



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE EDAFOLOGÍA

RESPUESTA DE LA *Stevia rebaudiana* BERTONI (MORITA II) AL MANEJO NUTRICIONAL EN INVERNADERO

JUAN PEÑATE ARCOS

T E S I S
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO, MÉXICO

2022



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

La presente tesis titulada: **Respuesta de la *Stevia rebaudiana* Bertoni (Morita II) al manejo nutricional en invernadero**, realizada por el estudiante: **Juan Peñate Arcos**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS
EDAFOLOGÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERA


Dra. ROSA MARÍA LÓPEZ ROMERO

ASESOR


Dr. VICTOR HUGO VOLKE HALLER

ASESOR


Dr. ABEL QUEVEDO NOLASCO

Montecillo, Texcoco, Estado de México, México, agosto de 2022

RESPUESTA DE LA *Stevia rebaudiana* BERTONI (MORITA II) AL MANEJO NUTRICIONAL EN INVERNADERO

Juan Peñate Arcos, M.C
Colegio de Postgraduados, 2022

RESUMEN

La *Stevia rebaudiana* Bertoni Morita II se estableció en un invernadero del Colegio de Postgraduados campus Montecillo, Texcoco, Estado de México de septiembre a diciembre del año 2020. El objetivo fue analizar la respuesta de diferentes concentraciones de solución nutritiva de Steiner modificada (SN), en la morfología y la dinámica de los minerales en la hoja de stevia. Se estableció un diseño en fajas, con tratamientos de 25%, 50%, 75% y 100% de SN, siendo la unidad experimental una maceta, con 8 repeticiones para cada corte. La mezcla de sustrato tezontle-fibra de coco se hizo en una relación 1:1. Se realizaron muestreos destructivos a los 60, 75 y 90 días después del trasplante (Ddt). Las variables morfológicas determinadas fueron; peso seco de raíz, tallo y hoja y rendimiento de hoja por planta. En hojas se determinó el N por el método Kjeldahl. Previa digestión con HNO_3 y H_2O_2 se cuantificó Ca, Mg, K, Zn, Cu y Fe por espectrometría de absorción atómica y P por colorimetría. Los resultados obtenidos tanto de variables agronómicas y concentración de minerales en la planta fueron sometidos a un análisis de correlación y regresión lineal, todas se ajustaron a un modelo matemático. Siendo la SN 75% con mejor respuesta en número de ramas y volumen de la raíz, mientras que los minerales en hojas secas fue muy dinámicos en cada corte lo que indica que el estrés hídrico incidió en la absorción de estos elementos.

Palabras clave: Stevia, fenología, morfología, minerales, diseño en fajas.

RESPONSE OF *Stevia rebaudiana* BERTONI (MORITA II) TO NUTRITIONAL MANAGEMENT IN THE GREENHOUSE

Juan Peñate Arcos, M.C
Colegio de Postgraduados, 2022

ABSTRACT

The *Stevia rebaudiana* Bertoni Morita II will be configured in a greenhouse of the Colegio de Postgraduados campus Montecillo, Texcoco, State of Mexico from September to December 2020. The objective was to analyze the response of different concentrations of modified Steiner nutrient solution (SN), in the morphology and dynamics of minerals in the stevia leaf. A strip design was established, with treatments of 25%, 50%, 75% and 100% of SN, the experimental unit being a pot, with 8 repetitions for each cut. The tezontle-coconut fiber substrate mixture was made in a 1:1 ratio. Destructive sampling was carried out at 60, 75 and 90 days after transplantation (Ddt). The determined morphological variables were; root, stem and leaf dry weight and leaf yield per plant. In leaves, N was determined by the Kjeldahl method. After digestion with HNO₃ and H₂O₂, Ca, Mg, K, Zn, Cu and Fe were quantified by atomic absorption spectrometry and P by colorimetry. The results obtained from both agronomic variables and mineral concentration in the plant were subjected to a correlation analysis and linear regression, all were adjusted to a mathematical model. Being the SN 75% with the best response in number of branches and root volume, while the minerals in dry leaves were very dynamic in each cut, which indicates that water stress affected the absorption of these elements.

Key words: Stevia, phenology, morphology, minerals, design in sashes.

AGRADECIMIENTOS

Al ser supremo que protege de mí todos los días, gracias.

A la Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca asignada durante mi estancia en el Colegio de Postgraduados.

Al programa de becas de estudiantes indígenas PROBEPI imprescindible para mi ingreso al colegio y durante mi estancia ya que me ayudaron para cumplir con mis objetivos de investigación.

Al colegio de postgraduados por permitir cumplir un sueño más de mi vida profesional.

A los profesores del colegio de postgraduados por darme la herramienta para mejorar mi desempeño profesional.

A mis amigos por el apoyo durante mi estancia en el colegio de postgraduados.

Agradezco infinitivamente a la Doctora Rosa María por el apoyo durante mi estancia como estudiante en el colegio, sin duda me quedo con los conocimientos transmitidos.

Al Doctor Abel por la calidad humana que tiene por apoyarme a pesar de las dificultades que conllevo este proyecto.

Al Dr. Victor Hugo Volke por la revisión y comentario para mejorar constantemente mi desempeño en la escritura de la tesis, fueron imprescindibles para mi formación como profesionista.

DEDICATORIA

Dedico estas líneas al Ser supremo y el universo que me protege y sigue cubriendo mi horizonte, gracias por la vida.

A mis padres por enseñarme ser perseverante y luchar por mis sueños, a ustedes les dedico con mucho amor, este logro es para ustedes.

A mis hermanas por el apoyo incondicional durante muchos años y una vez más les dedico estas líneas por ser parte de mi historia.

Para ti reina que llegaste en el momento oportuno para acompañarme en este proceso e inspirarme y seguir luchando y lograr este objetivo te lo dedico a ti Mary.

A mi hermano que, aunque no entienda y comprenda lo que hago, siempre será mi motivo para seguir adelante para ti **“papi Sebas”**.

CONTENIDO

RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
AGRADECIMIENTO	v
DEDICATORIA	vi
LISTA DE CUADROS	xi
LISTA DE FIGURAS	xii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS E HIPOTESIS	
2.1 Objetivo general.....	3
2.1.1 Objetivos específicos.....	3
2.2 Hipótesis general.....	3
2.2.1 Hipótesis específico	3
III. REVISIÓN DE LITERATURA	
3.1 Generalidades de la <i>Stevia rebaudiana</i> Bert.....	4
3.1.1 Origen y distribución	4
3.1.2 Descripción botánica	4
3.1.3 Clasificación botánica	6
3.1.4 Biología floral.....	7
3.1.5 Etapas fenológicas del cultivo	8
3.2 Manejo del cultivo de stevia	9
3.2.1 Requerimientos edafoclimáticos.....	9
3.2.2 Método de propagación	9

3.2.3 Siembra.....	10
3.2.4 Cosecha y proceso de secado de la hoja de stevia.....	10
3.2.5 Principales plagas del cultivo de stevia.....	11
3.2.6 Enfermedades del cultivo de stevia.....	11
3.2.6.1 Septoria o mancha foliar.....	12
3.2.6.2 Alternaría o mancha foliar	13
3.3 Nutrientes esenciales.....	13
3.3.1 Importancia de los elementos esenciales en la producción de stevia.....	14
3.3.2 Manejo de la fertilización.....	17
3.4 Definición de sustrato	18
3.4.1 Tipos de sustrato	18
3.5 Expresiones estructurales del esteviosido.....	20
3.5.1 Glucósidos de esteviol	21
3.5.2 Concentración de los glucósidos de esteviol	21
3.5.3 Otras propiedades	22
3.6 Propiedades nutraceuticas.....	23
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	
4.1 Localización del experimento	24
4.2 Sustrato.....	24
4.3 Propiedades físicas del sustrato tezontle-fibra de coco.....	24
4.4 Preparación de la solución nutritiva.....	25
4.5 Selección de esquejes de stevia.....	26

4.6 Siembra de plántulas.....	27
4.7 Manejo del cultivo.....	27
4.8 Diseño experimental.....	28
4.9 Variables a evaluar.....	28
4.10 Manejo de las muestras de stevia.....	29
4.11 Análisis químico de hojas de stevia.....	29
4.12 Control de calidad de las muestras.....	29
4.13 Evapotranspiración potencial y riego aplicado.....	30
4.14 Grados días de desarrollo.....	31
4.15 Manejo del agua.....	31
4.16 Análisis de los datos.....	32
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN GENERAL	
5.1 Características físicas del sustrato tezontle-fibra de coco.....	33
5.2 Variables agronómicas del cultivo de stevia.....	34
5.3 Concentración de macronutrientes en hojas de stevia	39
5.4 Concentración de micronutrientes en hojas de stevia	43
5.5 Correlación entre variables fisiológicas de stevia.....	45
5.6 Correlación entre macronutrientes en hojas de stevia.....	47
5.7 Correlación entre micronutrientes en hojas de stevia.....	48
5.8 Etapa fenológica y utilización del agua en stevia.....	59
VI. CONCLUSIONES.....	52
VII. LITERATURA CITADA.....	53
ANEXO.....	59

Digestión húmeda con HNO_3 y H_2O_2 30% de hoja de *Stevia rebaudiana* Bertoni

Morita II..... 61

LISTAS DE CUADROS

Cuadro 1. Características físicas y químicas de un buen sustrato	19
Cuadro 2. Determinación de glucósidos en <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni.....	22
Cuadro 3. Concentraciones de las soluciones nutritivas para el cultivo de <i>stevia</i>	25
Cuadro 4. Micronutrientes aplicados en la solución nutritiva.....	26
Cuadro 5. Correlación entre variables fisiológicas de <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni Morita II en invernadero	46
Cuadro 6. Correlación entre concentraciones de macronutrientes en hoja de <i>Stevia</i> <i>rebaudiana</i> Bertoni Morita II, en invernadero	48
Cuadro 7. Correlación entre concentraciones de micronutrientes en hoja de <i>Stevia</i> <i>rebaudiana</i> Bertoni Morita II en invernadero.....	49
Cuadro 8. Etapa fenológica de la <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni Morita II	50

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Morfología floral de la <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni Morita II. a) planta completamente desarrollada, b) vista de la floración, c) estigma y anteras (Das 2009 b y c).....	7
Figura 2. Plantas de stevia en charolas izquierda en paréntesis, siembra de stevia en macetas (medio) y diseño en fajas (derecha)	28
Figura 3. Efecto de las concentraciones de solución nutritiva en <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni Morita II bajo invernadero en: (a) hoja seca, (b) tallo; (c) ramas y (d) raíz	35
Figura 4. Efecto de concentraciones de solución nutritiva en <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni Morita II bajo invernadero, en: (a) altura de planta, (b) longitud de la raíz y (c) volumen de raíz.....	38
Figura 5. Efecto de concentraciones de la solución nutritiva en <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni Morita II en tres cortes para: a) nitrógeno (N); (b) fósforo (P) y (c) potasio (K).....	40
Figura 6. Efecto de concentraciones de la solución nutritiva en <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni Morita II en tres cortes para: (a) calcio (Ca); y (b) magnesio (Mg)	42
Figura 7. Efecto de concentraciones de la solución nutritiva <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni Morita II en tres cosechas para: (a) manganeso (Mn); (b) hierro (Fe); (c) cobre (Cu); y (d) Zinc (Zn).....	44
Figura 8. Riego aplicado en las diferentes etapas fenológicas y evapotranspiración potencial estimado bajo invernadero	51

Figura 9. Riego acumulado y lamina de riego acumulado en las diferentes etapas
fenológicas de la stevia bajo invernadero..... 51

I. INTRODUCCIÓN

La *Stevia rebaudiana* Bertoni es originaria de Paraguay, un endulzante natural, cero calorías con propiedades nutracéuticas y farmacéuticas para la salud humana (Ramírez, 2011). Según INIFAP (2014) y Ramírez (2011) en México la stevia se introdujo en el año 2000 por parte del Instituto Nacional de Investigación Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) en Mococho, Yucatán. Entre las variedades más cultivadas está la Morita II proveniente del Japón, las criollas y Eirete ambas provenientes de Paraguay. La Morita II presenta tolerancia al ataque por hongos *Septoria sp.*, mejor rendimiento en hoja seca y mayor contenido de glucósidos hasta ahora (Jarma *et al.*, 2000; Landázuri, 2009), por sus cualidades esta variedad representa una gran oportunidad para la producción en México.

Las zonas con potencial productivo de stevia se encuentran en los estados de; Sinaloa, Nayarit, Jalisco, Colima, Michoacán, Chiapas, Oaxaca, Yucatán y Quintana Roo (Ramírez, 2011). De 2015 a 2017 se reportaron un promedio de 64.6 hectáreas sembradas distribuidas en los estados mencionados (CEDRSSA, 2018).

En el centro y norte de México existen plantaciones de stevia que podrían ser afectadas por las bajas temperaturas frecuentes en la época invernal. Una alternativa a este problema es la siembra de stevia en condiciones de invernadero; sin embargo, debido a que la stevia es una planta introducida en nuestro país aún existe escasos estudios acerca del comportamiento fisiológico y agronómico (Karimi *et al.*, 2015), así como de la cantidad necesaria de nutrientes esenciales (Jarma *et al.*, 2010).

De lo anterior, la peculiaridad que presenta la zona del altiplano de México el cultivo de stevia demanda realizar estudios de manejo agronómico del cultivo como el sustrato donde crece y se desarrolla la planta (Villalba y Oroa, 2018; Martínez *et al.*, 2017; Etchevers, 1989).

Por otro lado, antes de cultivar cualquier especie vegetal es importante determinar las etapas de desarrollo, el comportamiento frente a los factores bióticos, abióticos y el manejo de la fertilización del cultivo, para ello en la presente investigación se propone analizar la respuesta de diferentes concentraciones de la solución Steiner modificada, en la morfología y en la dinámica de minerales en hojas de stevia durante tres etapas fenológicas (Smill, 1997; Steiner, 1961).

II. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

2.1 Objetivo general

Analizar la respuesta de diferentes concentraciones de solución nutritiva de Steiner modificada en el crecimiento y desarrollo de la *Stevia rebaudiana* variedad Morita II bajo invernadero.

2.1.1 Objetivos específicos

Evaluar la respuesta las diferentes concentraciones de solución nutritiva Steiner modificada (A, B, C y D) en las variables morfológicas de la stevia.

Determinar y analizar la concentración de macronutrientes y micronutrientes en la hoja de stevia de acuerdo a las etapas fenológicas.

2.2 Hipótesis general

A mayor concentración de la solución nutritiva Steiner modificada, afecta en la crecimiento y desarrollo del cultivo de stevia.

2.2.1 Hipótesis específicas

Las variables morfológicas de la stevia permiten identificar el efecto de las diferentes concentraciones de la solución nutritiva Steiner.

