

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

FACULTAD DE CIENCIAS



**“EVALUACIÓN DEL EFECTO NUTRICIONAL Y LA PODA EN EL
DESARROLLO DE *Stevia rebaudiana* BERTONI CULTIVADA BAJO
CONDICIONES DE CULTIVO SIN SUELO”**

Presentada por:

MEDALÍ CHACPI VÁSQUEZ

Tesis para Optar el Título Profesional de:

BIÓLOGA

Lima – Perú

2022

La UNALM es la titular de los derechos patrimoniales de la presente investigación
(Art. 24. Reglamento de Propiedad Intelectual)

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

FACULTAD DE CIENCIAS

**“EVALUACIÓN DEL EFECTO NUTRICIONAL Y LA PODA EN EL
DESARROLLO DE *Stevia rebaudiana* BERTONI CULTIVADA BAJO
CONDICIONES DE CULTIVO SIN SUELO”**

Presentada por:

MEDALÍ CHACPI VÁSQUEZ

Tesis para Optar el Título Profesional de:

BIÓLOGA

Sustentada y aprobada por el siguiente jurado:

Dra. Antonietta Ornella Gutiérrez Rosati
PRESIDENTE

Blga. Milagros del Rosario Chang La Rosa
MIEMBRO

Mg. Sc. María del Rosario Josefina Castro Muñoz
MIEMBRO

Ph.D. Alfredo Salomón Rodríguez Delfín
ASESOR

DEDICATORIA

A mi grandiosa madre Zenovia Vásquez, que siempre me brindó su apoyo incondicional.
sus consejos y mejores deseos para cumplir con cada una de mis metas
y objetivos trazados, eres mi fiel ejemplo a seguir.
Siempre estaré eternamente agradecida.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, Sicilio y Zenovia por darme siempre el soporte incondicional durante todos estos años.

A mis hermanos, César y Erik, de quienes aprendo día a día, gracias por todos sus consejos.

A mi nueva hermana y sobrino, Ana Lucía y Tiziano, por motivarme a culminar y cumplir mis objetivos continuamente.

Al Dr. Víctor Meza & Renato Mendivil, a pesar de que ya no se encuentren con nosotros, agradeceré siempre todos los consejos en mi etapa universitaria y vida laboral.

A mi asesor el Dr. Alfredo Rodríguez, por su guía, consejos y atención brindada, para poder culminar el presente trabajo de investigación.

A Gustavo Castillo, por ser esa gran persona con la que siempre puedo contar, quién me motiva a ser alguien mejor cada día.

Al Dr. Israelí Arpan Modi, por su apreciación y recomendaciones sobre el presente trabajo de investigación.

A Paola Dioses, amiga, mentora y colega, y Sebastiaan Saverys; por su soporte constante durante la ejecución de la presente investigación, y de quienes aprendo diariamente a pensar fuera de la caja.

A mis amigos, por su apoyo durante todo el trayecto Patricia Guerra, José Cachay, Kristell Chávez, Lilian Cotrina, Tulio Mariaca, Anabel Perez y Katy Medina.

Por último y no menos importante, a Silvestre, Harvey – Dent y Tiberio the bull.

Gracias infinitamente a todos ustedes.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	vi
ABSTRACT	vii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. Definición del problema.....	3
2.2. Marco conceptual.....	4
2.2.1. Descripción del cultivo	4
2.2.1.1. Origen y distribución geográfica	4
2.2.1.2. Proceso de domesticación	5
2.2.1.3. Clasificación taxonómica	5
2.2.1.4. Descripción botánica.....	6
2.2.1.5. Componentes de la hoja	8
2.2.2. Variedades cultivadas	13
2.2.3. Cultivo de Stevia	14
2.2.3.1. Requerimientos del suelo	14
2.2.3.2. Requerimientos climáticos	15
2.2.4. Zonas de producción.....	15
2.2.5. Tipos de propagación	16
2.2.5.1. Propagación por esqueje	16
2.2.5.2. Propagación por cultivo de tejidos	16
2.2.5.3. Propagación por semillas	17
2.2.6. Cultivos hidropónicos.....	18
2.2.6.1. Tipos de sistemas hidropónicos.....	18
2.2.6.2. Tipos de sustratos usados en cultivo sin suelo	19
2.2.6.3. Tipos de sustratos hidropónicos	20

