

MODELO ESTADISTICO PARA ESTIMACION DEL AREA FOLIAR EN *Stevia rebaudiana* Bertoni EN EL SINU MEDIO

STATISTICAL MODEL FOR ESTIMATION OF LEAF AREA IN *Stevia rebaudiana* Bertoni IN THE MID SINU VALLEY

Miguel M. Espitia¹, Rafael A. Montoya¹, Juana R. Robles², Carolina C. Barbosa¹, Cesar A. Vergara¹.

Recibido para evaluación: Septiembre 29 de 2006 - Aceptado para publicación: Octubre 18 de 2006

RESUMEN

La *Stevia rebaudiana* Bert es de las especies vegetales más importantes como fuente edulcorante natural. Sus hojas, además de ser los órganos fotosintéticos, son el producto comercial de mayor interés económico obtenido de su cultivo. Este estudio tuvo como objetivo ajustar un modelo estadístico para estimar el área foliar (A_f) sin utilizar muestreos destructivos. Se evaluaron los clones Morita1 y Morita2 bajo condiciones de campo. En cada clon se tomaron al azar 20 ramas de 25 centímetros de largo. Cada rama se dividió en tres tercios: inferior, medio y superior. De cada tercio se tomaron cinco muestras (repeticiones) de 20 hojas cada una. A cada hoja se le midió el largo y ancho máximo. Con los datos de largo del tercio inferior (LTI), medio (LTM), superior (LTS), el ancho del tercio inferior (ATI), medio (ATM) y superior (ATS) de las hojas y con la ayuda del método gravimétrico, se realizó un análisis de regresión lineal múltiple para definir el modelo de predicción del A_f . Los resultados demostraron que es posible utilizar el largo y ancho máximo de la hoja para estimar el A_f . Los modelos resultantes para Morita1 y Morita2, fueron:

$$\sqrt{A_f} = 0.288 + 0.093LTI + 0.525ATI + 0.171LTS \quad (R^2 = 0.9604) \quad y$$

$$\sqrt{A_f} = 0.319 + 0.223ATI + 0.332ATM + 0.067LTS + 0.257ATS \quad (R^2 = 0.9213), \text{ respectivamente. Estos}$$

modelos permiten estimar el área foliar de la planta y el cultivo, sin incurrir en la remoción de hojas de las plantas, lo cual conllevaría afectar los rendimientos.

Palabras clave: *Stevia rebaudiana*, área foliar, modelo estadístico.

¹Universidad de Córdoba. Departamento de Ingeniería Agronómica y Desarrollo Rural. Carrera 6 No. 76-103. Telefax: (4)7860255. Email: mespitia@sinu.unicordoba.edu.co.

²Universidad de Córdoba. Departamento de Estadística.

ABSTRACT

The *Stevia rebaudiana* Bert is one of the more important plant sweetener, their leaves beside the photosynthetic organs, are commercially important as source of stevioside and rebaudioside. The present study was aimed to fit a statistical model to measure Stevia leaf area (A_f) using non destructive sampling methods. Plants from Morita1 and Morita2 cultivars were evaluated under field conditions. 20 branches (25 cm length) were randomly selected and each branch was segmented in three thirds: low, medium and high. Five samples consisting of 20 leaves were isolated from each section and maximum wide and length was estimated for each leaf sample. Using a gravimetric method, multiple linear regression analyses were performed to define the prediction model for A_f . The results showed that maximum leaf length and wide are accurate measures to estimate Stevia A_f . The resulting models for Morita1 and Morita2, were

$$\sqrt{A_f} = 0.288 + 0.093LTI + 0.525ATI + 0.171LTS \quad (R^2 = 0.9604) \quad y$$

$$\sqrt{A_f} = 0.319 + 0.223ATI + 0.332ATM + 0.067LTS + 0.257ATS \quad (R^2 = 0.9213),$$

respectively; which allow estimation of plant leaf area and crop leaf area, avoiding physical removal of leaves and subsequent yield losses.

Key words: *Stevia rebaudiana*, leaf area, statistical model.