La concentración diferenciada de los nutrientes en las diferentes etapas fenológicas mejora las respuestas morfológicas y rendimiento del cultivo de stevia.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1 Generalidades de la stevia

3.1.1 Origen y distribución geográfica de la stevia

La stevia es originaria de las regiones del noreste de Paraguay en el valle de Amambay, que se localiza entre 23° y 26° latitud en la frontera con Brasil. Desde hace cientos de años los nativos guaraníes la ocupaban en “varios remedios herbales” por sus propiedades medicinales y dulzor de 200 a 300 veces más que el azúcar de caña (A. K. Yadav *et al.*, 2011).

La stevia se adapta en latitudes cercanas al trópico. También se ha reportado que resiste bien los climas fríos, por ejemplo, en San Petersburgo se han sembrado en latitud a 60° N (Gantait *et al.*, 2015), por eso se cultiva en Canadá, Indonesia, India, Japón, Corea, México, EE.UU., Tanzania entre otros países (Gantait *et al.*, 2018).

3.1.2 Descripción botánica

La stevia es un arbusto de 65 a 85 cm de altura que presenta raíces fibrosas filiformes muy abundantes, con radículas finas que encuentran en la parte superficial mientras que las raíces gruesas permanecen en la zona más profunda (Cassacia *et al.*, 2016; Lemus-Mondaca *et al.*, 2012). En condiciones silvestres, la planta da pocas ramas delgadas. Como planta cultivada, produce hojas ramificadas más o menos densas y sus ramas basales se regeneran anualmente.

Las hojas presentan una distribución alterna con hojas lanceoladas, acerradas y subsésiles, con tricomas en la superficie de las hojas. La semilla es un aquenio, presenta 10% de germinación y/o menos debido a la infertilidad (Raina *et al.*, 2013). Las semillas fértiles presentan color oscuro, en caso contrario, presentan color claro, ambas son dispersadas por el viento para su reproducción (Benelli *et al.*, 2017; Singh *et. al.*, 2017; Das & Gantait, 2011).

3.1.3 Clasificación botánica de la stevia

La stevia botánicamente se clasifica de acuerdo al siguiente orden:

Reino	Plantae
Subreino	Tracheobionta
Superdivisión	Spermatophyta
División	Magnoliophyta
Clase	Magnolipsida
Subclase	Asteridae
Grupo	Monochlamydae
Orden	Asterales
Familia	Asteraceae (Compositae)
Subfamilia	Asteroideae
Tribu	Eupatorieae
Género	<i>Stevia</i>
Especie	<i>rebaudiana</i> (Bertoni, 1899).

Durante varios años se han generado diversas variedades a través de cruces entre las mismas especies, siendo la Morita II una variedad registrada en Japón por

Toyosigue Morita. Esta variedad presenta mejores rendimientos agronómicos y mayor cantidad de glucósidos respecto a las otras variedades (Martínez, 2015).

3.1.4 Biología floral

La inflorescencia es sésil, centripeta envuelta en brácteas verticiladas con abundantes flores blancas distribuidas de forma irregular, cáliz adherido en el ovario y la corola de color purpura pálido y verde por debajo, las flores son hermafroditas presentan órganos masculinos y femeninos (Singh *et al.*, 2015; Yadav *et al.*, 2011).

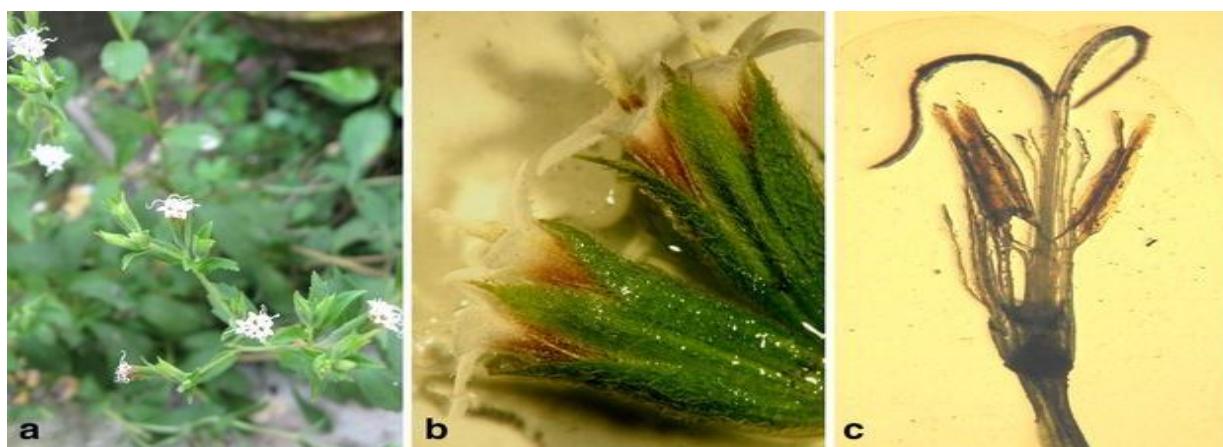


Figura 1. Morfología floral de la *Stevia rebaudiana* Bertoni Morita II. a) planta completamente desarrollada, b) vista de la floración, c) estigma y anteras (Das 2009 b y c).

La flor de la stevia presenta estambres de color amarillo insertados en la corola, el estigma se encuentra situado encima de la antera donde ocurre la polinización. La dehiscencia de las anteras y liberación del polen ocurre de 7:30 am a 10:30 am. La temperatura influye en la antesis, en días nublados menores a 10°C las flores permanecen cerradas durante todo el día y, en caso contrario, las flores permanecen abiertas (Das, 2009).

La stevia por diversas condiciones de estrés como; bajas temperaturas, periodos largos en viveros y alta densidad de siembra estimulan la floración temprana cuando apenas presentan cuatro hojas verdaderas, asimismo, La stevia es autoincompatible y requiere de insectos para la polinización. En condiciones óptimas de crecimiento y desarrollo la floración inicia entre 60 y 65 días después del transplante, y dura de 25 a 30 días (Gantait *et al.*, 2018).

3.1.5 Etapas fenológicas del cultivo de stevia

En la stevia, según Carneiro (2007), la etapa fenológica se divide en dos. La primera es la etapa vegetativa (V) que comienza con la germinación de la semilla y aparición de las primeras radículas (V0); posteriormente los cotiledones crecen (V1); enseguida aparece el primer par de hojas (V2); luego las ramas secundarias (V3) y posteriormente la planta presenta ramas y entrenudos bien desarrolladas (V4). La segunda es la etapa reproductiva (R) que comienza a partir de la diferenciación de los botones florales (R1); la antesis que comprende de momento de la floración hasta la polinización (R2); después las flores crecen y las semillas entran en proceso de maduración, los pétalos se marchitan y quedan de color pardusco (R3); llegando así a la madurez fisiológica de las semillas (R4), por último la senescencia de las plantas y la dispersión de las semillas (R5), este ciclo productivo comprende de 90 a 120 días. Una precisión propuesta por el Instituto Federal de Biología y Oficina Federal de Variedades Vegetales e Industria Química (BBCH) establece que dicho proceso ocurre en un periodo

de 99 días aproximadamente, aunque pueden variar de acuerdo a las condiciones climáticas (Le Bihan *et al.*, 2020).

3.2 Manejo del cultivo

3.2.1 Requerimiento edafoclimático

La stevia se adapta bien en un suelo areno-arcilloso o suelo franco, con pH de 5.5 a 7.5, prefiere suelos de buena permeabilidad y ricos en materia orgánica. Crece de forma ideal en zonas con precipitaciones de 1400 a 1800 mm anuales y no tolera periodos largos de sequía. La temperatura óptima para su crecimiento oscila entre 20 y 30°C, siendo los extremos de -6 a 43°C (Cassacia, *et al.*, 2016).

3.2.2 Método de propagación

Existen diferentes métodos de propagación de la stevia, uno es el método sexual, en el que todas las plantas producen flores y semillas, por lo que la flor es de interés, ya que ella se encuentra el ovario con el órgano masculino y femenino denominados gametofitos. Como es de esperar esta forma de propagación presenta variabilidad genética (Martínez Cruz, 2015). Otro, es el método de propagación asexual, como los acodos, esquejes y cultivo *in-vitro*. Este último se caracteriza por mantener la variabilidad genética de la planta madre. En éste a partir de yemas, trozos de hojas y porciones de raíces, se obtienen nuevas plantas que se multiplican rápidamente (Rivillas *et al.*, 2016).

3.2.3 Siembra

Antes de la siembra de plántulas se práctica la poda de formación que consiste en romper la dominancia apical dejando dos a tres pares de hojas para favorecer el rebrote de ramas secundarias. En vivero se recomienda realizar esta actividad al cumplir los primeros 30 días. Para la siembra de stevia en campo es necesario preparar las camas o eras dos a tres meses antes, las que deben tener una altura de 20 cm aproximadamente y ancho de 100 a 120 cm para establecer 4 a 5 hileras de plantas de stevia, por lo regular se recomienda ajustar el pH y adicionar abono orgánico (FUNCFOS, 2000).

La stevia no requiere de mucha humedad, se recomienda sembrar cuando la temperatura esté entre 20 y 30°C en periodos de lluvia moderada. El cepellón de la plántula debe quedar bien enterrado para evitar el estrés por altas temperaturas. La densidad de siembra puede variar de acuerdo a las condiciones climáticas, que van de 60 mil a 200 mil plantas ha⁻¹ (Ramírez & Lozano, 2018).

3.2.4 Cosecha y procesos de secado de las hojas

El primer corte se puede realizar a los tres a cuatro meses de siembra, como indicador que la planta tenga 5% de botones florales, ya que en esta etapa acumula mayor cantidad de glucósidos. Esta actividad consiste en podar a una altura de 5 a 7 cm. Se recomienda dejar dos a tres ramas para evitar el estrés del cultivo y que siga el proceso de fotosíntesis, de esta manera puede durar 5 años en producción. La hoja recién cosechada se desinfecta con yodo al 5% y se traslada al área de secado o en un

secador especial de aire circulante a una temperatura de 45°C durante 5 h (Martínez, 2015).

3.2.5 Principales plagas del cultivo de stevia

La plaga de importancia en el cultivo de stevia es la mosquita blanca (*Bemisia tabacci*) ya que ocasiona daños en la hoja (manchas en la hoja) y disminuye la calidad de la misma, mientras que *Ceroplastes sp.*, *Criptotermes sp.*, *Crypticerya genistae*, *Pintalia delicata*, *Polyphagotarsonemus sp.* ocasionan daños leves, con presencia de manchas y perforaciones en las hojas. La poda en el cultivo de stevia rompe el ciclo biológico de las plagas, por lo que representa, una pequeña ventaja respecto a otros cultivos (Veintimilla *et al.*, 2018). Por otro lado, Yadav *et al.* (2011) encontraron que la stevia puede ser susceptible al ataque de plagas debido al alto contenido de metabolitos secundarios. Entre éstos están los componentes polifenólicos (PPS) que se encuentran de 2% a 5% en las hojas, en específico el ácido clorogénico, apolifenol de la familia de esteroides, ácidos hidroxicinámicos con ácido quínico que, de acuerdo a las investigaciones la planta lo ocupa para el crecimiento, sirven de defensa contra lesiones y ataques de plagas, proporcionando estabilidad oxidativa (Myint *et al.*, 2020).

3.2.6 Enfermedades del cultivo de Stevia

La planta de stevia puede ser atacada por enfermedades ya sea en vivero, invernadero o en campo. Si el daño es por hongos éstos ocasionan manchas necróticas, marchitamiento, ennegrecimiento y cancro en los cultivos, por lo que puede afectar la calidad de la hoja y al final la muerte progresiva del sembradío (Martínez, 2015). Los

fitopatógenos causantes de estas enfermedades son *Fusarium sp.*, *Rizoctonia solani*, *Sclerotinium scleroitorum* con síntomas de marchitamiento y efecto en tallo y raíz. La *Septoria stevieae* y *Alternaría alternata* que se presentan manchas necróticas principalmente en las hojas. Las *Colletotrichum sp.*, *Curvalaria sp* y *Botriodiploidia* ocasionan ennegrecimiento en los tallos. (Megeji *et al.* 2005; Kamalakannan *et al.* 2007). La pudrición de la raíz “por exceso de agua” presenta síntomas de amarillamiento y caída de hojas por la presencia de hongo y/o micelio en el cuello del tallo expandiéndose a la raíz lo que ocasiona la muerte de la planta (Yadav *et al.*, 2011). Importante recalcar que dentro de este grupo de hongos la *Septoria* y la *Alternaría alternata* se confunden, como se explica a continuación.

3.2.6.1 La septoria o mancha foliar

La *Septoria (Septoria steviae)* se distribuyen en diversas partes del mundo, donde las condiciones de temperatura y humedad relativa son elevadas, por ejemplo, lluvias prolongadas puede ocasionar infección en el cultivo (Hastoy *et al.*, 2019). La mancha necrótica afecta en un primer momento el área basal, posteriormente avanza en la parte superior de la planta ocasionando su muerte (Koehler *et al.*, 2019). Puede hibernar en restos de cultivo y los conidios se diseminan con la acción del viento y la lluvia, al entrar en contacto en la hoja las esporas penetran en las estomas, después de seis días de inoculación se manifiestan los síntomas antes mencionados. La presencia de altas poblaciones de este hongo se puede controlar con fungicidas cúpricos. Para prevenir esta enfermedad se recomienda utilizar herramientas limpias y realizar rotación de

cultivos para romper el ciclo biológico de la enfermedad (Cassacia., 2016; Yadav *et al.*, 2011).

3.2.6.2 Alternaría o Mancha foliar

La mancha foliar alternaria (*Alternaría alternata*) se confunde con la septoria debido a que ambos pueden encontrarse en sitios de temperatura y humedad relativa alta, de igual forma los síntomas se manifiestan en hojas basales con manchas foliares de color marrón claro, aunque al final se torna negro con un anillo concéntrico (Meena *et al.*, 2017). Este hongo presenta conidióforos oscuros y septados en el área concéntrica afectada, con una cadena de conidios ramificados semejante a la raqueta de tenis (Prakash & Arora, 2021).

3.3 Nutrientes esenciales

Los nutrientes esenciales que forman parte de la estructura y metabolismo de la planta, están clasificados en criterios de esencialidad, con base en tres aspectos. El primero es la presencia en todos los vegetales, el segundo es que éstos no pueden ser sustituidos por otros elementos y, el tercero la deficiencia de uno de los nutrientes provoca alteraciones en la fisiología y la morfología de la planta. Los nutrientes se clasifican en macronutrientes y micronutrientes, el primero de ellos se subdivide en macronutrientes primarios, entre ellos está el nitrógeno, fósforo y potasio y macronutrientes secundarios, en este grupo se encuentran el calcio, magnesio y azufre, ambos se caracterizan por la mayor concentración en las plantas cultivadas (White *et al.*, 2014). Por otro lado, están los micronutrientes: el boro, hierro, manganeso, cobre,

molibdeno y zinc necesarios en pequeñas cantidades para que la planta pueda expresar el máximo potencial (White *et al.*, 2014).