2.2.6.4. Cultivo hidropónico en Stevia rebaudiana	21
2.2.6.5. Importancia del potasio en Stevia rebaudiana	22
2.2.6.6. Importancia de la poda en la agricultura	22
III. MATERIALES Y METODOLOGÍA	24
3.1. Lugar de ejecución	24
3.2. Infraestructura del área	24
3.3. Materiales	24
3.4. Metodología	25
3.4.1. Homogenización de las plántulas	25
3.4.2. Instalación del experimento	25
3.4.2.1. Preparación del sustrato y siembra	25
3.4.2.2. Preparación de tratamientos	26
3.4.2.3. Riegos y mantenimiento	27
3.4.3. Evaluación de parámetros	28
3.4.3.1. Evaluación de biomasa	28
3.4.3.2. Análisis foliares	28
3.4.3.3. Análisis de glicósidos de esteviol	28
3.4.3.4. Análisis de agua	28
3.4.4. Diseño experimental, modelo y análisis estadístico	29
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
4.1. Evaluación de crecimiento	30
4.2. Evaluación de la concentración y absorción de nutrientes en hojas	35
4.3. Evaluación de producción de glicósidos de esteviol	42
V. CONCLUSIONES	45
VI. RECOMENDACIONES	46
VII. BIBLIOGRAFÍA	47
VIII. ANEXOS	55

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Concentración de aminoácidos en extracto de hojas de Stevia rebaudiana.....	9
Tabla 2: Composición química de aceites esenciales y propiedades funcionales de polvo de Stevia rebaudiana	9
Tabla 3: Cantidad de esteviol glicósidos en hojas de Stevia rebaudiana reportada por varios autores	10
Tabla 4: Concentración de la solución nutritiva preparada con la solución hidropónica La Molina	27
Tabla 5: Efecto de los niveles de potasio y poda sobre el crecimiento de plantas de estevia. Valores promedio de 7 plantas.....	30
Tabla 6: Efecto de los niveles de potasio y poda sobre número de ramas, hojas y área foliar. Valores promedio de 7 plantas.	33
Tabla 7: Efecto de los niveles de potasio y poda sobre el contenido de macronutrientes en hojas plantas de estevia.	35
Tabla 8: Efecto de los niveles de potasio y poda sobre la absorción de macronutrientes en hojas de plantas de estevia. Valores promedio de 6 plantas.	36
Tabla 9: Efecto de los niveles de potasio y poda sobre la concentración de micronutrientes en hojas de estevia.....	38
Tabla 10: Efecto de los niveles de potasio y poda sobre la absorción de micronutrientes en hojas de estevia. Valor promedio de 06 plantas.	39
Tabla 11: Valores promedio de Rebaudiosido A (%), Steviosido (%) y Glicósidos totales (%).....	42

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Distritos en la zona oriental de Paraguay	4
Figura 2: Planta de Stevia rebaudiana	6
Figura 3: Partes reproductivas de la planta Stevia rebaudiana	8
Figura 4: Enzimas que intervienen en el alargamiento de la cadena terpénica en la ruta de la esteviol	11
Figura 5: Estructura de la molécula de esteviol.....	12
Figura 6: Sistemas hidropónicos - métodos no circulantes	19
Figura 7: Diseño experimental	29
Figura 8: Cultivo de Stevia rebaudiana bajo tratamiento SP (sin poda) a los 77 días	32
Figura 9: Cultivo de Stevia rebaudiana bajo tratamiento CP (con poda) a los 77 días.....	32
Figura 10: Diagrama de cajas de la variable número de ramas	33
Figura 11: Quinto par de hojas de tratamiento T0 (210 ppm K) con poda	34
Figura 12: Quinto par de hojas del tratamiento T0 (210 ppm K) sin poda	34
Figura 13: Diagrama de cajas de la variable absorción de Azufre	37
Figura 14: Diagrama de cajas de la variable absorción de Hierro	40
Figura 15: Diagrama de cajas de la variable absorción de molibdeno	41
Figura 16: Diagrama de cajas de la variable absorción de boro	41
Figura 17: Diagrama de cajas de concentración de Rebaudiosido A, según tratamiento	43
Figura 18: Diagrama de cajas de concentración SG's total (Reb A + Steviosido), según tratamiento para el factor 2 (concentración de potasio).....	43

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Reporte de resultados totales obtenidos	56
Anexo 2: Analisis de varianza (ANOVA).....	60
Anexo 3: Cromatogramas de glicósidos de esteviol	67
Anexo 4: Registro fotográfico	71

RESUMEN

Actualmente, existe una tendencia en la población de consumir productos de bajo impacto calórico, que sea natural y de beneficio para la salud en su ingesta diaria.