INTRODUCCION

La estevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) es una planta herbácea perenne que pertenece a la familia Asteraceae. Crece como arbusto salvaje en el suroeste de Brasil y Paraguay. Cobra un alto valor entre los vegetales nativos de estos países y el mundo, debido a que contiene un glucósido bajo en calorías, llamado esteviósido, cuyo poder edulcorante en estado puro y cristalino es 300 veces mayor que el azúcar de caña, reduce los niveles de glucosa en la sangre hasta en un 35% y posee alta demanda internacional por parte de Japón, China, Corea, Taiwán, Israel, Paraguay, Uruguay y Brasil (Álvarez, 2004). El cultivo de *S. rebaudiana* B., representa una excelente alternativa para la recuperación de la actividad agrícola en la Región Caribe de Colombia, en razón a la diversidad de clima y suelos para su cultivo. Igualmente, las labores efectuadas en el cultivo tales como semilleros, transplante, podas, limpiezas, etc., requieren una alta cantidad de mano de obra, lo cual hace que durante el ciclo de

desarrollo del cultivo (más de cinco años), se genere una demanda permanente y estable de empleo (Jarma, 2004). En Colombia, la Universidad de Córdoba ha venido desarrollando durante cinco años, trabajos de investigación con esta especie, en aspectos tecnológicos, relacionados con requerimientos nutricionales (Galván *et al.*, 2003), respuesta a la radiación (Rengifo *et al.*, 2003), crecimiento y desarrollo (Vergara *et al.*, 2003) y multiplicación *in vitro* (Suárez *et al.*, 2006), entre otros. Sin embargo, aún no se han realizado estudios científicos que demuestren formas alternativas para estimar el área foliar mediante métodos no destructivos, los cuales son de gran valor y utilidad, en investigaciones donde además se requiere evaluar el rendimiento en peso fresco, seco y de esteviosido.

En la evaluación del crecimiento y desarrollo de plantas, el área foliar es uno de los parámetros más importantes ya que se encuentra muy relacionado con la eficiencia fotosintética de los cultivos, ha sido objeto

de interés en los estudios de fisiología vegetal, genética y fitomejoramiento, es por esto que se requieren procedimientos sencillos y rápidos para realizar su estimación estableciendo modelos estadísticos que faciliten este tipos de estudios (Arjona, 2003). La determinación del área foliar es necesaria para calificar un buen crecimiento y es usada ampliamente en modelos fotosintéticos. Para ello se hace necesario disponer de métodos prácticos no destructivos para estimarla en el campo. Smith y Kliewer (1984) encontraron que el producto del largo por el ancho de la hoja de vid entrega una buena estimación del área foliar, lo que fue corroborado por Elser y Jubb (1988). Manivel y Weaver (1974) encontraron que las variables, largo máximo (LM), ancho máximo (AM) y largo al punto peciolar (LP) estiman en forma independiente un área foliar satisfactoria en hojas de la vid. Según Kingston y Van Epenhuijsen (1989) un conteo de hojas también sirve para estimar área foliar, siendo necesario 11 hojas para el período de crecimiento de frutos y 13 para el período de madurez en vid.

Un modelo estadístico o matemático es una simplificación del sistema real y consiste en una ecuación o juego de ecuaciones las cuales representan cuantitativamente las hipótesis acerca del sistema real; estos modelos vienen siendo empleados en muchos campos y a través de ellos se han hecho simulaciones y elaborado ecuaciones para facilitar las mediciones en el crecimiento de las plantas cultivadas (Thorneley, 1976; Bidwel, 1984; Elser y Jubb, 1988; Kingston y Van Epenhuijsen, 1989; Montoya *et al.*, 1991; Canes, 2003; Barrera, 2005). La construcción de modelos matemáticos y/o estadísticos para predecir el área foliar de las plantas es de mucha importancia en el campo agrícola por que con ellos se puede prescindir de muestreos destructivos, los cuales implican perdida en el material de investigación y adquisición de materiales costosos de medición. Además se economiza tiempo y trabajo frente a las reconstrucciones geométricas.

Por ser estevia una planta con gran potencial económico para nuestro país (Jarma, 2004), el presente estudio tuvo como objetivo ajustar un modelo estadístico para estimar el área foliar con la toma de medidas directas de las hojas en campo, sin utilizar el muestreo destructivo.

MATERIALES Y METODOS

El trabajo se realizó durante el primer semestre del año 2006, en los lotes experimentales y en el laboratorio de Fisiología Vegetal de la Universidad de Córdoba, la cual se halla ubicada en el municipio de Montería (Córdoba - Colombia). Las condiciones climáticas características son: temperatura media de 28°C; humedad relativa de 80% y precipitación media anual de 1200 mm según la clasificación de Holdridge, la región pertenece a la formación Bosque Seco Tropical (BS-T) y a la zona agroecológica C_j (Barrera, 2005).