3.3.1 Importancia de los elementos esenciales en la producción de stevia

El nitrógeno (N), elemento de mayor concentración y demanda en las plantas cultivadas, forma parte de las proteínas, ácidos orgánicos esenciales, enzimas, aminoácidos, ácidos nucleicos, clorofilas, vitaminas y minerales. Participa en el proceso metabólico y fisiológico. La deficiencia de este elemento se manifiesta en hojas viejas con presencia de clorosis general, disminuye la ramificación y formación de semillas (Aladakatti *et al.*, 2012).

El fósforo (P) es el segundo elemento de importancia para el crecimiento y desarrollo de las plantas. Este es fundamental en el proceso de fotosíntesis, en el transporte de energía química, por ejemplo, el adenosin trifosfato (ATP), componente fundamental del ADN y ARN. Para la stevia es esencial en la síntesis de glucósidos de diterpeno, a través del glucofostato denominado Uridin Difosfato de glucosa (UDP-glc). La deficiencia de este elemento presenta síntomas de color púrpura que afectan el crecimiento y desarrollo de la planta (López *et al.*, 2020; Tadesse, 2019).

El potasio (K) es un activador enzimático en la fotosíntesis y la respiración, participa de manera directa en la actividad osmótica de las células y transferencia de energía. El K, también es importante en el crecimiento de la planta ya que contribuye en la supervivencia por estrés biótico y abiótico, la deficiencia de este elemento presenta

menor crecimiento en las ramas ya que afecta la capacidad fotosintética (Maniruzzaman *et al.*, 2017; Inugraha *et al.*, 2014).

El calcio (Ca) es un enlazador de los fosfolípidos, importante para la función de la membrana citoplasmática, se encuentra en mayor concentración en las vacuolas centrales y en la pared celular como pectatos. En el citosol el Ca forma proteínas de calmodulina, además, funciona como segundo mensajero en la respuesta a señales hormonales y posible presencia de ataques externos originados por plagas. La deficiencia de Ca en la planta de stevia ocasiona necrosis apical y muerte descendiente de la planta. Las ramas o brotes nuevos son quebradizos y las raíces disminuyen en longitud y grosor (Poothong *et al.*, 2018).

El magnesio (Mg) es importante en la clorofila, participa en la fosforilación para la formación de glucósidos de esteviol, a través de la fosforilación de AMV formando isopentenil pirofosfato (IPP), en este mismo proceso participa como cofactor de la enzima, catalizando la formación de farnecil pirofosfato (Fpp) y activando también las enzimas de la fotosíntesis, respiración y formación de ADN y ARN (Jarma *et al.*, 2010).

El azufre (S) se encuentra principalmente en proteínas y aminoácidos. La metionina, biotina y la coenzima A, son esenciales en la síntesis de glucósidos de diterpenos. La deficiencia de S en la stevia puede ocasionar menor contenido de esteviosidos ocasionando síntomas de clorosis y reducción en el número de hojas nuevas.

La deficiencia o exceso de Boro (B) afecta el proceso de fotosíntesis, esta respuesta puede variar de acuerdo a cada especie vegetal por lo que es preciso mencionar que en el rango de concentración de 5 a 300 mg kg⁻¹ de MS, la deficiencia de B ocasiona el crecimiento menor y alargamiento anormal de la punta de la raíz e influyen en la inhibición del ADN y ARN disminución de la división celular del ápice y hojas jóvenes (Genaidy *et al.*, 2020; Moreno *et al.*, 2016).

El hierro (Fe) es esencial para algunas proteínas y enzimas, por ejemplo, el grupo hemo, o leghemoglobinas catalizan la reacción $\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \frac{1}{2}\text{O}_2$ detoxifica el peróxido de hidrogeno importante en la fotorespiración y en situaciones de estrés, evitando así, la oxidación completa de las células. La deficiencia de este elemento en el cloroplasto reduce la síntesis de proteínas (Baroni-nezhad *et al.*, 2021).

La función del Manganeso (Mn) es mantener la estructura del sistema de la membrana, ayuda a la disociación fotosintética del agua, activa diferentes enzimas como el superoxido dismutasa, provee protección de los radicales libres; asimismo, participa como cofactor prenil transferasas, geranil pirofosfato sintasa y geranilgeranil pirofosfato sintasa que están involucrados en el alargamiento de la cadena de ruta de síntesis de glucósidos de esteviol, la deficiencia de manganeso causa desorden en las membranas tilacoidales (Cockson *et al.*, 2021).

El Zinc (Zn) produce reducción en el crecimiento de las hojas jóvenes y entrenudos del tallo. Las hojas presentan distorsiones en el borde y pliegues. El retraso en el crecimiento de las plantas se debe a la falta de producción de ácido indol-acético,

actualmente se conocen 80 enzimas que contienen Zn^{2+} como parte de proteínas activas de transcripción de ADN (Kumar Maurya & Kumar Garg, 2020).

La ausencia de cobre (Cu) en hojas jóvenes presenta color verde oscuro arrugadas o deformes con manchas necróticas. En forma iónico es altamente tóxica. Este elemento está presente en diversas enzimas y proteínas principalmente en los procesos de oxidación y reducción, y participa en el proceso de lignificación de la pared celular. Dentro de los más importantes están el citocromo oxidasa, enzima presente en las mitocondrias y la plastocianina, proteína de los cloroplastos necesario en la fijación de nitrógeno (Davarpanah *et al.*, 2016).

3.3.2 Manejo de la Fertilización

La planta de stevia en condiciones silvestres compete con diferentes especies y está demostrado que crece como cualquier arvense dentro de su hábitat de origen, bajo estas condiciones de crecimiento se ha documentado que la stevia es de fertilización baja a moderada. Los requerimientos nutricionales dependen de las condiciones edafoclimáticas del lugar, lo cual requiere de un previo análisis del suelo o del sustrato a ocupar para establecer el cultivo (Mérillon & Ramawat, 2018). El nitrógeno es uno de los elementos indispensables para el crecimiento y desarrollo de la stevia, y se recomienda distribuirlo en las diferentes etapas fenológicas del cultivo (Ramírez & Lozano, 2018).

3.4 Definición de sustrato

Un sustrato es un material sólido natural, de síntesis residual, mineral u orgánico, puro o en mezcla, empleado para reemplazar al suelo en el cultivo de planta en contenedor, también es un medio donde se deposita la semilla que sirve de anclaje del sistema radical y de soporte para la planta, pudiendo intervenir o no en el proceso de nutrición mineral del mismo (A'saf *et al.*, 2020; Zulfiqar *et al.*, 2019; Raviv *et al.*, 2017; Martínez y Soriano, 2013).

3.4.1 Tipos de sustratos y manejo

Los sustratos pueden ser de diferente procedencia y por su naturaleza se clasifican en orgánicos o químicamente activos e inorgánicos o inertes, siendo el primero un material de origen natural, que se caracteriza por proveer pequeñas cantidades de nutrientes a las plantas, estos materiales son producto del proceso de descomposición por microorganismos y por factores climáticos, dentro de este grupo están; la turba, fibra de coco, bio-carbón, corteza, aserrín, composta, vermicomposta, entre otros materiales.

Un sustrato inorgánico es producto de la reacción química o de la intemperización de minerales que actúa como soporte de la planta y no intervienen en el proceso de adsorción y fijación de nutrientes. por lo anterior, es imprescindible aplicar fertilizantes y, conocer el pH y la conductividad eléctrica, entre los sustratos con estas características se encuentran; la arena, roca volcánica, toba, gránulos de arcilla expandida, zeolita y piedra pómez, aunque también se pueden encontrar materiales industrializados como la perlita, vermiculita entre otros polímeros (Martínez y Soriano, 2013). Es importante

destacar que una buena mezcla de sustratos orgánicos e inorgánicos debe cumplir con las características indicadas en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Características físicas y químicas de un buen sustrato

Propiedades	Rango de valores
Tamaño de partícula (mm)	0.25-2.50
Densidad aparente (g cm ³)	<0.75
Espacio poroso total (% vol)	>85
Capacidad de aireación	20-30
Agua fácilmente disponible	20-30
Agua de reserva	4-10
Agua total disponible	24-40
Contracción	<30
pH (extracto de saturación)	5.2-6.5
Conductividad eléctrica	0.75-3.5
CIC fertirriego permanente	nula o muy baja

(Abad *et al.*, 1993; Baudoin *et al.*, 2002).

Los sustratos en comparación con suelos agrícolas, presentan menor propagación de enfermedades en la raíz, permite el mejor desarrollo radicular y por consiguiente mejor rendimiento, asimismo, evita el uso de agroquímicos tóxicos para las enfermedades, garantiza el crecimiento de plantas sanas y libres de enfermedades (Sebastián & Díaz, 2020; Gruda, 2019). Para elegir un sustrato es imprescindible que cumplan con los requisitos antes mencionados.

El tezontle es una materia de roca ígnea extrusiva de origen volcánico (escoria volcánica) por enfriamiento de lava y está compuesto por silicatos de aluminio. Con un

color de roja a naranja y de gris a negro. Presenta alta porosidad y área superficial, buena aireación y pH cercano a la neutralidad. Por su naturaleza existen varios tipos de tezontle que se diferencia por su viscosidad, color y contenido de Fe, Mn, Ca y Mg, que dependen del contenido de sílice presente en la roca y la temperatura de erupción. El sustrato de tezontle se somete a un proceso industrial de trituración para obtener la granulometría adecuada. Por el método de fricción pierde ángulo y arista y adquiere la forma redonda de un rango de 2-50 mm, presenta textura porosa (vesicular) lo que lo hace un material ligero, con buen drenaje (Raviv *et al.*, 2002).

La fibra de coco es el mesocarpio de la corteza del *Cocos nucifera* L. y se ocupa como sustituto de la turba o minerales. Según el origen y el manejo industrial pueden variar sus propiedades físicas y químicas, presenta alta capacidad de retención de humedad y buena aireación y drenaje, además tiene un pH ligeramente neutro o superior debido al origen del material y presenta alta capacidad de intercambio catiónico (Gohardoust *et al.*, 2020, Londra, 2012).

3.5 Expresiones estructurales del esteviosido

La stevia contiene aproximadamente 100 componentes naturales de glucósidos de esteviol o esteviosido. El glucósido de steviol presenta una estructura de éster (β -D glucopiranosílico del ácido 13-oxi-kaur-16-en-19-oico) los residuos de glucósido están unidos a la aglicona de esteviol, por lo que posee un esqueleto ciclopentano-hidrofenantreno (Lemus-Mondaca *et al.*, 2012).

3.5.1 Glucósidos de esteviol

Existen cien glucósidos de esteviol los cuales presentan diferentes dulzores de acuerdo a diferentes concentraciones de glucósidos. Por lo general de forma natural, libera un ligero sabor amargo. Asimismo, el contenido de edulcorantes de glucósidos de esteviol es mayor respecto a la sacarosa. Los glucósidos de esteviol como los rebaudiosidos tienen diferentes concentraciones de dulzor, el rebaudiosido A (250 a 450), el rebaudiosido B (300 a 350), el rebaudiosido C (20 a 120) el rebaudiosido D (250 a 450) y el rebaudiosido E (150 a 350) veces más dulces que la sacarosa (Gupta *et al.*, 2016).

3.5.2 Concentración de los glucósidos de esteviol

Según Yadav y Guleria (2012), la concentración de los glucósidos de esteviol puede variar debido a varios factores como a la altitud, el clima y el manejo agronómico, además de la presencias de plagas y enfermedades. Villalba (2015) evaluó la variedad Eirete con sustratos orgánicos de gallinaza y lombricompost, observó mejor respuesta de esteviosido en sustratos de lombricompost (7.6%). Mientras que al determinar rebaudiosido A no se mostraron diferencias (Villalba *et al.*, 2018).

Cuadro 2. Determinación de glucósidos en *Stevia rebaudiana* Bertoni Morita II

	(Yadav & Guleria, 2012)	(Villaba <i>et al.</i> , 2015)	(Hoseini <i>et al.</i> , 2021) %	(Magangana <i>et al.</i> , 2021)
Esteviósideo	4-14	4-7.6	15.13 y 13.56	1.48
Rebaudiósido A	2-4	4.2-4.5	3.52 y 3.18	0.61
Rebaudiósido C	1-2		1.02 y 0.93	-
Dulcósido A	0.4-0.7		0.53 y 0.36	-
Rebaudiósido D, E, F	>0.4		0.42 y 0.70	-

Del Cuadro 2 se observa que la dinámica de concentración de steviosido en las diferentes etapas fenológicas del cultivo de stevia puede ser debido a diferentes factores de manejo, siendo mayor la concentración en la etapa vegetativa, antes de la floración (15.13%) y menor en la etapa reproductiva (13.56%) (Hoseini *et al.*, 2021). Por su parte Magangana *et al.*, (2021) evaluaron el cultivar TS2100 y encontraron esteviosido y rebaudiosido A con valores muy bajos (1.48% y 0.61 %).

3.5.3 Otras propiedades

La stevia contiene alcaloides, saponinas, esteroides y triterpenos, proteínas y carbohidratos, lípidos y aminoácidos esenciales y vitaminas (Yadav & Guleria, 2012), estas propiedades la coloca como un producto con alto valor en la industria alimentaria y farmacéutica.

3.6 Propiedades nutraceuticas de la hoja de stevia

Debido a la gran cantidad de metabolitos secundarios como los fenoles, taninos y flavonoides, así como a la actividad antioxidante de la hoja de stevia, diversos estudios han reportado que estos compuestos están implicados en la prevención de enfermedades crónicas (Garcia-Mier *et al.*, 2021). De lo anterior, esta planta representa una oportunidad para mejorar la dieta por ser excelente edulcorante natural, además provee una serie de beneficios para la salud, por ejemplo, puede ser un excelente antiinflamatorio, anticancerígeno, antihipertensivo, antidiabético, antioxidante, antimicrobiano y antiviral, a su vez presenta beneficios para el riñón y el hígado, importante mencionar que la raíz es el órgano que no contiene glucósidos (Latarissa *et al.*, 2020; Ahmad *et al.*, 2020; Rojas *et al.*, 2018).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Localización del experimento

La investigación se realizó en las instalaciones del Colegio de Postgraduados, Montecillo (Texcoco), Estado de México, del 1 de agosto al 7 de diciembre de 2020, geográficamente se ubica en 19° 29' LN y 98° 53' LO. La zona presenta un clima C(wo)(w)b, que corresponde la categoría de templado subhúmedo con lluvias en verano, precipitación media anual de 686 mm, temperatura media anual de 16°C (temperatura para el mes más frío -3 y 18°C), evaporación media anual de 1400 mm y humedad relativa media anual ligeramente superior al 60% y una altitud de 2215 m (García, 1981).