La *Stevia* es una planta de origen tropical, que tiene propiedades edulcorantes y no aporta calorías al ingerirla adicionalmente, tiene otras propiedades las cuales involucran el tratamiento de enfermedades crónicas y no crónicas. En el Perú, es un cultivo con mucho potencial debido a que se adapta de manera idónea a las condiciones climáticas de selva y de costa, por lo que la convierte en un cultivo con un gran potencial de producción.

La práctica de podar hojas de estevia influye en la concentración de glicósidos de esteviol, los cuales le proveen su propiedad edulcorante, y este se encuentra influenciado por la nutrición brindada. El objetivo del estudio fue evaluar el impacto de la poda y diferentes concentraciones de potasio bajo condiciones de cultivo sin suelo, teniendo como solución nutritiva hidropónica base la formulada por la Universidad Nacional Agraria La Molina para hortalizas.

Se realizó un experimento con 4 tratamientos nutricionales, con factor de presencia o ausencia de poda al inicio de la siembra. La evaluación se realizó al final del ciclo, previo a la floración, donde se obtuvieron datos de biomasa foliar y radicular; también se realizó análisis foliares para determinar la concentración y absorción de nutrientes minerales en hojas y, se determinó la concentración de dos glicósidos de esteviol (Rebaudiosido A y Esteviosido), también en hojas. Se obtuvo que los tratamientos que fueron podados, mostraron un aumento de 27 por ciento en el número de ramas, así como 28 cm² adicional de área foliar; en cuanto a la concentración de glicósidos de esteviol se obtuvo un 18 por ciento más con una concentración de 310 ppm.

Palabras clave: *Stevia rebaudiana*, nutrición, potasio, poda, hidroponía, Rebaudiosido A, glicósidos de esteviol

ABSTRACT

Currently, there is a trend in the population to consume low-calorie products, which are natural and beneficial to health in their daily intake.

Stevia is a plant from tropical origin, which has sweetening properties and does not provide calories when ingested, additionally it has other properties which involve the treatment of chronic and non-chronic diseases. In Peru, it is a crop with great potential because it is ideally suited to the climatic conditions of the jungle and coast, which makes it a crop with great production potential.

The practice of pruning Stevia leaves influences the concentration of steviol glycosides, which provide its sweetening property, and this is influenced by the nutrition provided. Therefore, the objective of the study was to evaluate the impact of pruning and different potassium concentrations under soilless culture conditions, having as base hydroponic nutrient solution the one formulated for vegetables crops by the Universidad Nacional Agraria La Molina for vegetables.

An trial was conducted with 4 nutritional treatments, with a factor of presence or absence of pruning at the beginning of planting. The evaluation was carried out at the end of the cycle, prior to flowering, where data on leaf and root biomass were obtained; foliar analysis was also carried out to determine the concentration and absorption of mineral nutrients in leaves, and the concentration of two steviol glycosides (Rebaudioside A and Stevioside) was also determined in leaves. It was found that the treatments that were pruned showed an increase of 27 percent in the number of branches, as well as an additional 28 cm² of leaf area; as for the concentration of steviol glycosides, 18 percent more was obtained with a concentration of 310 ppm.

Key words: *Stevia rebaudiana*, nutrition, potassium, pruning, hydroponic, Rebaudioside A, steviol glycosides

I. INTRODUCCIÓN

El cultivo de *Stevia rebaudiana*, se debe a su propiedad edulcorante no calórico de origen natural, actualmente se cultiva y utiliza en diversas partes del mundo, lo cual ha penetrado de manera importante en el mercado nacional e internacional (Duran et al, 2012).

Adicionalmente, se aprecia una tendencia creciente de la población al consumo de edulcorantes no calóricos, lo cual coloca a la *Stevia rebaudiana* como un cultivo con potencial debido a sus propiedades edulcorantes y valor en el mercado.

El cultivo de *Stevia* es destacado principalmente por su valor edulcorante debido a la presencia de diferentes tipos de glicósidos de esteviol que le brindan dicha propiedad; sin embargo, presenta otros beneficios para la salud como su capacidad inmunomoduladora, diurética, entre otros, siendo también una alternativa para el tratamiento de enfermedades crónicas como la diabetes y obesidad (Salvador-Reyes et al., 2014).