El material vegetal para las evaluaciones se obtuvo de un área de 400 m² de cada uno de los clones: Morita1 y Morita2. En cada clon se tomaron al azar 20 ramas de 25 cm de largo, cada rama se dividió en tres tercios: inferior, medio y superior; de cada tercio de todas las ramas se tomaron cinco muestras (repeticiones) de 20 hojas cada una. A cada hoja se le midió el largo máximo (desde el ápice de la hoja hasta la base de la lamina foliar) y ancho máximo (en la parte central de la hoja). Las hojas de cada tercio o estrato, se dibujaron en papel de color blanco y luego, con la ayuda de un bisturí, se procedió a sacar los moldes de las hojas; simultáneamente se recortó un cuadrado de papel de área conocida (10 cm²) y se pesó en una balanza analítica. Con los datos obtenidos (peso del cuadrado de papel y peso de las hojas dibujadas por cada tercio) se procedió a obtener el área real de las hojas muestreadas, para luego mediante una regla de tres simple calcular la constante (K) para Morita1 y Morita2, despejando a K de la siguiente formula:

$$A_f = L \times A \times K$$

$$K = A_f / (L \times A)$$

Donde: A_f : área de la hoja, L: largo máximo de la hoja (cm), A: ancho máximo de la hoja (cm) y K: constante.

Al aplicar la fórmula anterior se pudo calcular y obtener una constante (K) para cada tercio de las ramas para las plantas de Morita1 y Morita2. Se utiliza esta fórmula al igual que en maíz por la similitud de la hoja de estevia a un rectángulo. En el presente estudio se optó por obtener una sola constante para toda la planta, promediando las constantes para cada tercio de rama. Una vez obtenidas las constantes (K) para cada clon (Morita1 y Morita2), con los valores transformados de la raíz cuadrada del área foliar (variable dependiente) y los valores de largo del tercio inferior (LTI), medio (LTM), superior (LTS) y el ancho del tercio inferior (ATI), medio (ATM) y superior (ATS) de las hojas (variables independientes) se realizó un análisis de regresión lineal múltiple. El proceso de selección de las variables predictorias se realizó en el programa estadístico SAS usando el método Stepwise (SAS, 2000). Con los resultados obtenidos se establecieron los modelos para predecir el área foliar en función del largo y ancho máximo de la hoja para cada clon. En la elección del mejor modelo se tuvo en cuenta el comportamiento de parámetros estadísticos como el

coeficiente de determinación R^2 , el valor de F y T.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los valores promedios de las constantes (K) para cada clon fueron de la siguiente magnitud: Morita1 = 0.8273 y Morita2 = 0.5976, indicándose que Morita1 presenta un mayor área foliar. Ello se puede corroborar al comparar los promedios obtenidos por los dos clones Morita1 (1.74 cm²) y Morita2 (1.33 cm²), donde se puede detectar una superioridad alrededor del 31% del primero sobre el segundo (Tabla 1). Resultados similares fueron encontrados por Galván *et al.* (2003), Rengifo *et al.* (2003) y Vergara *et al.* (2003).

La prueba F del análisis de varianza resultó altamente significativa (Tabla 1). Ello indica que el área foliar de Morita1 es dependiente del largo y ancho máximo de las hojas. El proceso de selección de las variables predictorias permitió escoger como variables independientes para el clon Morita1 el largo y ancho del tercio inferior (LTI y ATI), y largo del tercio superior de la hoja (LTS), con $Pr < 0.01$; estas variables explicaron la variación del área foliar en un 96.04% ($R^2 = 0.9604$). Por lo anterior, el modelo seleccionado para Morita1 fue:

$$\sqrt{A_f} = 0.288 + 0.093LTI^{**} + 0.525ATI^{**} + 0.171LTS^{**}$$

(0.079) (0.027) (0.127) (0.019)

Para este modelo se concluye que según la ecuación estimada, con un error estándar del 0.027 cm, por cada cm que se incremente la longitud de la hoja del tercio inferior (LTI), manteniendo el ancho del tercio inferior (ATI) y el largo del tercio superior (LTS) de la hoja constantes, la raíz cuadrada del área foliar aumenta en 0.093 cm. De igual manera, manteniendo constantes el largo del tercio

inferior (LTI) y el largo del tercio superior (LTS) de la hoja, con un error estándar de 0.127 cm, por cada centímetro que se incremente el ancho del tercio inferior (ATI), la raíz cuadrada del área foliar de la hoja aumenta en 0.525 cm con efecto lineal. Lo mismo sucede con la última componente de la ecuación (LTS), con un error estándar de 0.019 cm, manteniendo las dos otras

Tabla 1. Cuadrados medios y nivel de significancia en el análisis de regresión del área foliar evaluada en los tres tercios de la hoja de dos clones (Morita1 y Morita2) de *Stevia rebaudiana* Bertoni en el Sinú Medio, 2006.