4.2 Sustrato

El sustrato empleado para la siembra de plántulas en vivero fueron agrolita-peatmoss (2:1). Para la siembra de las mismas en macetas se ocupó una mezcla tezontle-fibra de coco en una relación 1:1.

4.3 Propiedades físicas del sustrato tezontle-fibra de coco

El sustrato tezontle-fibra de coco fueron analizados en el Laboratorio de Física de Suelos del Colegio de Postgraduados, Campus montecillo. Se tomaron muestras para determinar si cumplían con los requerimientos para establecer el experimento y conocer la variabilidad de sus propiedades, para ello se determinaron: densidad aparente (DAP), porosidad de aireación (PA), porosidad total (PT), capacidad de retención de humedad

(CRH) y agua fácilmente disponible (AFD) por la técnica de Ansorena (1994) y se estimó la curva de liberación del agua por el método de De Boodt *et al.* (1974).

4.4 Preparación de las soluciones nutritivas

Para preparar la solución nutritiva se ocuparon fertilizantes de la marca Haifa de alto grado de solubilidad para cultivos en hidroponía. En el Cuadro 3 se muestran los compuestos químicos empleados, así como los tratamientos a probar.

Cuadro 3. Concentraciones de las soluciones nutritivas para el cultivo de *Stevia rebaudiana* Bertoni Morita II

Fertilizante	Soluciones nutritivas (%)			
	25	50	75	100
	g L ⁻¹			
Ca(NO ₃) ₂ 4H ₂ O	0.22	0.45	0.68	0.91
KNO ₃	0.10	0.20	0.30	0.40
K ₂ SO ₄	0.03	0.07	0.11	0.14
Mg SO ₄ 7H ₂ O	0.05	0.11	0.17	0.23
KH ₂ PO ₂	0.03	0.06	0.10	0.13

Para las cuatro soluciones nutritivas que se prepararon se realizaron ajustes considerando los resultados del análisis de agua de pozo del campo experimental (0.23 meq L⁻¹ de NO₃, 0.84 meq L⁻¹ de azufre, 0.25 meq L⁻¹ de potasio, 1.26 meq L⁻¹ de calcio y 2.06 meq L⁻¹ de magnesio). Para regular el pH de las soluciones preparadas se ajustaron con H₂SO₄ 1N, en un rango de 5.6-6.5 con un potenciómetro de la marca

Hanna. Así mismo, se determinaron la conductividad eléctrica (CE) reportando; 1.26, 1.76, 2.28 y 2.78 dS m⁻¹ y con una presión osmótica (atm) de 0.45, 0.63, 0.82 y 1.00 para cada solución nutritiva.

A todos los tratamientos se les adicionaron micronutrientes quelatados EDTA de la marca Tradecorp AZ, éstos en la misma proporción en cada uno de los tratamientos (Cuadro 4).

Cuadro 4. Micronutrientes aplicados en la solución nutritiva*

Micronutrientes					
Hierro	Manganeso	Zinc	Cobre	Boro	Molibdeno
g					
0.15	0.07	0.014	0.0056	0.013	0.0052

*gramos en 50 litros

4.5 Selección de esquejes de stevia

Los esquejes de la *Stevia rebaudiana* variedad morita II se obtuvieron en un huerto de Tulancingo, Hidalgo. Se seleccionaron las plantas con mejor porte, hojas sin daños de plagas y enfermedades, ápice frondoso y ramas con mejor vigor, para garantizar plántulas de buena calidad.

4.6 Siembra de plántulas en charola

El primero de agosto del 2020 se sembraron los esquejes en un sustrato agrolita-peatmoss (2:1). A cada esqueje se les quitaron las hojas basales, dejando dos a tres entrenudos de hojas apicales, éstos se sumergieron en un enraizador radix 10,000 y se

sembraron en charolas de 50 cavidades de 110 mL de capacidad de cada orificio. Las charolas se regaron a capacidad de campo durante dos semanas para garantizar la formación de raíces.

A los 30 días las plántulas se podaron para romper la dominancia apical y estimular el brote de ramas secundarias. Las plántulas se regaron con una solución nutritiva al 10% durante una semana y posteriormente con una solución nutritiva al 25% hasta sembrar en macetas.

4.7 Manejo del cultivo

Las plántulas de stevia se trasplantaron en macetas a los 45 días, con una altura promedio de 8 cm (Figura 2), en un sustrato tezontle-fibra de coco 1:1 con pH de 6.68 y conductividad eléctrica de 0.65 dS m⁻¹. Los sustratos se colocaron en bolsas de polietileno de 25 cm x 30 cm. Durante el manejo del sustrato se ajustó el pH en un rango de 5.5 a 6.5, cada 15 días se lavó la maceta con agua destilada para evitar acumulación de sales.

Un día antes de la siembra de las plántulas, las macetas se mantuvieron a capacidad de campo. En los primeros días después del trasplante (rebrote) se regaron con 50 mL de solución nutritiva, en el segundo etapa fenológica con 75 mL ramas primarias y secundarias y finalmente en la tercera etapa (floración) se le aplicó 150 mL.



Figura 2. Plantas de stevia en charolas izquierda en paréntesis, siembra de stevia en macetas (medio) y diseño en fajas (derecha)

4.8 Diseño experimental y muestreo stevia

Los tratamientos se distribuyeron en un diseño de fajas (Martínez, 1987), donde cada faja corresponde al tratamiento de la solución de nutritiva, con un total de 24 repeticiones en cada tratamiento, siendo la unidad experimental una maceta de 25 cm de alto x 30 cm de ancho con volumen de sustrato/bolsa de 4953.59 cm³. Se realizaron tres muestreos destructivos a los 60, 75 y 90 días, desde la plantación hasta la cosecha, de raíz, tallo y hojas. En cada muestreo se eligieron 8 macetas al azar.

4.9 Variables a evaluar

En cada muestreo destructivo de stevia se determinaron; materia seca total, altura de la stevia en cada corte, número de ramas, peso seco de las ramas, peso seco de la raíz, longitud de la raíz, volumen de la raíz, así como la determinación de macro y micronutrientes en las hojas de stevia.

4.10 Manejo de las muestras de stevia

En cada uno de los cortes se separaron tallo, hoja y raíz. Las muestras se lavaron, primero con agua de la llave para quitar el polvo, posteriormente con agua destilada, se determinaron peso fresco y se secaron en una estufa de circulación de aire forzado a 70 °C \pm 2 hasta peso constante. Las muestras secas, se molieron en un molino Willey de acero inoxidable. Se tamizaron en un tamiz número 40, se homogeneizaron y se almacenaron las muestras previamente etiquetadas.

4.11 Análisis químico de hojas de stevia

En el tejido vegetal (hojas) se determinaron: N por el método Kjeldahl, y K, Ca, Mg y micronutrientes Cu, Fe, Mn, Zn, previa digestión húmeda con HNO₃-H₂O₂ 4:1 (Westerman *et al.*, 1990), cuantificados en un espectrofotómetro de absorción atómica (Modelo Liberty Serie II Secuencial, Marca Varian^R, Alemania). El fósforo se determinó por colorimetría.

4.12 Control de calidad de las muestras

Se analizaron muestras por duplicados con sus respectivos blancos y el material de control de calidad (MCC) de hojas de frijol del laboratorio de Fertilidad de Suelos y Química Ambiental del Colegio de Postgraduados, ésta con la finalidad de garantizar la calidad de los datos analíticos e identificar los errores cometidos durante el análisis.

4.13 Evapotranspiración potencial y riego aplicado

De los datos de temperatura máxima y temperatura mínima diaria obtenido en la estación meteorológica montecillo del monitoreo ambiental de la ciudad de México, se ajustaron a través de un modelo matemático $y=2.0976x-10.096$ $r^2= 0.95211$ previamente calculado por el sensor Avanty donde las temperaturas registradas fueron de 41°C Y 3.7°C y con ello se determinaron la evapotranspiración potencial con la siguiente formula:

$$ETP = \frac{\text{Coeficiente} \frac{T_m}{100 - Lat} + 15(T - T_d)}{80 - T}$$

Donde:

Coeficiente = 500 para la evapotranspiración potencial y 700 para la evaporación

$$(T-T_d) = 0.0023 H + 0.37 T + 0.53R + 0.35Ra - 10.9$$

$$T_m = T_{max} + 0.006H$$

H = altitud en metros

T = temperatura media (grados centígrados) mensual o diaria

R = Oscilación térmica mensual o diaria

Ra = Oscilación térmica anual

4.14 Grados días de desarrollo

Para estimar el desarrollo fenológico del cultivo se ocuparon los mismos datos de temperatura máxima y mínima se determinó GDD con la siguiente formula:

$$GDD = \frac{TMAX + TMIN}{2} - TBASE$$

GDD: Grados días de desarrollo

TMAX: Temperatura máxima

TMIN: Temperatura mínima

TBASE: Temperatura base (15°C)

4.15 Manejo del agua

En cada una de las macetas se realizó un riego localizado con 50, 75 y 150 ml de agua distribuidos en los diferentes periodos de corte, respectivamente, es preciso mencionar que en días nublados no se aplicó riego debido a la nula evaporación. La cantidad aplicada de agua aplicada se ajustó con el método Linacre para cerciorar su manejo.

4.16 Análisis de los datos

La información se analizó mediante regresión, con el programa SAS, siguiendo el siguiente procedimiento: (1) Se calcularon las medias de las concentraciones nutrimentales de N, P, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Cu y Zn en las hojas para las fechas de corte y los porcentajes de solución Steiner del riego, y con los datos de las concentraciones se estableció la gráfica de la relación entre la concentración nutrimental versus la fecha de corte y el porcentaje de la solución Steiner; (2). Con base en las gráficas obtenidas, se especificó un modelo de regresión según la forma de la relación entre las concentraciones nutrimentales y la fecha de corte y los porcentajes de la solución Steiner; (3) Para la regresión se consideró el procedimiento PROC REG, pidiendo las gráficas de los residuos versus la fecha de corte y el porcentaje de solución Steiner, a fin de observar si el modelo especificado era correcto, en caso contrario se especificaba un modelo diferente, paralelamente con la opción R INFLUENCE se observaba la posible presencia de puntos aberrantes, lo cuales, de ser el caso, se eliminaban ($p=0.01$); (4) Las repeticiones se incluyeron mediante variables auxiliares; (5) El mejor modelo fue aquel con menor cuadrado medio del error, y que fuese interpretable. Este mismo procedimiento se ocupó para analizar las variables morfológicas.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN GENERAL

5.1 Características físicas del sustrato tezontle-fibra de coco

Los sustratos que se emplearon en el experimento presentaron las siguientes características físicas: densidad aparente de 0.66 g cm^{-3} , esto indica que es un sustrato ideal ya que se encuentra en el rango óptimo de 0.55 a 0.75 g cm^{-3} , aunque también para un sustrato hortícola es recomendable una densidad aparente $<0.55 \text{ g cm}^{-3}$. En cuanto a porosidad total presento un 77% ideal para un sustrato hortícola ya que debe estar entre 70-85%, lo cual indica que cumple con estos requisitos, esta característica favorece el libre drenaje, pero con riego frecuente ya que disminuye la retención de humedad; por otro lado, la porosidad de aireación es de 39%, es decir los espacios libres después del drenaje están en un rango ideal para el crecimiento de las raíces. Mientras que el porcentaje de retención de humedad registro el 38%, ligeramente bajo del rango ideal 50 a 60% para sustratos hortícolas, aunque es preciso mencionar que, la stevia prefiere suelos con baja retención de humedad debido a las características particulares del cultivo (Abad *et al.*, 2004; Pire y Pereira, 2003).

Por otro lado, la granulometría presentó un índice de grosor de 63.3 y diámetro medio ponderado de 3.6 mm, esto indica que el tamaño de las partículas es intermedio. Finalmente, la curva de retención del agua se midió cada 48 h durante seis días a través de 10, 50 y 100 cm de tensión determinando las siguientes variables; agua no disponible 2, agua fácilmente disponible 3, agua de reserva 2, y agua difícilmente disponible con logaritmo del potencial hídrico (pF) de 3 valor prácticos para el riego (De Boodt, 1972).

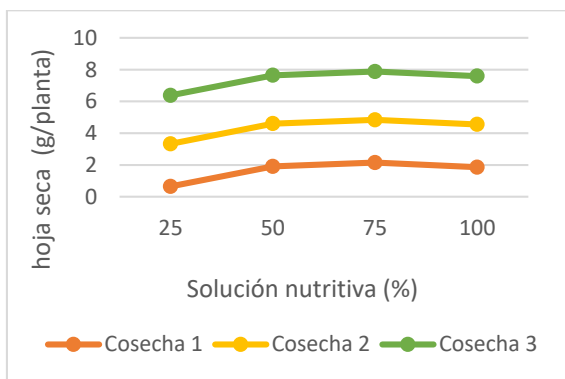
5.2 Variables agronómicas en el cultivo de Stevia

Los resultados de las variables agronómicas se muestran en la Figura 3. En (a) se observa que los rendimientos en g MS planta⁻¹ de la stevia fueron semejantes en las diferentes fechas de cosecha vs concentraciones de solución nutritiva (SN), aunque numéricamente se observó un aumento de g MS planta⁻¹ al transcurrir los días de cosecha (60, 75 y 90 Ddt). Los resultados ilustrados coinciden con lo que reportaron Gomes *et al.* (2018), quienes a los 75 días después del trasplante encontraron 5.46 g MS planta⁻¹, ellos mismos reportaron 9.74 número de ramas con una altura promedio de 44.54 cm.

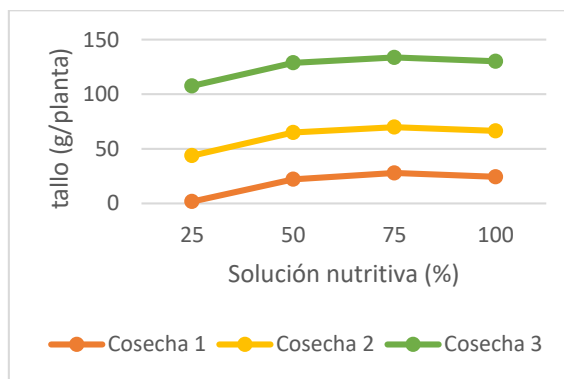
Javed *et al.* (2017) evaluaron en cultivo *in vitro* de stevia con 1 mg L⁻¹ de ZnO estimaron 0.44 g MS planta⁻¹, en contraste con 1000 mg L⁻¹ de ZnO con 0.07 g MS planta⁻¹ esto demuestra que altas dosis de algunos nutrimentos pueden ser fitotóxicos para el cultivo de stevia o en su caso puede existir cierto antagonismo entre algunos nutrimentos lo que dificulta su disponibilidad (Javed *et al.*, 2017). De lo anterior, Kumar *et al.* (2013) reportaron que esta especie en su hábitat natural requiere de nutrientes en concentración moderada lo que podría explicar la dinámica de respuesta encontrada en la presente investigación. Por otra parte, la stevia responde mejor al incrementar determinadas concentraciones de Zn y B, ya que encontraron 19.7 g Ms planta⁻¹ siendo el testigo con 15.85 g MS planta⁻¹ (Kumar Maurya & Kumar Garg, 2020).