Actualmente, el principal productor de hojas de *Stevia* es China, seguido de Paraguay (CDRESSA, 2018), es importante resaltar que Perú puede convertirse en un productor importante a nivel mundial, ya que cuenta con las condiciones edafoclimáticas para su óptimo desarrollo.

En la producción agrícola de *Stevia*, es común realizar podas estructurales en la etapa inicial (plantín), con la finalidad de incentivar el crecimiento de brotes axilares; sin embargo, estas podas debilitan a la planta dejándolo muchas veces susceptible a la entrada de patógenos, que podrían ocasionar la muerte, de no ser tratada adecuadamente o, retrasando el desarrollo vegetativo y radicular de la planta, alargando los tiempos de producción.

Por otro lado, el potasio es uno de los principales macronutrientes en la nutrición de las plantas, el cual es activador de enzimas ligadas a la fotosíntesis y respiración que influenciarían en la producción de biomasa y glicósidos de esteviol.

Es por ello, que esta investigación propone evaluar los efectos que causa la poda en el desarrollo vegetativo, de la Stevia, así como cuantificar la producción de biomasa y esteviolglicósidos de la Stevia al ser sometidas a distintas concentraciones de potasio.

OBJETIVOS

1. Objetivo general

- Evaluar el efecto de diferentes niveles de potasio, y de la poda en el crecimiento y desarrollo de *Stevia rebaudiana* cultivada bajo condiciones de cultivo sin suelo.

2. Objetivos específicos

- Evaluar el crecimiento de *Stevia rebaudiana* Bertoni cultivada bajo condiciones de cultivo sin suelo.
- Evaluar el efecto de la poda en el crecimiento y desarrollo radicular de *Stevia rebaudiana* Bertoni
- Analizar la influencia del elemento Potasio (K) en el desarrollo y acumulación de glucósidos de esteviol en *Stevia rebaudiana* Bertoni.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Definición del problema

La dinámica poblacional mundial ha ido cambiando, por lo que se pronostica que para el 2050 la población aumentará alrededor de los diez billones de personas, según reportes de la FAO (2017), este incremento poblacional aumentará también la demanda alimenticia, para lo cual se opta como opción el cultivo hidropónico que optimiza la demanda de agua, requiere poco espacio y permite controlar variables ambientales y nutricionales para su óptimo desarrollo.

Cabe resaltar que el incremento de demanda alimenticia está ligada a un incremento de consumo de productos edulcorantes entre ellos son el espartamo, la sucralosa, sacarina, entre otros; los que comúnmente encontramos son los procesados y azucarados; cabe resaltar que la distribución del consumo mundial de edulcorantes se compone de ciento cuarenta y ocho millones de toneladas de azúcar de caña, veinte millones de toneladas de edulcorantes artificiales y cuatro mil toneladas de Stevia (Zubiate, 2007).

Asimismo, el consumo de *Stevia rebaudiana* como edulcorante ha crecido de manera rápida en los últimos años, esto se debe a la capacidad que tiene la especie de producir esteviolglicósidos, que son de 200-300 veces más dulces que la caña de azúcar (Ramesh et al, 2006) y no aportan calorías en su ingesta. Adicionalmente, se tienen otros beneficios como contribuir con la producción de insulina por el páncreas, ayuda a proteger la función renal y propiedades antioxidantes, lo cual la convierte en una especie interesante de estudio.

La importancia del cultivo hidropónico de *Stevia rebaudiana* se debe que al controlar la cantidad de macro y microelementos que se proporciona mediante la solución nutritiva, esta tiene influencia en el crecimiento y desarrollo de la especie, que permitan la mejora de las características morfológicas y contribuya para próximos estudios nutricionales para el idóneo crecimiento de la especie.

2.2. Marco conceptual

2.2.1. Descripción del cultivo

2.2.1.1. Origen y distribución geográfica

La Estevia, es una planta subtropical del alto Paraná, según Shock (1982) afirma que la planta es originaria del noreste de Paraguay, y está relacionada con otros miembros del género que se encuentran en Estados Unidos, en el Sur de América Central y en América del Sur.