Fuente de Variación	Morita 1			Morita 2		
	GL	CM	Probabilidad T	GL	CM	Probabilidad T
Modelo	3	0.15049**		4	0.02615**	
Intercepto		0.0153**		**	0.00994**	**
LTI	1	0.01330**	**		NS	NS
ATI	1	0.01979**	**	1	0.00740**	**
LTM		NS	NS		NS	NS
ATM		NS	NS	1	0.01588**	**
LTS	1	0.08732**	**	1	0.00564**	**
ATS		NS	**	1	0.00516**	**
Error	16	0.00116		15	0.00059	
Media		1.74			1.33	
CV (%)		1.95			1.83	
R ² (%)		96.04			92.13	
Normalidad ¹ (W)		0.941 NS			0.943 NS	
Independencia ² (D)		1.810 NS			1.655 NS	
Homocedasticidad ³ (W)		0.815 NS			2.100 NS	

**Significativos al nivel del 1%; N.S: No significativos.

¹Shapiro–Wilk; ²Durvin–Watson; ³White.

variables constantes, por cada centímetro que se incremente en el largo del tercio superior (LTS) de la hoja, la raíz cuadrada del área foliar aumenta 0.17 cm con efecto lineal.

La prueba *F* del análisis de varianza para Morita2, resultó altamente significativa (Tabla 1), esto indica que el área foliar de Morita2 es dependiente en mayor grado del ancho y del

largo máximo de las hojas. El proceso de selección de las variables predictoras permitió escoger como variables independientes para el clon Morita2 el ancho del tercio inferior, ancho del tercio medio, y largo y ancho del tercio superior de la hoja. Estas variables explicaron la variación del área foliar en un 92.13% (R² = 0.9213), por lo anterior, el modelo seleccionado para Morita2 fue:

$$\sqrt{A_f} = 0.319 + 0.223ATI^{**} + 0.332ATM^{**} + 0.067LTS^{**} + 0.257ATS^{**}$$

(0.078) (0.063) (0.064) (0.028) (0.087)

En este modelo, se concluye que según la ecuación estimada con un error estándar de 0.063 cm, por cada centímetro que se incremente el ancho del tercio inferior de la

hoja (ATI), manteniendo todos los demás parámetros del modelo constantes, la raíz cuadrada del área foliar de la hoja aumenta en 0.223 cm. Similarmente, con un error

estándar de 0.064 cm, por cada centímetro que se incremente el ancho del tercio medio de la hoja (ATM), manteniendo constantes todos los demás parámetros del modelo la raíz cuadrada del área foliar de la hoja aumenta en 0.332 cm, así mismo se concluye para las otras componentes de la ecuación: LTS y ATS.

Los resultados obtenidos para Morita1 y Morita2, indican que Morita1 presentó un 31% más de área foliar que Morita2, lo cual sugiere que Morita1 presenta mayor capacidad para producir fotoasimilados que redundaran en mayor rendimiento de hojas por mayor acumulación de biomasa, y por ende es de esperarse que logre acumular mayores metabolitos (esteviosidos y rebaudiosidos), lo cual le ofrece mayores ventajas competitivas frente a Morita2. De igual manera se puede observar que el área foliar de los dos clones estudiados es dependiente del largo y ancho máximo de las hojas, confirmando los resultados obtenidos en otras especies por Elser y Jubb (1988); Kingston y Van Epenhuijsen (1989); Montoya *et al.* (1991); Canes (2003) y Barrera (2005).

Comparando los modelos de predicción obtenidos para Morita1 y Morita2, se deduce que el área foliar para Morita1 se puede estimar mediante un modelo más sencillo dado que incluye sólo tres variables independientes (LTI, ATI, LTS) y además con

una mejor precisión ($R^2 = 0.9604$), en comparación con el modelo estimado para Morita2. Finalmente los valores obtenidos para el coeficiente de variación (CV) en ambos clones, señalan que la técnica experimental utilizada y los resultados obtenidos en el estudio son confiables en razón a que los mismos fueron menores (<2%) a los obtenidos en otros estudios (De Lima y Malavolta, 2004; Galván *et al.*, 2003; Rengifo *et al.*, 2003 y Vergara *et al.*, 2003).