En esta investigación al estimar los valores de g tallo planta⁻¹ (b), se presentó la misma dinámica que la variable g MS planta⁻¹, en la primera cosecha la SN de 25%

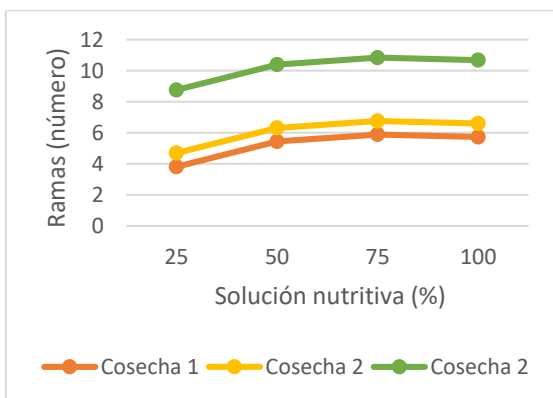
reporto valores inferiores, esto indica que la stevia a concentraciones bajas de minerales responde con menor g de tallo, la SN 75% fueron mayores en las tres fechas de corte, no así, al aumentar la SN al 100%.



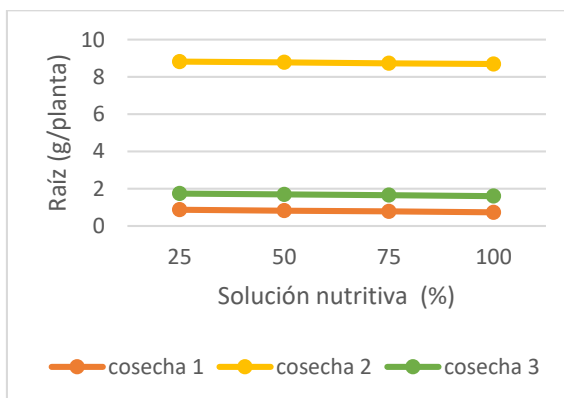
(a) Hoja = $-9.145 + 2.146C + 10.597T^{0.5} - 3.128T$
 CV= 3.918 %, R²= 0.724



(b) Tallo = $-138.485 + 9.291C + 10.893C^3 - 48.752T + 168.860T^{0.5}$
 CV= 46.571 %, R²= 0.676



(c) Ramas = $-2.640 - 3.925C + 1.600C^2 + 12.212T^{0.5} - 3.432T$
 CV=37.464 %, R²=0.439



(d) Raíz = $-22.093 + 30.529C - 7.523C^2$
 CV= 33.133 %, R²= 0.903

Dónde: C = cosecha 1, 2, 3, T = concentración de la solución nutritiva; CV= coeficiente de variación y R²= coeficiente de determinación.

Figura 3. Efecto de las concentraciones de solución nutritiva en *Stevia rebaudiana* Bertoni Morita II bajo invernadero en: (a) hoja seca, (b) tallo; (c) ramas y (d) raíz

En cuanto al número de ramas de stevia (c) en cada periodo de cosecha se presentó un ajuste cuadrático. Se observó que el aumentar la concentración de nutrientes no incidió en la formación de celulosa, los valores mínimos y máximos de la SN mostraron un menor número de ramas.

Esta misma tendencia encontraron Shirani *et al.* (2016) al evaluar fertilizante inorgánico de N, P₂O₅ y K₂O al 20% cada uno y micronutrientes de Cu y Zn de 0.01% cada uno y de Mg 0.1 g, en contraste con fertilizante orgánico de lixiviado de vermicomposta con N 1.3% , P₂O₅ 0.3%, K₂O 0.9%, Cu con 0.05%, Zn 0.09 % y Mg 0.18%, después de 60 días de transplante no se observaron diferencias significativas en altura, peso seco de la hoja y peso seco de la raíz.

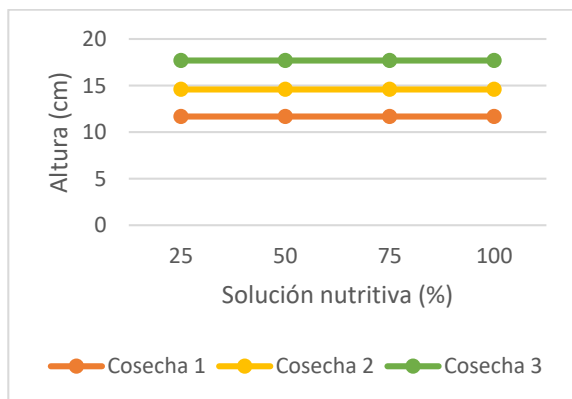
El modelo de ajuste de g de raíz planta⁻¹ fue cuadrático (Figura 3 (d)). Al aumentar la concentración de la SN no incidió en el aumento de g raíz planta⁻¹, esta dinámica se repitió en las tres fechas de cosecha, mencionar que, la cosecha tres disminuyó los g de raíz planta⁻¹ respecto a las SN de 25% y 100% (1.74 g a 1.60 g); similar tendencia se observó al estimar la longitud de la raíz (cm) donde la SN al 25% y 100% presentaron valores en la cosecha 1 (22.05 cm a 19.4 cm), cosecha 2 (36.63 cm a 33.98 cm) y la cosecha 3 (35.26 cm a 32.62 cm). Esta respuesta se fortalece en la variable de volumen radical (mL) con un ajuste lineal en el modelo, la SN no incidió en la exploración de la raíz (Figura 4c), aunque numéricamente la longitud de la raíz siempre fue mayor en la SN al 25%.

Se puede decir que a menor concentración de nutrientes existen mayor crecimiento de la raíz, esto es normal para las plantas cultivadas como una estrategia de sobrevivencia, a menor concentración de nutrientes la planta explora mayor volumen en el sustrato y a concentración óptima de nutrimentos la planta explora menor volumen en el sustrato. Shirani *et al.*, (2016); Liu *et al.*, (2011) al evaluar el vigor de la raíz con fertilizante orgánico y fertilizante químico, a los 60 días después del trasplante encontraron diferencias en la longitud de la raíz con 0.481 mg g^{-1} y 0.425 mg g^{-1} .

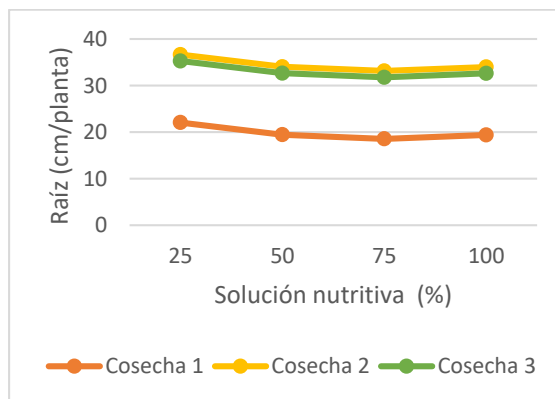
La altura de la planta de stevia presento un ajuste lineal y en la fecha de corte fue similar entre las diferentes SN (Figura 4a). Según Liu *et al.*, (2011) es normal para la stevia, ya que cuando evaluaron fertilizantes químicos y fertilizantes orgánicos reportaron altura de stevia semejantes en los cortes de 20, 40 y 60 días después del trasplante con valores de (10.2 cm y 12.3 cm), (18.5 y 21.8 cm) y (30.7 y 34.5 cm), respectivamente.

Por lo que Lara *et al.* (2018) al evaluar soluciones Steiner enriquecidas al 10 y 25 meq de amonio en cultivo de stevia en hidroponía, observaron que en los primeros 45 días la altura de la planta permaneció similar, pero al evaluar la cobertura de la hoja de stevia con 25 meq de amonio encontraron 17.1 % de mayor producción de hoja en contraste con el tratamiento sin amonio con 14.6% de producción de hoja, esto indica que la stevia en las primeras semanas de crecimiento, los nutrientes lo ocupan para formar mayor índice de área foliar y en menor proporción en el crecimiento en longitud de la planta, esta aseveración es propia de la mayoría de los cultivos a concentraciones

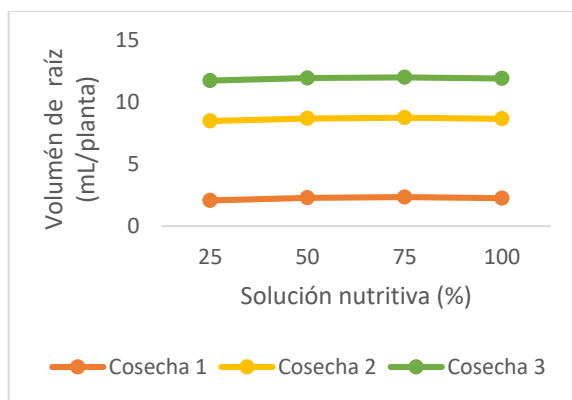
óptimas de nutrientes la cobertura foliar aumenta y mejora el rendimiento en producción de materia seca.



(a) $Altura = 8.953 + 2.622C$
 CV=14.74 %, $R^2 = 0.576$



(b) $Raíz = -4.166 + 38.533C - 7.982C^2 - 5.200T + 0.863T^2$
 CV=21.715 %, $R^2 = 0.686$



(c) $Vol Raíz = -7.863 + 11.142C - 1.577C^2$
 CV= 28.460 %, $R^2 = 0.791$

Dónde: C = cosecha 1, 2, 3, T = concentración de la solución nutritiva; CV= coeficiente de variación y R^2 = coeficiente de determinación.

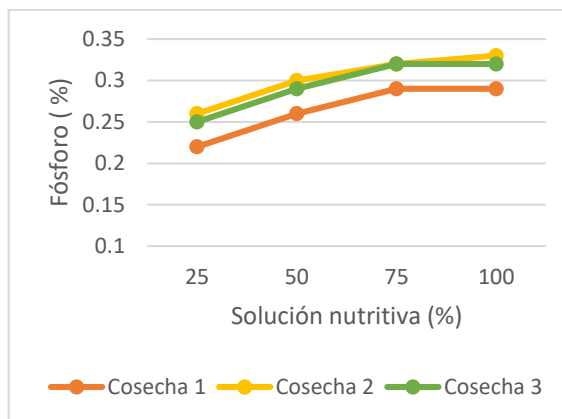
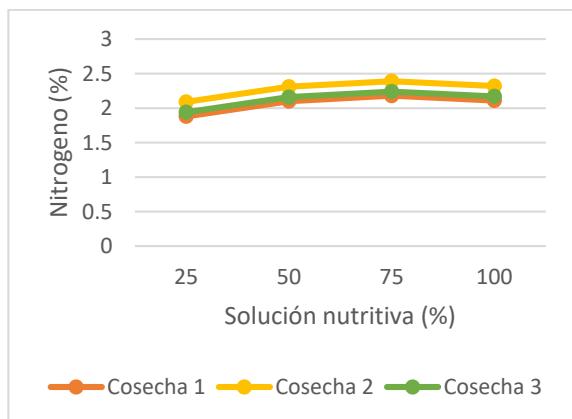
Figura 4. Efecto de concentraciones de solución nutritiva de la *Stevia rebaudiana* Bertoni Morita II bajo invernadero, en: (a) altura de planta, (b) longitud de la raíz y (c) volumen de raíz.

Como se puede apreciar en el Figura 3(a), fue semejante con la variable de g MS planta⁻¹ en los diferentes periodos de corte, aunque numéricamente la SN al 75% fue mejor respecto a las otras SN, lo mismo ocurrió con las otras variables de altura del tallo, peso del tallo y número de ramas. Por otro lado, la raíz mostro diferencias en longitud, pero sin efecto en la exploración del volumen de la raíz ni en peso seco de la raíz.

5.3 Concentración de macronutrientes en hojas de Stevia

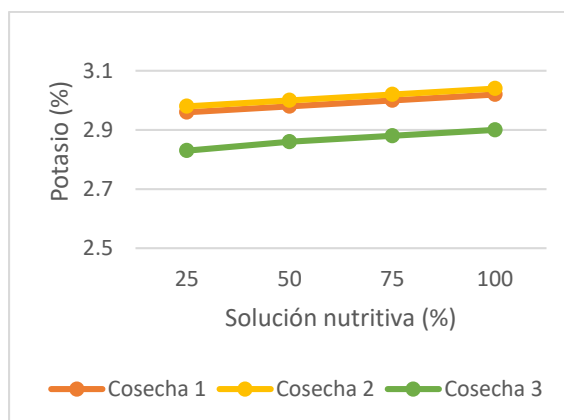
La concentración de N en las hojas de stevia, presentó un comportamiento dinámico, el primer corte de menor concentración, mientras que el segundo corte fue superior y en el tercer disminuyo la concentración de N. Por fechas de corte versus diferentes concentraciones de N, se observó que los puntos de inflexión en la gráfica se presentaron en la concentración de 75%, no así al aumentar la concentración de N (Figura 5a).

En la hoja de stevia, la concentración de N más baja (1.88%) se presentó en el primer corte y en la SN al 25%, varios autores mencionan que puede ser por el manejo del cultivo y principalmente por la cantidad de fertilizantes aplicados (Hossain *et al.*, 2017). Lo mismo reportaron Benhmimou *et al.* (2018) con 1.81% en contenido de nitrógeno de hojas secas al aplicar 300-100-240 kg ha⁻¹ de NPK. Por otra parte, Villalba y Oroa (2018) evaluaron tres variedades de Stevia AKHL1, EIRETE y KATURYPY y encontraron concentraciones de N (2.50, 2.86 y 3.09%, respectivamente) con valores altos.



a) $\text{Nitrógeno} = 0.936 + 0.754C - 0.181C^2 + 0.439T - 0.072T^2$
 CV=5.365 %, R²:0.633

b) $\text{Fósforo} = 0.085 + 0.099C - 0.021C^2 + 0.067T - 0.009T^2$
 CV=8.638 %, R²=0.655



c) $\text{Potasio} = 2.913 + 0.275C - 0.084C^2 - 0.021T$
 CV=3.628 %, R²=0.581

Dónde: C = cosecha 1, 2, 3, T= soluciones nutritivas, CV= coeficiente de variación y R²= coeficiente de determinación.

