L031	44.33 bcdefghijklmnopqrs	16.4 bcdef	6.16 def	25.6 ab
L032	43.56 bcdefghijklmnopqrst	16.0 bcdef	5.33 efghijk	20.2 defgh
L034	37.53 hijklmnopqrstu	14.5 bcdef	3.5 opqrstuvx	19.0 defghijkl
L035	51.63 bcdefgh	15.3 bcdef	3.43 pqrstuvx	14.7 nopqr
L036	38.46 fghijklmnopqrstu	15.3 bcdef	3.8 mnopqrstu	9.1 B
L037	33.93 lmnopqrstu	17.2 bcdef	5.66 efgh	9.7 uvxzAB
L038	40.63 efghijklmnopqrstu	20.5 abcdef	5.4 efghij	12.6 rstuvzxA
L039	37.9 hijklmnopqrstu	13.9 cdef	3.7 nopqrstuv	14.9 mnopqr
L040	49.93 bcdefghij	19.3 abcdef	5.06 fghijklm	9.2 AB
L041	33.06 nopqrstu	12.4 def	4.8 ghijklmn	10.0 tuvzxA
L044	51.93 bcdefgh	21.0 abcdef	4.33 ijklmnopqrst	17.6 ghijklmno
L045	49.03 bcdefghijk	19.6 abcdef	4.43 hijklmnopqr	9.4 xzAB
L046	47.03 bcdefghijklmno	14.9 bcdef	6.46 cde	21.0 defg
L047	46.03 bcdefghijklmnopqrs	23.5 abc	5.3 efghijk	9.5 vxzAB
L048	42.13 cdefghijklmnopqrstu	20.3 abcdef	4.06 klmnopqrst	13.4 qrst
L049	40.96 efghijklmnopqrstu	17.3 bcdef	3.36 pqrstuvx	9.2 AB

