



EFFECTO DEL STEVIOSIDO Y DEL STEVIOL EN LA GERMINACION DE SEMILLAS DE *Petunia hybrida* Vilm. (Solanaceae)^(*)

Claudia B. Sorol de Amarilla

Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico.
Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales.
Universidad Nacional de Misiones.
Félix de Azara 1552. 3300 Posadas (Misiones, Argentina).

RESUMEN. *Stevia rebaudiana* Bertoni (Compositae), conocida vulgarmente como "Ka-á He-é" es una planta herbácea originaria de Paraguay y Brasil que debe su importancia económica al hecho de ser fuente de un principio edulcorante, el steviósido, una sustancia trescientas veces más dulce que la sacarosa de cuya hidrólisis enzimática se obtiene steviol. El steviol está relacionado con las giberelinas por su estructura y por su vía biosintética y muestra actividad de tipo giberélico en algunas especies, mientras que en otras es inefectivo. Este trabajo tuvo como objetivo establecer si el steviósido y/o el steviol tienen efecto en la germinación de semillas de *P. hybrida* y determinar si éste es de tipo giberélico. Se probó la influencia del steviósido, del steviol y del ácido giberélico, utilizando 0,1; 1; 10 y 100 mg/l. Se observó que la solución de steviósido de 1 mg/l tiene efecto de tipo giberélico.

ABSTRACT. Effect of stevioside and steviol in *Petunia hybrida* Vilm. (Solanaceae) germination. *Stevia rebaudiana* Bertoni "Ka-á He-é" is a herbaceous plant from Paraguay and Brazil which owes its economic importance to the fact that it is a source of sweeteners. The sweetening element is stevioside, a substance three hundred times more sweet than sucrose, from whose enzymatic hydrolysis steviol is obtained. Steviol is related to the

(*) Subvencionado por el CONICET. P.I.D. N° 1403-0545/91

gibberellin due to its chemical structure and its biosynthetic pathway. In some species, steviol shows gibberellin-like activity whereas in others it is ineffective. The objective of this work was to establish if stevioside or steviol have effect in *P. hybrida* germination as well as to determine if such effect is of the gibberellic type. The effect of stevioside, steviol and gibberellic acid was tested, using 0.1; 1; 10 and 100 mg/l. A gibberellic-like effect of the 1 mg/l stevioside solution was observed.

INTRODUCCION

Stevia rebaudiana es una especie que debe su importancia económica al hecho de poseer un metabolito secundario con actividad edulcorante. Se trata de una planta herbácea originaria de Paraguay y Brasil (Carneiro, 1990). El principio edulcorante, trescientas veces más dulce que la sacarosa, denominado steviósido, es un glucósido diterpénico que por hidrólisis enzimática libera una aglucona llamada steviol (Bridel y Lavieille en Felipe, 1977). El steviol es un ácido diterpénico tetracíclico (ácido C-13-hidroxicarorenóico) relacionado estructuralmente con las giberelinas. Esa similitud estructural sugirió actividad de tipo giberélico (Mosettig *et al.*, 1963; Ruddat *et al.*, 1965). Otra evidencia para esta hipótesis es la vía biosintética similar de las giberelinas y del steviol en *S. rebaudiana* (Ruddat *et al.*, *op. cit.*, Hanson y White, 1968).

La evaluación de la actividad del steviol y del steviósido mediante pruebas biológicas específicas para giberelinas permitió establecer que el steviol es efectivo en la estimulación del crecimiento internodal de los mutantes enanos de maíz (*Zea mays*) d-1 (Ruddat *et al.*, 1963), d-5 (Murakami en Komai e

Iwamura, 1983) y an-1 (Katsumi *et al.*, 1964); en el crecimiento del hipocótilo de lechuga (*Lactuca sativa* L. Gigante I-1797), de pepino (*Cucumis sativus* L. cv. Meio Longo) y de poroto (*Phaseolus vulgaris* cv. Pintado) (Valio y Rocha, 1976) y en el alargamiento de la vaina de la hoja de la variedad de arroz enano Tanginbozu (Ruddat *et al.*, 1963), en la cual también es efectivo el steviósido (Komai e Iwamura *op. cit.*).

En semillas, el steviósido induce la biosíntesis de α -amilasa en el endosperma de cebada (Ogawa, 1975; Komai *et al.*, 1985) y tiene efecto en la germinación de *P. vulgaris* L. cv. Magnific 31 Famatina, INTA, de *S. rebaudiana* (Marcavillaca, 1985 y 1986) y de *L. sativa* cv. New York (Komai e Iwamura, *op. cit.*).

Chemisquy (1992, 1993) realizó pruebas de la influencia del steviósido y del steviol en *Petunia hybrida* utilizando plántulas y plantas adultas y obtuvo respuestas positivas.

En virtud de lo expuesto y continuando con los estudios en otro estadio de esta especie, este trabajo tiene como objetivo establecer si el steviósido y/o el steviol tienen efecto en la inducción de la germinación de semillas de *P. hybrida* y determinar si esa actividad es de tipo giberélico.