Figura 5. Efecto de concentraciones de la solución nutritiva en *Stevia rebaudiana* Bertoni Morita II en tres cortes para: a) nitrógeno (N); (b) fósforo (P) y (c) potasio (K).

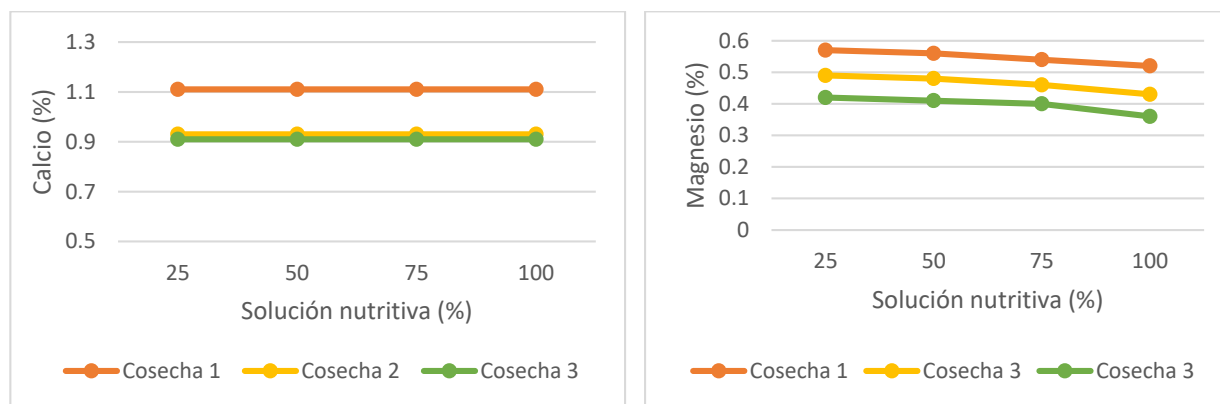
Al aumentar la concentración de nitrógeno al 100% no se reflejó mayor concentración en la hoja de stevia, podría ser que la stevia es poco demandante en nutrientes por la rusticidad que presenta, porque al evaluar en condiciones naturales los contenidos de nitrógeno en la hoja son inferiores (0.40%) a los valores encontrados.

La dinámica de fósforo durante el periodo de evaluación mostró la misma tendencia que el nitrógeno (Figura 5b), el valor mínimo encontrado se reportó en la SN al 25%. Ya que este elemento es fundamental en los diferentes procesos metabólicos por lo que a concentraciones bajas interfiere en la expresión del potencial productivo del cultivo Hossain *et al.* (2017). La concentración de fósforo en las plantas depende en gran medida de la solubilidad del fertilizante y del pH del sustrato, ya que este nutriente se encuentra en mayor disposición a pH entre 6 y 7.

Estos resultados coinciden con los que reportaron Villalba y Oroa (2018) quienes evaluaron diferentes variedades de stevia (AKHL1, EIRETE y KATUPYRY, concentraciones de P: 0.26, 0.23 y 0.24%, respectivamente). Por otra parte, Benhmimou *et al.* (2018) al aplicar de 300:150:80 kg ha⁻¹ de NPK encontraron concentración de 1.18% de fósforo en hoja seca.

En cuanto a la concentración de potasio estimado en el primero y segundo corte fueron similares (Figura 5c), no así en el tercer corte donde la concentración fue inferior respecto a las cosechas anteriores. Al analizar los valores por diferentes concentraciones de la solución a través de los diferentes periodos de cosecha (60, 75, 90 Ddt) la tendencia siempre fue positiva conforme aumento la concentración de este elemento. No así, al evaluar la concentración de potasio a través de los diferentes periodos de corte mostro una tendencia de u invertida. Benhmimou *et al.* (2018) reportaron valores inferiores que el presente trabajo por su parte Villalba y Oroa (2018) obtuvieron 2.40% a 2.80% de potasio de igual forma inferiores a los resultados de esta investigación.

El calcio en las hojas secas de stevia, en el primer corte reporto mayor concentración en las diferentes SN evaluadas, no así en los cortes dos y tres ya que disminuyeron considerablemente y fueron semejantes entre sí. Las diferentes SN no influyo en la concentración de este elemento, pudo haber sido porque la stevia es proveedor de este elemento.



a) $\text{Calcio} = 1.445 - 0.413C + 0.078C^2$
 CV= 9.102 %, $R^2 = 0.566$

b) $\text{Magnesio} = 0.635 - 0.071C$
 CV=9.337 %, $R^2 = 0.708$

Dónde: C = cosecha 1, 2, 3, T= soluciones nutritivas, CV= coeficiente de variación y R^2 = coeficiente de determinación.

Figura 6. Efecto de concentraciones de la solución nutritiva en *Stevia rebaudiana* Bertoni Morita II en tres cortes para: (a) calcio (Ca); y (b) magnesio (Mg).

La stevia en condiciones naturales presenta alta concentración de calcio por lo que al aumentar las concentraciones en las diferentes disoluciones es difícil que se manifieste un efecto positivo, además pueden que el antagonismo en algunos nutrimentos interfiera en la expresión (Ulugboev y Curbanov, 2020).

El magnesio presento una dinámica decreciente en los diferentes periodos de cosecha, en la primera cosecha fue mayor, no así en la segunda y tercera cosecha, la

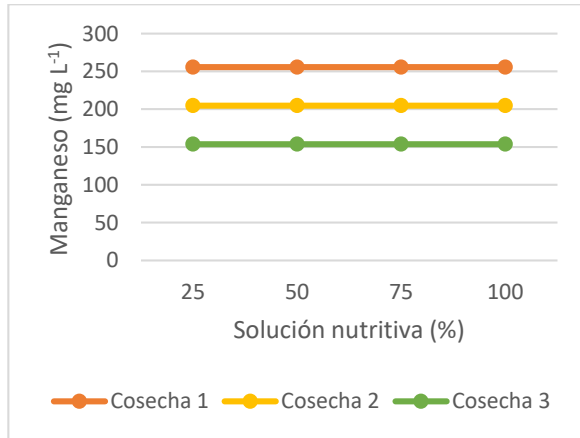
concentración de Mg fue disminuyendo. Además, las diferentes soluciones nutritivas no incidieron en los periodos de cosecha, la concentración de Mg estimado en las hojas fue similar. Este resultado es superior respecto a los que encontraron Villalba y Oroa (2018) con 0.24% de Mg en hoja seca.

5.4 Micronutrientes en hojas de stevia

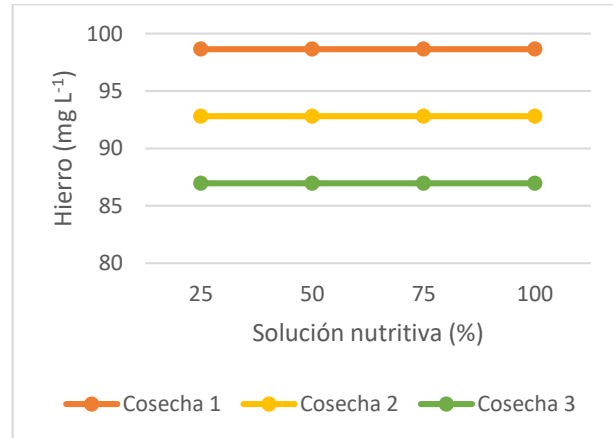
Los micronutrientes manganeso, hierro, cobre y zinc (Figura 7) presentaron similar dinámica, al avanzar los periodos de cosecha (60, 75, 90 Ddt) mostraron una tendencia de menor concentración, varios factores pudieron incidir, como la temperatura de la solución nutritiva que puede precipitar e inhibir la absorción de los nutrimentos, esto ocasiona que la raíz no pueda absorber los nutrimentos. La oscilación de la conductividad eléctrica siempre estuvo dentro de los rangos para que puedan ser absorbidos los nutrimentos. Se ha documentado que los micronutrientes pueden ser requeridos por la stevia en el siguiente orden Cu, Fe y Zn ya que aumentaron los contenidos de glucósidos en específico rebaudiosido A y Esteviosido. De lo anterior, los metales mencionados pueden ser requeridos en cantidades pequeñas para el crecimiento y desarrollo de la stevia, esta tendencia se observaron al evaluar macronutrientes solo comparado con macronutrientes enriquecido con micronutrientes y se corroboró lo que se mencionaron anteriormente (Baroni-nezhad *et al.*, 2021).

El rango óptimo del manganeso en cultivos superiores 10-100 ppm (Hajar *et al.*, 2014; Hänsch & Mendel, 2009) valores inferiores que los resultados de la presente investigación. Aunque (Villalba-Martínez & Oroa-Pfefferkorn, 2018) encontraron valores

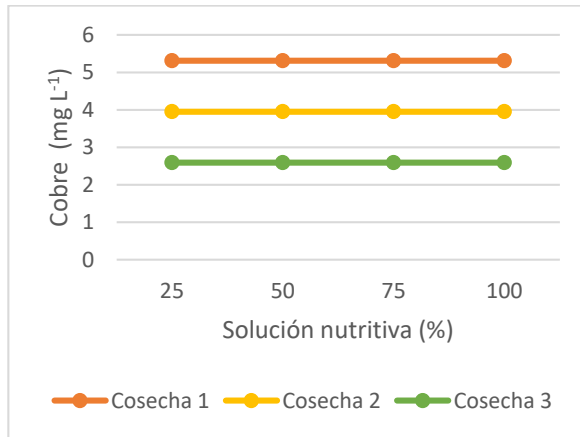
superiores en un rango de 130.2-140.3 %. Esta respuesta pudo ser debido a las condiciones edafoclimáticas, además la *Stevia rebaudiana* requiere de una baja concentración de micronutrientes.



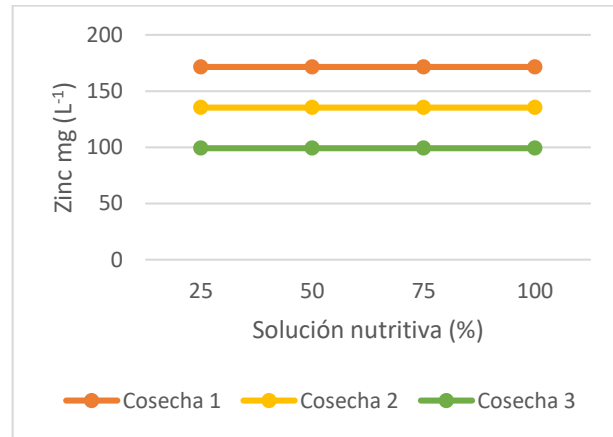
a) Mn= 306.501 -50.918C
CV=7.320 %, R²=0.894



b) Fe=103.498 -5.840C
CV= 18.499 %, R²=0.078



c) Cu=6.670 -1.362C
CV=49.048 %, R²=0.259



d) Zn=207.625 -36.127C
CV=25.333 %, R²=0.439

Dónde: C = cosecha 1, 2, 3, CV= coeficiente de variación % y R²= coeficiente de determinación

Figura 7. Efecto de concentraciones de la solución nutritiva en *Stevia rebaudiana* Bertoni Morita II en tres cosechas para: (a) manganeso (Mn); (b) hierro (Fe); (c) cobre (Cu); y (d) Zinc (Zn).

En plantas superiores el rango óptimo de Fe es de 50-150 ppm (Hänsch & Mendel, 2009), el presente trabajo está dentro del rango óptimo. Aunque (Villalba-Martínez & Oroa-Pfefferkorn, 2018) reportaron que las variedades criolla, katupiry y eirete presentaron valores superiores (134 a 136.5 %), asimismo, por encima del rango óptimo de las plantas superiores. Aunque (Ruiz *et al.*, 2015) reportaron concentraciones de 52.2 a 54.4 % respectivamente, un poco inferior a los resultados obtenidos.

La concentración de Cu ascendió conforme el periodo de cosecha avanzó (5.31 a 2.59 mg kg⁻¹), se ha documentado que el rango óptimo en plantas superiores están en un rango entre 3 y 20 ppm, es preciso mencionar que la concentración óptima puede cambiar en cada especie (Hänsch & Mendel, 2009).

El Zn es uno de los micro elementos que al pasar de las concentraciones óptimas en algunas plantas pueden ocasionar toxicidad (200 mg kg⁻¹) lo que ocasiona reducción en el crecimiento radicular, al transcurrir el periodo (60, 75, 90 Ddt) el elemento en cuestión mostró un decrecimiento (171.5 mg kg⁻¹ a 99.25 mg kg⁻¹). La concentración óptima según Hänsch & Mendel (2009) es de 15-50 ppm, aunque (Villalba-Martínez & Oroa-Pfefferkorn, 2018) encontraron en las variedades criolla, katupiry y eirete rangos de 38.3 a 50 % superior a los resultados arrojados en la presente investigación.

5.5 Correlación entre las variables fisiológicas de la stevia

El peso seco de la hoja presentó una correlación alta entre las variables tallo (g), altura (cm), raíz (ml) siendo las variables longitud de la raíz y peso de la raíz con buena correlación, por otra parte, al evaluar la correlación del tallo entre la altura y volumen

radical fueron determinantes, este mismo comportamiento se reflejó con el número de ramas en las plantas de stevia; asimismo, se observó que la altura el peso de la raíz y longitud de la raíz presentaron correlación alta con el volumen radical (Cuadro 5).

Cuadro 5. Correlación entre variables fisiológicas de *Stevia rebaudiana* Bertoni Morita II en invernadero

Variables	Hoja	Tallo	Rama	Altura	Raíz	Raíz	Raíz
Hoja	-	0.950 (0.001)	0.719 (0.001)	0.872 (0.001)	0.579 (0.001)	0.598 (0.001)	0.861 (0.001)
Tallo		-	0.692 (0.001)	0.823 (0.001)	0.564 (0.001)	0.590 (0.001)	0.843 (0.001)
Rama			-	0.567 (0.001)	0.295 (0.035)	0.414 (0.001)	0.550 (0.001)
Altura				-	0.445 (0.001)	0.564 (0.001)	0.775 (0.001)
Raíz					-	0.565 (0.001)	0.623 (0.001)
Raíz (cm)						-	0.674 (0.001)
Raíz (mL)							-

Las variables morfológicas presentan una relación positiva en todas las estructuras vegetales, siendo la hoja, tallo, el número de ramas y el volumen de exploración de la raíz como los más determinantes para que la stevia exprese mayor rendimiento en hoja seca.

5.6 Correlación entre macronutrientes en hojas de stevia

La correlación de nitrógeno y el fósforo fue positiva (0.610), lo que indica que si el nitrógeno aumenta la concentración el fósforo también lo hace y viceversa, contrario al analizar la correlación de nitrógeno y potasio, nitrógeno y calcio, nitrógeno y magnesio, si el nitrógeno aumenta la concentración los elementos potasio, calcio y magnesio disminuyen la concentración en las hojas de stevia y viceversa (Cuadro 6).