L051	37.93 ghijklmnopqrstu	13.0 def	3.83 lmnopqrstu	9.6 vxzAB
L052	39.6 efghijklmnopqrstu	17.9 abcdef	5.53 efghi	9.1 B
L054	38.96 efghijklmnopqrstu	17.2 bcdef	5.46 efghij	9.3 zAB
L055	40.9 efghijklmnopqrstu	13.2 cdef	3.6 nopqrstuvx	12.9 qrstuvx
L056	57.43 b	18.3 abcdef	8.5 ab	17.9 fghijklmn
L057	36.06 ijklmnopqrstu	15.2 bcdef	2.43 vx	17.7 fghijklmno
L059	46.9 bcdefghijklmnop	17.3 abcdef	4.2 jklmnopqrst	18.8 defghijkl
L060	37.96 ghijklmnopqrstu	14.2 cdef	3.33 qrstuvx	15.7 klmnopqr
L061	40.16 efghijklmnopqrstu	12.8 def	4.06 klmnopqrst	13.0 qrstuv
L062	34.83 klmnopqrstu	12.7 def	3.3 qrstuvx	9.3 zAB
L063	52.76 bcdef	20.6 abcdef	6.3 def	24.8 abc
L064	32.66 opqrstu	14.4 bcdef	4.43 hijklmnopqr	14.3 opqr
L065	28.26 u	13.0 def	2.7 uvx	13.9 pqrs
L066	39.73 efghijklmnopqrstu	14.3 cdef	2.43 vx	20.5 defgh
L067	45.2 bcdefghijklmnopqrs	14.8 bcdef	3.16 rstuvx	9.3 zAB
L068	45.16 bcdefghijklmnopqrs	13.9 cdef	3.56 nopqrstuvx	22.1 bcd
L069	34.6 klmnopqrstu	12.0 ef	3.6 nopqrstuvx	20.7 defgh
L070	53.23 bcde	16.7 bcdef	3.06 tuvx	20.7 defgh
L071	45.9 bcdefghijklmnopqrs	18.7 abcdef	3.73 nopqrstu	13.3 qrst
L072	32.13 rstu	16.6 bcdef	3.56 nopqrstuvx	14.7 nopqr
L073	33.5 mnoopqrstu	12.4 def	3.16 rstuvx	17.4 hijklmnop
L074	41.96 cdefghijklmnopqrstu	15.3 bcdef	4.43 hijklmnopqr	9.3 xzAB
L075	41.03 defghijklmnopqrstu	14.6 bcdef	4.3 ijklmnopqrst	21.1 defg
L076	39.86 efghijklmnopqrstu	13.5 cdef	3.46 opqrstuvx	13.6 qrs
L077	45.8 bcdefghijklmnopqrs	15.3 bcdef	3.6 nopqrstuvx	12.9 qrstuvx
L078	46.33 bcdefghijklmnopqr	15.4 bcdef	5.06 fghijklm	9.4 xzAB
L079	42.36 cdefghijklmnopqrstu	13.9 cdef	5.06 fghijklm	10.0 tuvzxzAB
L081	41.6 cdefghijklmnopqrstu	21.1 abcdef	5.96 efg	20.6 defgh
L082	43.53 bcdefghijklmnopqrst	20.3 abcdef	7.43 bcd	22.2 bcd
L083	43.03 bcdefghijklmnopqrst	16.9 bcdef	4.1 klmnopqrst	9.5 vxzAB
L085	46.63 bcdefghijklmnopq	20.5 abcdef	6.1 ef	21.5 cde
L086	31.63 stu	12.3 def	4.36 ijklmnopqrs	15.9 jklmnopqr
L087	44.33 bcdefghijklmnopqrs	16.0 bcdef	3.26 rstuvx	14.8 nopqr
L088	42.06 cdefghijklmnopqrstu	14.5 bcdef	3.4 qrstuvx	9.9 tuvzxzAB
L089	38.76 fghijklmnopqrstu	19.2 abcdef	7.83 ab	17.4 hijklmno
L092	32.53 pqrstu	11.6 ef	6.26 def	9.2 AB
L094	40.4 efghijklmnopqrstu	15.1 bcdef	3.36 qrstuvx	10.4 stuvzxzAB
L096	48.2 bcdefghijkl	16.8 bcdef	5.1 fghijkl	21.7 cde
L097	37.53 hijklmnopqrstu	14.0 cdef	3.1 stuvx	16.2 ijklmnopq
L098	52.36 bcdefg	20.9 abcdef	5.26 efghijk	9.6 vxzAB
L100	38.23 ghijklmnopqrstu	13.5 cdef	2.66 uvx	12.8 qrstuvxz
L102	119.5 a	16.6 bcdef	8.1 ab	20.3 defgh
L113	55.46 bcd	22.4 abcd	6.33 def	13.0 qrstuv
L114	34.66 klmnopqrstu	14.7 bcdef	3.36 qrstuvx	9.5 vxzAB
Morita II	112.8 a	27.6 a	7.43 bcd	19.2 defghijk

Promedios con letras similares no varían estadísticamente según la prueba de Tukey ($P=0,05$). **AP**: Altura de la planta, **NRP**: Numero de ramas primarias, **GT**: Grosor del tallo, **NN**: Numero de nodos.