CONCLUSIONES

- Morita1 presentó un 31% de mayor área foliar que Morita2.
- La estimación del área foliar mediante modelos predictivos resultó ser diferente para los dos clones en estudio.
- El largo y ancho máximo del tercio inferior y el largo del tercio superior de la hoja, permiten estimar el área foliar para el clon Morita1, explicando el 96% de la variabilidad.
- El ancho máximo del tercio inferior, el largo y ancho del tercio medio, y el largo y ancho del tercio superior de la hoja, permiten estimar el área foliar para el clon Morita2, explicando el 94% de la variabilidad.

BIBLIOGRAFIA

- Álvarez, J. E. 2004. *Stevia rebaudiana bertonii*. Universidad EAFIT. Departamento de Negocios Internacionales. Secretaria de Agricultura y Desarrollo Rural de Antioquia, Medellín, 71p.
- Arjona. H. 2003. Estimación del área foliar de cebolla de bulbo (*allium cepa* LL yellow granes) F1 mediante la aplicación de tres modelos estadísticos. Revista COMALFI, 30(1):28-36
- Barrera, C. 2005. Construcción de modelos estadísticos para predecir área foliar en cuatro especies de plantas tropicales: papaya (*Carica papaya*), maracuyá (*pasiflora Edulis* var. Flavicarpa Degener), cacao (*Theobroma cacao*) y berenjena (*Solanum melongena*). Tesis Especialista, Universidad de Córdoba, Montería.

- Bidwell, R. 1984. Fisiología Vegetal, Introducción y generalidades. AGT. Editorial, México DF, 286–315p.
- Canes, L. 2003. Software para determinar el área foliar de la planta vegetal. Centro Universitario Tunas. <http://www.utl.edu.cu./innoed/2003/posters/pst/.pdf>. [Accedido: 07-10-2006]
- De Lima, F. y Malavolta, E. 2004. Estimativa da area foliar em estevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni). <http://www.lni.unipi.it/stevia/stevia/estimativadearea.htm>. [Accedido: 10-12-2006]
- Elser, E. y Jubb, Jr. G. 1988. Leaf area estimation of concord grape leaves from simple linear measurements. American Journal of Enology and Viticulture 39(1):95-97
- Galván, L.; Guzmán, J.; Jarma, A. y Combatt, E. 2003. Determinación de los requerimientos nutricionales de *Stevia rebaudiana* Bertoni, en el Medio Sinú. En: Memorias XXXIII Congreso Anual COMALFI, Montería, abril 24, 25 y 26
- Jarma, A. 2004. *Stevia rebaudiana* Bertoni. Alternativa de sustitución de cultivos ilícitos en el Caribe Colombiano. CIUC, Universidad de Córdoba, Montería, p1-5
- Kingston, C. y Van Epenhuijsen, C. 1989. Influence of leaf area on fruit development and quality of Italia glasshouse table grapes. American Journal Enology and Viticulture. 40:130-134
- Manivel, L. y Weaver, R. 1974. Biometric correlations between leaf area and length measurement of 'Grenache' grape leaves. HortScience 9:27-28
- Montoya, R.; Hernández. M. y Clavijo. J. 1991. Determinación de modelos matemáticos para medición de área fotosintética y peso seco en pitaya. Revista COMALFI, 27(2):31–38
- Rengifo, T.; Jarma A. y Clavijo, J. 2003. Crecimiento de *Stevia rebaudiana* Bertoni, bajo cuatro niveles de radiación incidente. Memorias XXXIII Congreso Anual COMALFI, Montería, abril 24, 25 y 26
- SAS Institute Inc. 2000. SAS/STAT guide for personal computers versión 8 Edition. Cary, NC: SAS INSTITUTE Inc. 378p.
- Smith, R. y Kliewer, W. 1984. Estimation of Thompson Seedless grapevines leaf area. American Journal of Enology and Viticulture 35:16-22
- Suárez, I.; Espitia, M., y Pertuz, I. 2006. Efecto de auxinas y citocininas en la multiplicación y enraizamiento *in vitro* de *Stevia rebaudiana* Bertoni. Fitotecnia Colombiana 6(2):1-8
- Thornley, J. 1976. Mathematical models in plant and crop physiology. Academic Press, London, New York, 315p.
- Vergara, C.; Jarma, A.; Polo, J. y Pastrana, L. 2003. Crecimiento y desarrollo de dos variedades de *Stevia rebaudiana* Bertoni en tres tipos de suelo del Medio Sinú. Memorias XXXIII Congreso Anual COMALFI, Montería, abril 24, 25 y 26.