El nitrógeno y fósforo mostraron tendencias de alta correlación, aunque al aumentar la concentración de nitrógeno los cationes potasio, calcio y magnesio disminuyeron la concentración en la hoja de stevia, varios factores pudieron incidir en esta respuesta, en primera, pudo haber antagonismo debido al exceso de nitrógeno en las hojas lo que ocasiono que los cationes disminuyan de concentración; segundo, la dinámica de concentración de los cationes en especial el calcio está presente en concentraciones altas debido a la particularidad del cultivo lo que hace que al aumentar el nitrógeno el calcio disminuya drásticamente.

Cuadro 6. Correlación entre concentraciones de macronutrientes en hoja de *Stevia rebaudiana* Bertoni Morita II, en invernadero

Variables	Nitrógeno	Fósforo	Potasio	Calcio	Magnesio
Nitrógeno	-	0.610 (0.001)	-0.046 (0.763)	-0.442 (0.002)	-0.287 (0.050)
Fósforo		-	0.254 (0.692)	-0.401 (0.005)	-0.397 (0.006)
Potasio			-	0.287 (0.056)	0.266 (0.794)
Calcio				-	0.794 (0.001)
Magnesio					-

Por otra parte, la correlación de fósforo y potasio fue positiva (0.254), al analizar la correlación fósforo y calcio, fósforo y magnesio fueron negativas. Mientras que al analizar la correlación potasio y calcio, potasio y magnesio fueron positivas, esto es, si aumenta el potasio aumenta los cationes potasio y magnesio, por último, el calcio y magnesio presentaron la misma dinámica que la correlación anterior. Como era de esperarse los cationes K, Ca y Mg, presentaron una relación positiva lo que indica que las concentraciones son adecuadas.

5.7 Correlación entre micronutrientes de hojas de stevia

Los micronutrientes presentaron una correlación positiva, solamente el zinc y el hierro presento un valor negativo. La relación que existe entre micronutrientes se observaron que el manganeso y hierro es positivo, si el manganeso aumenta

concentración el hierro también aumenta de concentración y viceversa, este mismo comportamiento se reflejaron en el manganeso y cobre, manganeso y zinc y cobre y zinc.

Cuadro 7. Correlación entre concentraciones de micronutrientes en hoja de *Stevia rebaudiana* Bertoni Morita II, en invernadero

Variable	Manganeso	Hierro	Cobre	Zinc
Manganeso	-	0.398 (0.022)	0.500 (0.003)	0.586 (0.001)
Hierro		-	0.008 (0.963)	-0.028 (0.876)
Cobre			-	0.545 (0.001)
Zinc				-

Por otra parte, la correlación entre hierro y cobre fue positiva, ya que aumentan de concentración de forma proporcional, no así, al evaluar la correlación de hierro y zinc (-0.028) esto es, si la concentración de hierro aumenta el zinc disminuye la concentración en la hoja de stevia y viceversa (Cuadro 7). Esta aseveración se concreta ya que el zinc se encontró en concentraciones altas contrario el hierro (Figura 5). Los micronutrientes en plantas superiores se encuentran en el orden de importancia Fe>Mn>Zn>Cu, al menos tres de los micronutrientes estimaron correlación positiva.

5.8 Etapa fenológica y utilización de agua en stevia

Las unidades térmicas permiten estimar el desarrollo de las plantas (fenología) a partir de las temperaturas media y base del cultivo, condiciones que permiten a la planta

acelerar el proceso de absorción, transporte y asimilación de nutrimentos y expresar mejor respuesta en las variables fisiológicas (Alvarez y Cassacia, 2008).

En el Cuadro 8 se aprecian los resultados de las diferentes etapas fenológicas de la planta de stevia, lámina de riego, la duración de cada etapa y la energía requerida para completar el ciclo (GDD). Los resultados están por debajo de los resultados arrojados por Villalba (2018) y Carneiro *et al.* (1989). Por lo anterior, propicio un riego moderado por debajo de los resultados que reportaron los autores antes mencionados.

Cuadro 8. Etapa fenológica de la *Stevia rebaudiana* Bertoni Morita II

Etapa fenológica	Lamina de riego A	Duración	GDD A
	mm	Días	°C
Emergencia	30.16	12	133.15
V. Rama principal	90.48	36	398.26
V Rama secundaria	158.24	54	589.34
Floración	162.71	68	734.90

GDD A: grados días de desarrollo acumulado, V: vegetativo.

En la Figura 8 se aprecia la cantidad de agua aplicada y la evapotranspiración potencial. La lámina de riego aplicado siempre estuvo por debajo de la evapotranspiración potencial que se generaron durante las diferentes etapas fenológicas del cultivo de stevia lo cual influyo en el crecimiento y desarrollo.

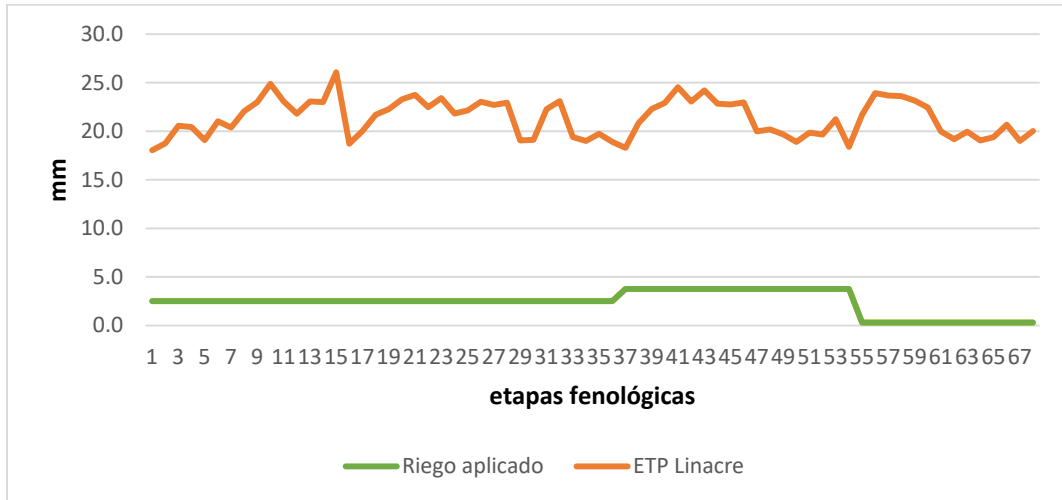


Figura 8. Riego aplicado en las diferentes etapas fenológicas y evapotranspiración potencial estimado bajo invernadero.

Por lo que al estimar La lámina de riego acumulado (mm) y la evapotranspiración potencial (Figura 9) en el cultivo de stevia nos demuestra que estuvo sometido a déficit hídrico en las diferentes etapas fenológicas y altero las propiedades físico-químicas del sustrato, limito los procesos fisiológicos de la raíz, la difusión de los iones y redujo la movilidad de nutrimentos desde la raíz hasta los rebrotes (Mahajan *et al.*, 2021).

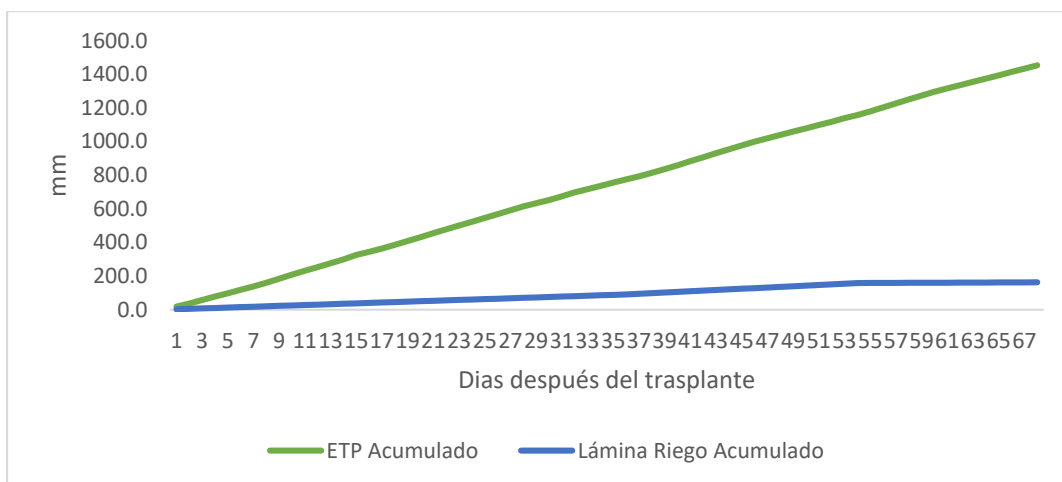


Figura 9. Evapotranspiración potencial (ETP) y lámina de riego acumulado en las diferentes etapas fenológicas de la stevia bajo invernadero.

VI. CONCLUSIONES

Las variables morfológicas número de ramas y volumen de raíz incidieron en mayor producción de materia seca, mostrando mejor respuesta la solución nutritiva al 75%.

La concentración de N, P, K fueron mayores en el corte dos y disminuyeron en el tercer corte mientras que el calcio y el magnesio mostraron menor concentración al transcurrir las fechas de corte.

La correlación entre estos nutrientes (N, P, K) fueron positivas, no así, cuando aumento nitrógeno los cationes Ca y Mg arrojaron correlación negativa.

Fueron semejantes las concentraciones de Fe, Cu, Zn y Mn en los diferentes periodos de corte. Las correlaciones fueron positivas entre el Fe, Cu y Mn, lo contrario en Zn y Fe.

El déficit hídrico en las diferentes etapas fenológicas de la stevia incidió de forma directa en la dinámica de los nutrientes y en las respuestas morfológicas.

VII. LITERATURA CITADA

- Abad, B. M., Noguera M. y C. Carrión B. (2004). Los sustratos en el cultivo sin suelo. Pp 113-158. En: M. Urrestarazu G. Tratado de cultivo sin suelo. Mundi Prensa. Madrid, España.
- Aladakatti, Y. R., Palled, Y. B., Chetti, M. B., Halikatti, S. I., Alagundagi, S. C., y Patil, P. L. (2012). Effect of nitrogen, phosphorus and potassium levels on growth and yield of stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni.). *Karnataka J. Agric. Sci.*, 25(1), 30–35.
- Abad, B. M., Noguera M. y C. Carrión B. (2004). Los sustratos en el cultivo sin suelo. Pp 113-158. En: M. Urrestarazu G. Tratado de cultivo sin suelo. Mundi Prensa. Madrid, España.
- Ansorena M. J. (1994). Sustratos propiedades y caracterización. Mundi prensa. Madrid.ISBN.
- Amany M.I. Soliman, A.E. Awad, A. S. G. and M. A. A. (2018). Influence of foliar application of Fe, Zn, Mo and lithovit on growth and productivity of stevia plant (*Stevia rebaudiana* , Bert.). *Plant Production Science*, 45, 1901–1912.
- Baroni-nezhad, H., Karimi, M., Motaghian, H., & Direkvand-moghadam, F. (2021). Response of stevia (*Stevia rebaudiana*) to copper, iron and zinc. *Journal of Plant Nutrition*, 44(6), 875–884. <https://doi.org/10.1080/01904167.2021.1871753>
- Benelli, G., Canale, A., Romano, D., Flamini, G., Tavarini, S., Martini, A., Ascriczzi, R., Conte, G., Mele, M., & Angelini, L. G. (2017). Flower scent bouquet variation and bee pollinator visits in *Stevia rebaudiana* Bertoni (*Asteraceae*), a source of natural sweeteners. *Arthropod-Plant Interactions*, 11(3), 381–388. <https://doi.org/10.1007/s11829-016-9488-y>
- Benhmimou, A., Ibriz, M., Douaik, A., Mounira, L., Lage, M., Al Faiz, C., Chaouqi, S., & Zouahri, A. (2018). Effect of NPK Fertilization on the Growth, Yield, Quality and Mineral Nutrition of New Sweet Plant in Morocco (*Stevia rebaudiana* Bertoni. *American Journal of Biology and Life Sciences*, 6(3), 36–43. <http://www.openscienceonline.com/journal/ajbls>.
- Carneiro, J. W. P. (2007). *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni: Stages of plant development. *Canadian Journal of Plant Science*, 87(4), 861–865. <https://doi.org/10.4141/p06-040>.
- Cassacia, J. Britos, R. Bozzano, G. Sarabia, A. y Cantero, F. (2016). *Ka'a he'e*. *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni. La dulce planta de Paraguay para el mundo. Alternativa para la diversificación de la finca.

- Cockson, P., Veazie, P., Davis, M., Barajas, G., Post, A., Crozier, C. R., Leon, R. G., Patterson, R., & Whipker, B. E. (2021). The Impacts of Micronutrient Fertility on the Mineral Uptake and Growth of *Brassica carinata*. *Agriculture*, 1–21.
- Davarpanah, S., Tehranifar, A., Davarynejad, G., Abadía, J., & Khorasani, R. (2016). Effects of foliar applications of zinc and boron nano-fertilizers on pomegranate (*Punica granatum* cv. Ardestani) fruit yield and quality. *Scientia Horticulturae*, 210, 57–64. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.07.003>.
- Gantait, S., Das, A., & Banerjee, J. (2018). Geographical Distribution, Botanical Description and Self-Incompatibility Mechanism of Genus Stevia. *Sugar Tech*, 20(1), 1–10. <https://doi.org/10.1007/s12355-017-0563-1>.
- Gantait, S., Das, A., & Mandal, N. (2015). Stevia: A Comprehensive Review on Ethnopharmacological Properties and *in vitro* regeneration. *Sugar Tech*, 17(2), 95–106. <https://doi.org/10.1007/s12355-014-0316-3>.
- Garcia-Mier, L., Meneses-Reyes, A. E., Jimenez-Garcia, S. N., Mercado Luna, A., García Trejo, J. F., Contreras-Medina, L. M., & Feregrino-Perez, A. A. (2021). Polyphenol Content and Antioxidant Activity of Stevia and Peppermint as a Result of Organic and Conventional Fertilization. *Journal of Food Quality*, 20(21), 1–6. <https://doi.org/10.1155/2021/6620446>.
- Genaidy, E. A. E., Abd-Alhamid, N., Hassan, H. S. A., Hassan, A. M., & Hagagg, L. F. (2020). Effect of foliar application of boron trioxide and zinc oxide nanoparticles on leaves chemical composition, yield and fruit quality of *Olea europaea* L. cv. Picual. *Bulletin of the National Research Centre*, 44(1). <https://doi.org/10.1186/s42269-020-00335-7>
- 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 Ciencias*, 90(4), 3249–3264. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201820170510>
- Gupta, P., Sharma, S., & Saxena, S. (2016). Effect of abiotic stress on growth parameters and steviol glycoside content in *Stevia rebaudiana* (Bertoni) raised in vitro. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 3(4), 160–167. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2016.03.004>.
- Hajar, E. W. I., Sulaiman, A. Z. Bin, & Sakinah, A. M. M. (2014). Assessment of Heavy Metals Tolerance in Leaves, Stems and Flowers of *Stevia Rebaudiana* Plant. *Procedia Environmental Sciences*, 20, 386–393. <https://doi.org/10.1016/j.proenv.2014.03.049>.