CLON	TH (cm)	CPV (%)	TRS (%)
L003	4.43 rstuvxzABCDEF	50.0 d	1.21 EF
L005	5.3 ijklmnopqrstuvwxyz	50.0 d	3.57 vxzABCDEF
L006	5.0 lmnopqrstuvwxyzAB	50.0 d	2.07 ABCDEF
L008	9.6 a	50.0 d	2.93 xzABCDEF
L009	6.63 defghij	50.0 d	5.07 rstuvxzABCDEF
L010	4.66 opqrstuvwxyzABCD	50.0 c	3.35 xzABCDEF
L011	6.2 defghijklmno	75.0 b	4.65 stuvxzABCDEF
L012	6.3 defghijklmn	50.0 d	5.15 rstuvxzABCDEF
L013	4.43 rstuvxzABCDEF	75.0 a	7.36 klmnopqrstuvwxyz
L014	6.06 defghijklmnopq	50.0 d	4.67 stuvxzABCDEF
L015	4.56 pqrstuvwxyzABCDE	50.0 d	1.66 CDEF
L016	4.03 vxzABCDEFGH	75.0 a	1.02 F
L017	6.26 defghijklmn	50.0 d	3.21 xzABCDEF
L018	6.4 defghijklm	50.0 d	3.73 uvxzABCDEF
L019	5.53 hijklmnopqrstuv	50.0 d	6.48 nopqrstuvwxyzA
L020	8.46 abc	75.0 a	28.55 a
L021	3.3 CDEFGH	50.0 d	8.99 hijklmnopqrs
L022	6.4 defghijklm	75.0 a	7.41 klmnopqrstuvwxyz
L023	6.1 defghijklmnop	75.0 a	16.12 bcd
L024	4.83 nopqrstuvwxyzABC	75.0 a	10.48 efghijklmnop
L025	4.26 tuvxzABCDEF	50.0 d	1.90 ABCDEF
L026	7.56 bcd	50.0 d	10.74 efghijklmn
L027	2.9 FGH	75.0 a	1.85 BCDEF
L028	7.23 cdefg	50.0 d	8.31 ijklmnopqrstu
L029	3.83 zABCDEFGH	75.0 a	7.1 lmnopqrstuvwxyz
L030	5.76 ghijklmnopqrstu	50.0 d	2.91 xzABCDEF
L031	5.16 ijklmnopqrstuvwxyz	50.0 d	4.04 tuvxzABCDEF
L032	4.86 mnopqrstuvwxyzAB	50.0 d	6.19 nopqrstuvwxyzABC
L034	4.86 mnopqrstuvwxyzAB	75.0 a	5.163 rstuvxzABCDEF
L035	6.7 defghi	75.0 a	3.63 vxzABCDEF
L036	3.6 ABCDEFGH	50.0 d	1.99 ABCDEF
L037	4.83 nopqrstuvwxyzABC	50.0 d	5.79 rstuvxzABCDE
L038	5.5 hijklmnopqrstuv	50.0 d	1.05 F
L039	5.5 hijklmnopqrstuv	75.0 a	3.18 xzABCDEF
L040	5.43 ijklmnopqrstuvwxyz	50.0 d	1.39 DEF
L041	4.1 vxzABCDEFGFG	50.0 d	0.94 F
L044	5.26 ijklmnopqrstuvwxyz	50.0 d	13.8 cdefg
L045	4.23 uvxzABCDEF	50.0 d	12.07 defghij
L046	4.83 nopqrstuvwxyzABC	50.0 d	14.58 cde
L047	5.7 ghijklmnopqrstu	50.0 d	10.66 efghijklmno
L048	5.8 ghijklmnopqrst	50.0 d	10.423 efghijklmnop
L049	3.9 xzABCDEFGH	75.0 a	5.37 rstuvxzABCDEF
L051	4.0 vxzABCDEFGH	50.0 d	7.14 klmnopqrstuvwxyz
L052	5.03 lmnopqrstuvwxyzA	75.0 a	12.12 defghi
L054	5.7 ghijklmnopqrstu	50.0 d	9.19 ghijklmnopqrs
L055	4.43 rstuvxzABCDEF	50.0 d	6.78 lmnopqrstuvwxyz