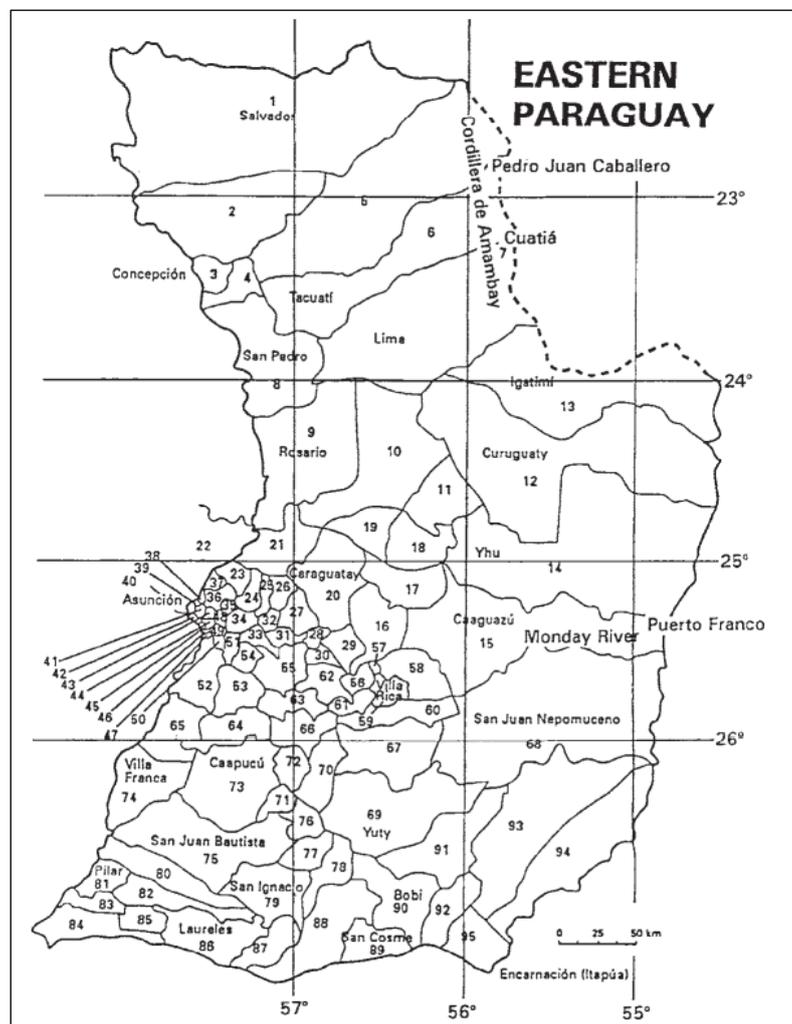


Figura 1: Distritos en la zona oriental de Paraguay

Nota. Adaptado de *A Stevia* (p.26), por A. D. Kinghorn, 2001b, Taylor & Francis.

Las poblaciones naturales, se encuentran en la parte nororiental del Paraguay, en las tierras altas del Departamento de Amambay, en particular, en las laderas y valles de la Cordillera de Amambay, como en el Cerro Cuatiá, cerca de Capitán Bado y Pedro

Juan Caballero (Figura 1). En 1918, “Bertoni dio un rango de distribución desde el Sur de Amambay hasta el río Monday, especialmente en zonas de plantación de San Pedro, Alto Jeju y Ihu, aproximadamente desde 22°33’ a 25°20’ de latitud sur, y de 55° a 57° a latitud oeste, entre 200 – 700 metros de altura en el territorio paraguayo” (Kinghorn, 2001b, p. 30).

La *Stevia* es un género distribuido desde el sur de los Estados Unidos y el altiplano brasileño, a través de México, los estados centroamericanos y los Andes de Sudamérica (Kinghorn, 2001b).

2.2.1.2. Proceso de domesticación

Existen registros que en 1942 se realizó un intento fallido de establecer la *Stevia rebaudiana* como cultivo en Inglaterra; sin embargo, en 1964, fue reportado el primer cultivo comercial en Paraguay (Bonilla et al., 2007).

Posteriormente, se realizaron grandes esfuerzos por Sunida en 1968 para establecer el cultivo en Japón; posteriormente en 1971, se llevaron a cabo investigaciones para evaluar el potencial del cultivo en Japón, es ahora que en la actualidad Japón es el principal productor y comercializador de este cultivo en el mundo (Ramesh et al, 2006).