- Hänsch, R., & Mendel, R. R. (2009). Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). *Current Opinion in Plant Biology*, 12(3), 259–266. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2009.05.006>.
- Hastoy, C., Le Bihan, Z., Gaudin, J., Cosson, P., Rolin, D., & Schurdi-Levraud, V. (2019). First report of *Septoria* sp. infecting *Stevia rebaudiana* in France and screening of *Stevia rebaudiana* genotypes for host resistance. *Plant Disease*, 103(7), 1544–1550. <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-18-1747-RE>.
- Hoseini, R. Z., Goltapeh, E. M., Modarres-Sanavy, S. A. M., & Heidarzadeh, A. (2021). Effect of the bio-fertilizers on the steviol glycosides (SGs) content and biomass in *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni at vegetative and flowering stages. *Scientia Horticulturae*, 275(August 2020), 109658. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109658>.
- Hossain, M. F., Islam, M. T., Islam, M. A., & Akhtar, S. (2017). Cultivation and uses of *Stevia (Stevia Rebaudiana Bertoni)*: A review. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, 17(4), 12745–12757. <https://doi.org/10.18697/ajfand.80.16595>
- Jarma, A. D. J., Combatt, E. M., & Cleves, J. A. (2010). Aspectos nutricionales y metabolismo de *Stevia rebaudiana* (Bertoni). Una revisión Nutritional aspects and metabolism of *Stevia rebaudiana* (Bertoni). A review. *Agronomía Colombiana*, 28(2), 199–208.
- Javed, R., Usman, M., Yücesan, B., Zia, M., & Gürel, E. (2017). Effect of zinc oxide (ZnO) nanoparticles on physiology and steviol glycosides production in micropropagated shoots of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Plant Physiology and Biochemistry*, 110, 94–99. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.05.032>
- Koehler, A. M., Larkin, M. T., Rogers, L. W., Carbone, I., Cubeta, M. A., & Shew, H. D. (2019). Identification and characterization of *Septoria steviae* as the causal agent of *Septoria* leaf spot disease of stevia in North Carolina. *Mycologia*, 111(3), 456–465. <https://doi.org/10.1080/00275514.2019.1584503>
- Kumar Maurya, S., & Kumar Garg, S. (2020). Morphological and biochemical responses to boron and zinc fertilizers in *Stevia rebaudiana*. *Plant Archives*, 20(1), 344–348.
- Kumar, R., Sharma, S., & Prasad, R. (2013). Yield, Nutrient Uptake, and Quality of *Stevia* as Affected by Organic Sources of Nutrient. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 44(21), 3137–3149. <https://doi.org/10.1080/00103624.2013.832285>
- Lara Viveros Francisco, Valenzuela, N. L., Javier, G., Rodríguez, A., Ehsan, M., Moreno, V., Ventura, A., & Vi-, F. M. L. (2018). Utilización del ion amonio en el desarrollo de plántulas de estevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) en condiciones de

hidroponia. *Interciencia*, 43(February), 106–110.

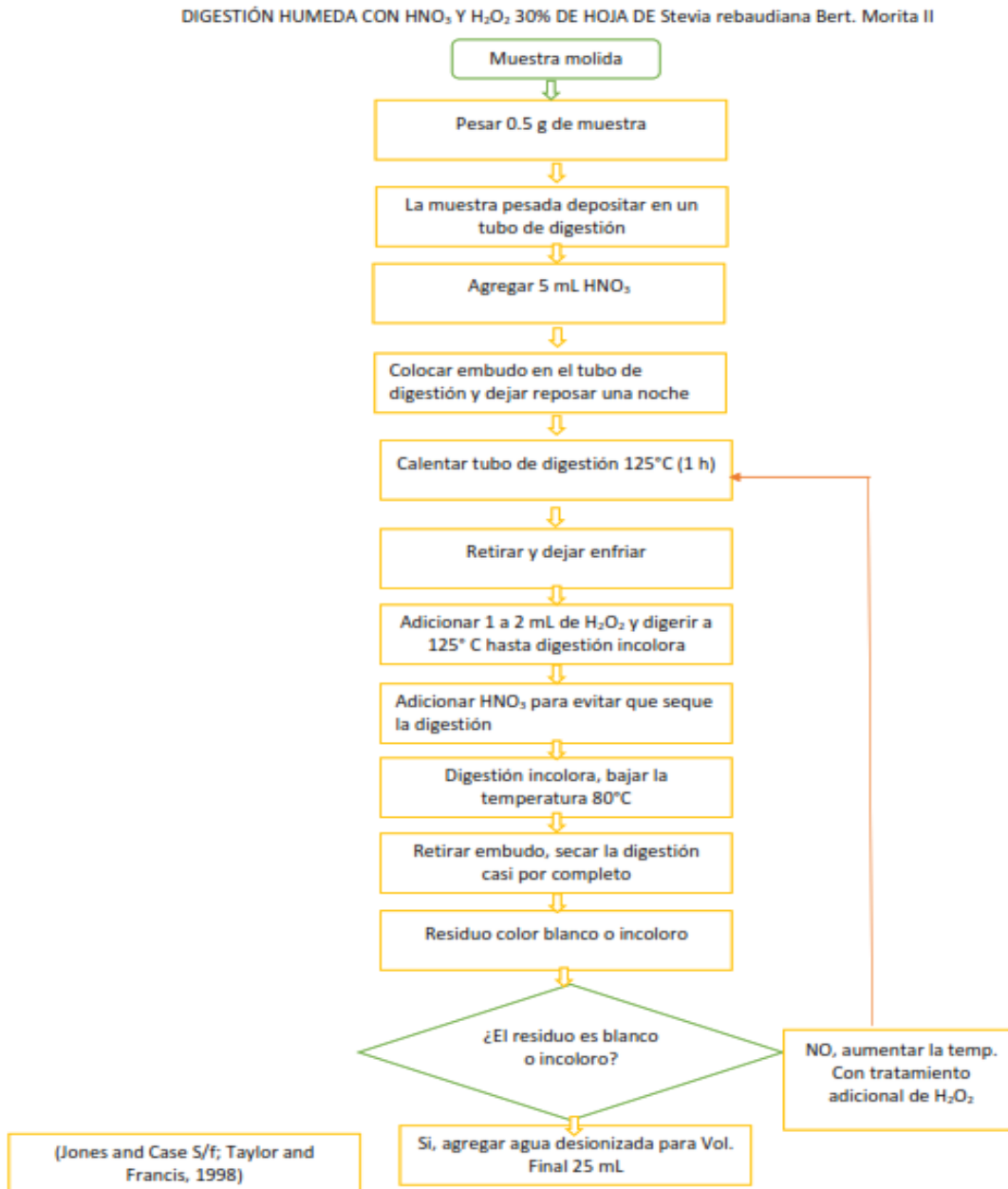
- Latarissa, I. R., Barliana, M. I., & Lestari, K. (2020). A Comprehensive Review of *Stevia rebaudiana* Bertoni effects on Human Health and Its Mechanism. *Journal of Advanced Pharmacy Education & Research*, 10(2), 91–95.
- Le Bihan, Z., Cosson, P., Rolin, D., & Schurdi-Levraud, V. (2020). Phenological growth stages of stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) according to the Biologische Bundesanstalt Bundessortenamt and Chemical Industry (BBCH) scale. *Annals of Applied Biology*, 177(3), 404–416. <https://doi.org/10.1111/aab.12626>.
- Lemus-Mondaca, R., Vega-Gálvez, A., Zura-Bravo, L., & Kong, A. H. (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. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.140>.
- Liu, X., Ren, G., & Shi, Y. (2011). The effect of organic manure and chemical fertilizer on growth and development of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Energy Procedia*, 5, 1200–1204. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2011.03.210>.
- Magangana, T. P., Stander, M. A., Masondo, N. A., & Makunga, N. P. (2021). Steviol glycoside content and essential oil profiles of *Stevia rebaudiana* Bertoni in response to NaCl and polyethylene glycol as inducers of salinity and drought stress in vitro. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 0123456789. <https://doi.org/10.1007/s11240-020-01972-6>.
- Mahajan, M., Thakur, B. K., & Pal, P. K. (2021). Moisture stress and nitrogen availability modulate the secondary metabolite profiles, enzymatic activity, and physiological and agronomic traits of *Stevia rebaudiana*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 162(6), 56-68. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.02.018>.
- Maniruzzaman, M., Chowdhury, T., Rahman, M., & Chowdhury, M. (2017). Potassium requirement for leaf biomass yield and K nutrition of stevia. *Fundamental and Applied Agriculture*, 2(3), 297. <https://doi.org/10.5455/faa.27643>.
- Martínez Cruz, M. (2015). Revisión bibliográfica *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni. Una revisión. *Cultivos Tropicales*, 36, 5–15. <https://ediciones.inca.edu.cu>.
- Meena, M., Swapnil, P., & Upadhyay, R. S. (2017). Isolation, characterization and toxicological potential of *Alternaria*-mycotoxins (TeA, AOH and AME) in different *Alternaria* species from various regions of India. *Scientific Reports*, 7(1), 1–19. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-09138-9>.
- Mérillon, J.-M., & Ramawat, K. G. (2018). Sweeteners. Pharmacology, biotechnology and applications. In *Reference Series in Phytochemistry*.

- Myint, K. zar, Wu, K., Xia, Y., Fan, Y., Shen, J., Zhang, P., & Gu, J. (2020). Polyphenols from *Stevia rebaudiana* (Bertoni) leaves and their functional properties. *Journal of Food Science*, 85(2), 240–248. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15017>.
- Pire R. y Pereira. (2003). Propiedades físicas de componentes de sustratos de uso común en la horticultura del estado Lara de Venezuela. *Propuesta metodológica. BIOAGRO*. 15(1):55-64.
- Poothong, S., Khen, T., & Chumphukam, O. (2018). *In vitro* mineral nutrition for improving growth and multiplication of stevia. *Agriculture and Natural Resources*, 52(5), 477-483. <https://doi.org/10.1016/j.anres.2018.11.007>.
- Prakash, J., & Arora, N. K. (2021). Novel metabolites from *Bacillus safensis* and their antifungal property against *Alternaria alternata*. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 114(8), 1245–1258. <https://doi.org/10.1007/s10482-021-01598-4>.
- Raina, R., Bhandari, S. K., Chand, R., & Sharma, Y. (2013). Strategies to improve poor seed germination in *Stevia rebaudiana*, a low calorie sweetener. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(24), 1793-1799. <https://doi.org/10.5897/JMPR12.226>
- Ramírez, J., & Lozano, C. (2018). La producción de *Stevia rebaudiana* bertoni en México. *Agro Productividad*, 10(8), 84–90.
- Rivillas, D. M., Urrea, A., Jiménez, E., & Atehortua, L. (2016). Estrategia para la propagación *in vitro* de *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Artículo Original Biotecnología Vegetal*, 16(3), 2154.
- Ruiz, J. C. R., Ordoñez, Y. B. M., Basto, Á. M., & Campos, M. R. S. (2015). Capacidad antioxidante de extractos foliares de dos variedades de *Stevia rebaudiana* Bertoni adaptadas al cultivo en México. *Nutricion Hospitalaria*, 31(3), 1163–1170. <https://doi.org/10.3305/nh.2015.31.3.8043>
- Sarmiento-López, L. G., López-Meyer, M., Sepúlveda-Jiménez, G., Cárdenas, L., & Rodríguez-Monroy, M. (2020). Photosynthetic performance and stevioside concentration are improved by the arbuscular mycorrhizal symbiosis in *Stevia rebaudiana* under different phosphate concentrations. *PeerJ*, 8. <https://doi.org/10.7717/peerj.10173>
- Sebastián, J., & Díaz, G. (2020). Caracterización de materiales con uso potencial como sustratos en sistemas de cultivo sin suelo. *Ciencia Tecnología Agropecuaria*, 22(1) 45-53.

- Shirani, S., Marzieh, B., Safoora, A., & Poodeh, D. (2016). The effect of vermicompost leachate on morphological , physiological and biochemical indices of *Stevia rebaudiana* Bertoni in a soilless culture system. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, 5(3), 251–262. <https://doi.org/10.1007/s40093-016-0135-5>.
- Singh, A., Singh, K., Singh, P., & Singh, M. P. (2015). Medicinal prospective and floral biology of candy leaf (*Stevia rebaudiana* Bertoni). *International Journal of Advanced Research*, 3(9), 628–636.
- Thakur, K., Ashrita, Sood, A., Kumar, P., Kumar, D., & Warghat, A. R. (2021). Steviol glycoside accumulation and expression profiling of biosynthetic pathway genes in elicited *in vitro* cultures of *Stevia rebaudiana*. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant, Anonymous 2017*. <https://doi.org/10.1007/s11627-020-10151-3>.
- Villalba-Martínez, C. J., & Oroa-Pfefferkorn, E. (2018). Concentración de nutrientes en tres variedades de stevia [*Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni] cultivadas en un Ultisol. *Informaciones Agronómicas de Hispanoamérica*, 29, 9–13. <http://www.ipni.net>.
- Villalba-Martínez, C. J., López Romero, R. M., Santos, A. T., Nolasco, A. Q., & Muratalla Lua, A. (2018). Glucosides in Response to two sources of nutrition in *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Terra Latinoamericana*, 36(4), 411–421. <https://doi.org/10.28940/terra.v36i4.318>.
- Westerman, R. L. 1990. Soil testing and plant analysis. 3rd ed. Soil Science Society of America. Madison, WI, USA.
- White, P. J., George, T. S., Hammond, J. P., & James, E. K. (2014). Improving crop mineral nutrition. *Plant and Soil*, 384(1–2), 1–5. <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2291-6>.
- 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. <https://doi.org/10.4141/CJPS10086>.
- Yadav, S. K., & Guleria, P. (2012). Steviol Glycosides from Stevia: Biosynthesis Pathway Review and their Application in Foods and Medicine. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52(11), 988–998. <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.519447>.
- Zevallos, C. (2009). Fertilización nitrogenada mineral y orgánica en el cultivo de stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni). *Agropecuaria*, 47–50.

ANEXO

Digestión húmeda con HNO_3 y H_2O_2 30% de hoja de *Stevia rebaudiana* Bertoni Morita II



(Westerman *et al.*, 1990).