MATERIAL Y METODOS

El steviósido con un grado de pureza del 100% y el steviol fueron obtenidos por métodos de aislación propios en los Laboratorios de la Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales de la Universidad Nacional de Misiones.

Se probó el efecto de los tratamientos con steviósido, steviol y ácido giberélico en las siguientes concentraciones: 0,1; 1; 10 y 100 mg/l (Diseño jerárquico "Nested designs"), contrastándolo con un control (sin tratar). A tal fin y con el objeto de hacerlas germinar se dispusieron semillas de *P. hybrida* en cajas de Petri sobre papel de filtro humedecido con cuatro mililitros de la solución a probar. Cada unidad experimental estuvo constituida por cien semillas. Los cultivos se incubaron en condiciones ambientales controladas a una temperatura de $26 \pm 2^\circ\text{C}$ bajo campana de iluminación con luz continua suministrada por tubos fluorescentes blancos.

Al cabo de una semana, se realizó el Recuento Final de Germinación (RFG) expresado como porcentaje de germinación (%G), considerando como criterio la

emergencia de la radícula a través de la cubierta seminal.

El análisis estadístico se llevó a cabo aplicando Análisis de Variancia (ANOVA) y el Test de Rangos Múltiples con un nivel de significación del 5%, previa transformación de los datos a Arc. sen x.

RESULTADOS

Los resultados del RFG por tratamiento (Fig. 1) indican que el mayor porcentaje de germinación se registró con la solución de 0,1 mg/l de ácido giberélico; al aumentar la concentración de esta sustancia a 1; 10 y 100 mg/l disminuyó progresivamente la cantidad de semillas germinadas, resultando esta última concentración inhibitoria de la germinación.

El steviol promovió la germinación de semillas, excepto al ser utilizado a la máxima concentración, a la cual también resultó inhibitorio. El mayor porcentaje de germinación se registró con la solución con 1 mg/l.

Las soluciones con 1 y 100 mg/l de steviósido promovieron la germinación de semillas.

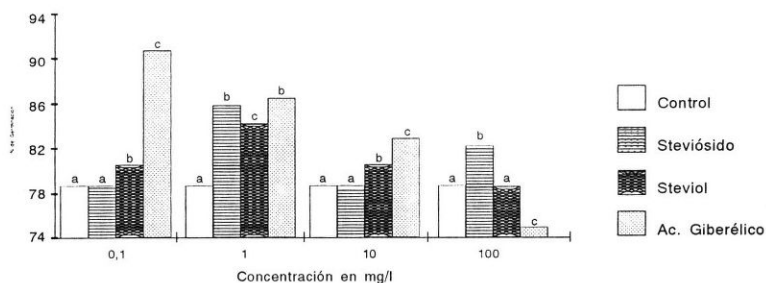


Fig. 1: Porcentaje de germinación de semillas de *Petunia hybrida* en tratamientos con steviósido, steviol, ácido giberélico y en el control (sin tratamiento), y significación de las diferencias entre las medias. En cada concentración, letras iguales de las columnas indican que los resultados no difieren significativamente (Tukey 5%).

En todos los casos citados se registraron diferencias significativas en relación al control.

Los porcentajes de germinación son similares al emplear 1 mg/l de steviósido (86,33%) y de ácido giberélico (87,00%). Solamente en este caso la diferencia no fue estadísticamente significativa.

Las diferencias en porcentaje de germinación detectadas entre steviósido y steviol para cada una de las concentraciones fueron significativas.

El ANOVA indicó que las concentraciones constituyen la principal fuente de variación (c. v.: 8,22 %), en segundo lugar se encuentran las sustancias (c. v.: 2,00 %) y por último, las repeticiones (c. v.: 1,46 %).

DISCUSION

Coincidentemente con lo expuesto por otros autores el steviósido indujo la germinación de semillas (Komai e Iwamura, *op. cit.* Marcavillaca, *op. cit.*) lo que se observó al ser utilizado a la concentración de 1 y 100 mg/l, pero solamente con 1 mg/l se registró un porcentaje de germinación semejante al del ácido giberélico utilizado a la misma concentración. El steviol también incrementó el porcentaje de germinación en relación al control.

Chemisquy (1992 y 1993) informó que en plántulas y en plantas de *P. hybrida* el steviósido influyó en mayor grado que el steviol lo cual también se observó en la germinación de las semillas.

La aplicación de giberelinas produce la inducción de la germinación de semillas (Taiz y Zeiger, 1991; I.S.T.A., 1985) este efecto se ha verificado para el ácido giberélico en semillas de *P. hybrida*. Por

otra parte es importante destacar que tanto el steviósido como el steviol influyeron en la germinación de semillas de esta especie incrementando el porcentaje de germinación. Estos resultados sustentan lo postulado por Mossetig, *et al.* (*op. cit.*) que debido a la semejanza estructural, el steviol y el ácido giberélico tendrían actividad semejante.