L056	5.13 jklmnopqrstuvxzA	50.0 d	9.07 hijklmnopqrs
L057	5.1 klmnopqrstuvxzA	50.0 d	2.00 ABCDEF
L059	3.1 EFGH	75.0 a	6.3 nopqrstuvxzAB
L060	3.6 ABCDEFGH	50.0 d	3.88 tuvxyzABCDEF
L061	4.5 rstuvxzABCDE	50.0 d	4.95 rstuvxzABCDEF
L062	3.46 BCDEFGH	50.0 d	4.73 stuvxzABCDEF
L063	5.96 efghijklmnopqr	50.0 d	3.44 vxzABCDEF
L064	4.6 pqrstuvxzABCDE	50.0 d	1.91 ABCDEF
L065	4.53 qrstuvxzABCDE	75.0 a	2.04 ABCDEF
L066	5.26 ijklmnopqrstuvxz	50.0 d	6.12 opqrstuvxzABC
L067	7.4 bcde	50.0 d	9.09 hijklmnopqrs
L068	5.26 ijklmnopqrstuvxz	75.0 a	11.13 efghijklm
L069	5.2 ijklmnopqrstuvxz	75.0 a	3.93 tuvxyzABCDEF
L070	5.36 ijklmnopqrstuvxz	50.0 d	7.96 ijklmnopqrstuv
L071	5.1 klmnopqrstuvxzA	50.0 d	11.38 efghijkl
L072	4.53 qrstuvxzABCDE	50.0 d	1.89 ABCDEF
L073	7.23 cdefg	75.0 a	3.09 xzABCDEF
L074	3.3 CDEFGH	50.0 d	5.46 rstuvxzABCDEF
L075	5.36 ijklmnopqrstuvxz	50.0 d	10.15 efghijklmnopq
L076	5.83 fghijklmnopqrs	50.0 d	6.75 mnopqrstuvxz
L077	4.03 vxzABCDEFGH	75.0 a	9.23 ghijklmnopqrs
L078	5.16 ijklmnopqrstuvxz	50.0 d	7.51 jklmnopqrstuvx
L079	4.96 lmnopqrstuvxzAB	75.0 a	5.73 qrstuvxzABCDE
L081	6.5 defghijkl	50.0 d	13.09 cdefgh
L082	7.0 cdefgh	75.0 a	14.09 cdef
L083	6.1 defghijklmnop	50.0 d	8.35 ijklmnopqrst
L085	5.36 ijklmnopqrstuvxz	50.0 d	16.07 bcd
L086	3.26 DEFGH	50.0 d	6.17 nopqrstuvxzABC
L087	2.5 H	75.0 a	9.52 fghijklmnopqr
L088	5.76 ghijklmnopqrstu	75.0 a	9.25 ghijklmnopqrs
L089	7.36 cdef	50.0 d	3.00 xzABCDEF
L092	3.6 ABCDEFGH	50.0 d	3.4 vxzABCDEF
L094	4.9 mnopqrstuvxzAB	50.0 d	2.7 zABCDEF
L096	5.26 ijklmnopqrstuvxz	50.0 d	11.72 defghijk
L097	4.26 tuvxyzABCDEF	75.0 a	2.71 zABCDEF
L098	6.66 defghij	50.0 d	8.70 hijklmnopqrs
L100	5.86 efghijklmnopqrs	75.0 a	14.58 cde
L102	9.76 a	75.0 a	17.42 bc
L113	6.26 defghijklmn	50.0 d	7.30 klmnopqrstuvxz
L114	2.6 GH	50.0 d	5.89 pqrstuvxzABCD
Morita II	8.93 ab	75.0 a	20.58 b

Promedios con letras similares no varían estadísticamente según la prueba de Tukey ($P=0,05$). **TH:** Tamaño de la hoja, **CPV:** Capacidad de propagación vegetativa, **TRS:** Tasa de rendimiento seco.

ANEXO 4. Variabilidad de la forma de la hoja.



ANEXO 5. Variabilidad en etapa de floración.



ANEXO 6. Variabilidad en color de la flor.



ANEXO 7. Fotografía del ensayo bajo condiciones de umbráculo.