Tal como lo indicaron Komai e Iwamura (*op. cit.*) al trabajar en germinación de semillas de lechuga, la respuesta a la aplicación de steviósido y steviol fue más baja que la obtenida con ácido giberélico. Lo cual también se observó en la inducción de la biosíntesis de α -amilasa (Komai *et al.*, *op. cit.*).

La identificación de GA₂₀ en tallos y hojas de *S. rebaudiana* es significativa para la interpretación de la actividad giberélica del steviol (Alves y Ruddat, en Komai *et al.*, *op. cit.*). El steviol, ácido C-13 hidroxikaurénoico, puede funcionar como precursor de las C-13 hidroxigiberelinas, y no como un análogo de las giberelinas. La actividad promotora del steviol puede deberse a la conversión de sustancias de tipo giberélico a través del steviol (Komai *et al.*, *op. cit.*).

CONCLUSIONES

El steviósido, a la concentración de 1 y 100 mg/l y el steviol, al ser empleado en las siguientes: 0,1; 1 y 10 mg/l, tuvieron efecto en la germinación de semillas de *P. hybrida*, el cual se detectó por el incremento del porcentaje de germinación

La respuesta al tratamiento con 1 mg/l de steviósido fue semejante en magnitud a la obtenida con el ácido giberélico a la misma concentración, pero en tér-

minos generales, las de las soluciones con las cuales se induce la germinación no son las mismas para las tres sustancias.

AGRADECIMIENTOS

Al Ing. Qco. Nicolás Kolb por proporcionarme steviol y steviósido. A la Lic. Manuela Edith Rodríguez por la lectura crítica del manuscrito. A la Lic. Mónica Beatriz Otegui por su apoyo incondicional.

REFERENCIAS

Carneiro, J. W. P. 1990. *Stevia rebaudiana* (Bert.) Berton: Produção de Sementes. *Univ. Nac. de Maringá*. Maringá. 65.

Chemisquy, G. B. R. de. 1992. Acción comparativa entre Acido Giberélico y Steviósido sobre *Petunia hybrida*. *Actas XLIX Reunión Argentina de Fisiología Vegetal*: 203-204.

Chemisquy, G.B. R. de. 1993. Influencia del steviósido y steviol en el crecimiento de *Petunia*. Comparación de los resultados obtenidos con aplicación de A.I.A. *Actas XX Reunión Argentina de Fisiología Vegetal*: 284-285.

Felippe, G. M. 1977. *Stevia rebaudiana* Bert: uma revisão. *Cienc. Cult. (Sao Paulo)* 29: 1240-1248.

Hanson, J. R. y A. F. White. 1968. Studies in terpenoid biosynthesis II. The biosynthesis of steviol. *Phytochemistry* 7: 595-597.

I.S.T.A. 1985. International rules for seed testing. Annexes. *Seed Sci. Technol.* 13: 356-513.

Katsumi, M.; B. O. Phinney; P. R. Jefferies & C. A. Henrick. 1964. Mutants of maize to Some Kaurene Derivatives. *Science* 144: 849-850.

Komai, K. & J. Iwamura. 1983. Effects of Stevioside and Its Relative Compounds on Growth of Rice and Lettuce Seedlings. *J. Pestic. Sci.* 8: 445-450.

Komai, K.; J. Iwamura; T. Morita & M. Hamada. 1985. Effect of Stevioside and its Related Compounds on the Induction of a α -Amylase Biosynthesis. *J. Pestic. Sci.* 10: 113-117.

Marcavillaca, M. C. 1985. Acción Giberélica de steviosa en el crecimiento de poroto enano *Phaseolus vulgaris* L. cv -. Magnific 31 Famatina INTA. *Actas XVI Reunión Nac. de Fisiología Vegetal*: 86.

Marcavillaca, M. C. 1986. Acción del Steviósido en la Germinación de Semillas de *Stevia rebaudiana* Berton. *SAIPA INTA* 7: 14 -151.

Mosettig, E.; U. Beglinger; F. Dolder; H. Lichti; P. Quitt y J. A. Waters. 1963. The Absolute Configuration of Steviol and Isosteviol. *J. Am. Chem. Soc.* 85: 2305-2309.

Ogawa, Y. 1975. Biological activities of gibberellin biosynthesis-related substances in the barley endosperm test. *Plant Cell Physiol.* 16: 265-270.

Ruddat, M.; E. Heftmann & A. Lang. 1965. Conversion of Steviol to a Gibberellin-like Compound by *Fusarium moniliforme*. *Arch. Biochem. Biophys.* 111: 187 - 190.

Ruddat, M.; A. Lang & E. Mosettig. 1963. Gibberellin Activity of Steviol, a Plant Terpenoid. *Naturwissenschaften* 50: 23.

Taiz, L. & E. Zeiger. 1991. Plant Physiology. *The Benjamin Cummings Publishing Company Inc.* 565 pp.

Valio, I. F. M. & R. F. Rocha. 1976. Physiological Effects of Steviol. *Z. Pflanzenphysiol* 78: 90-94.

Recibido/Received/: 8 junio 1995.

Aceptado/Accepted/: 8 julio 1996.