2.2.1.3. Clasificación taxonómica

Stevia rebaudiana Bertoni, pertenece a la familia de las Asteráceas, la USDA lo clasifica de la siguiente manera:

Dominio: Eukarya
Reino: Plantae
Sub reino: Tracheobionta
Superdivisión: Spermatophyta
División: Magnoliophyta
Clase: Magnolipsida
Sub clase: Asteridae
Orden: Asterales
Familia: Asteraceae
Género: *Stevia*
Especie: *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni

2.2.1.4. Descripción botánica

Stevia rebaudiana es una planta herbácea perenne, con tallo erecto, subleñoso, pubescente, durante su desarrollo primario no presenta ramificaciones, tornándose multicaule después del primer ciclo vegetativo, llegando a producir hasta 20 tallos en tres a cuatro años; puede alcanzar hasta 90 cm de altura en su hábitat natural y en los trópicos puede llegar a tener alturas superiores a 100 cm (Martínez, 2015).



Figura 2: Planta de *Stevia rebaudiana*

Nota. Adaptado de “*Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni – A review” (p. 267), por S. Madan et al., 2010, *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 1(3).

La raíz es pivotante, filiforme y no profundiza, distribuyéndose cerca de la superficie (Martínez. 2015).

Las hojas son simples, opuestas, subsésiles, con entrenudos de 2 a 4 cm de largo, con láminas subcoriáceas variables en forma y tamaño, estrechamente elípticas a oblanceoladas o espatuladas - oblanceolado, a líneas – oblongo u ovado, de 2-3 cm de largo y 0.6 – 1 cm de ancho (Kinghorn, 2001b), estas presentan disposición opuesta en sus estados juveniles, y alternas cuando las plantas llegan a su madurez

fisiológica previo a la floración (Martínez, 2015). El ápice es obtuso a subagudo, con base cuneada, márgenes enteros, a menudo dentados (crenada a aserrada) en la mitad superior, entero en la mitad inferior, presenta tres nervios primarios que surgen de la base de la hoja, elevados y prominentes en el lado inferior de la hoja, algo sumergido en el lado superior, con venación secundaria reticulada (ligeramente sumergido); las hojas en estado seco son de color verde oliva a verde pardusco, generalmente más oscuro en la parte superior, ambas superficies son subescabrosas, con puntos glandulares negros en el lado inferior, presentan un peciolo de 3 – 4 mm (Kinghorn, 2001b).

La *Estevia* presenta inflorescencias con pequeñas flores hermafroditas, con disposición paniculadas o corimbosas en los extremos terminales de las ramas, el pedúnculo de 1 a 4 cm de largo, muy delgados, los pedicelos de cada capítulo son también delgados, de 1 a 4 mm de largo, brácteas lineales lanceoladas, de 1 – 2 mm de largo. Cada capítulo está envuelto por un involucre casi tan largo como el pedicelo, de color verde claro en la mitad inferior, y amarillenta en la parte superior en estado fresco; con 5 *phyllaries*, pubescente, líneal a subulado, 4-5 mm de largo, agudo a redondeado en el ápide, cada capítulo es compuesto por 5 flósculos de disco (Kinghorn, 2001b).

Cada flósculo se inserta sobre el involucre, con corola actinomorfa, blanca, tubo de corola delgado, igual o más largo que las aristas del pappus (cada 4 mm de largo), color verdoso por debajo, blanco a blanco violáceo por arriba, cubierta de pubescencia muy fina en el interior, casi glabro al exterior; los lóbulos son ovados a lanceolados, desiguales, blando con garganta purpúrea, obtusos a subagudo, de 0.7 a 1 mm de largo, con ramas estilo dos veces la longitud de los lóbulos de la corola o más largo, divergente y generalmente recurvado, densamente cubierto por glándulas de color marrón claro con pubescencia muy fina (Kinghorn, 2001b).

El fruto es un aquenio subglabros, de 2.5 a 4 mm de largo, pero con púas finas a lo largo de las crestas, las aristas de pappus de color pajizo, de 9 a 17 subiguales, cada 3 mm de largo, algo rígido y aristas de púas finas, base de las aristas a menudo más ancha y plana, las púas son rígidas, lineales, que surgen de las aristas en un ángulo agudo y apuntan hacia arriba (Kinghorn, 2001b), la coloración del aquenio que puede ser claro (estéril) u oscuro (fértil) y es diseminado por el viento (Martínez, 2015).

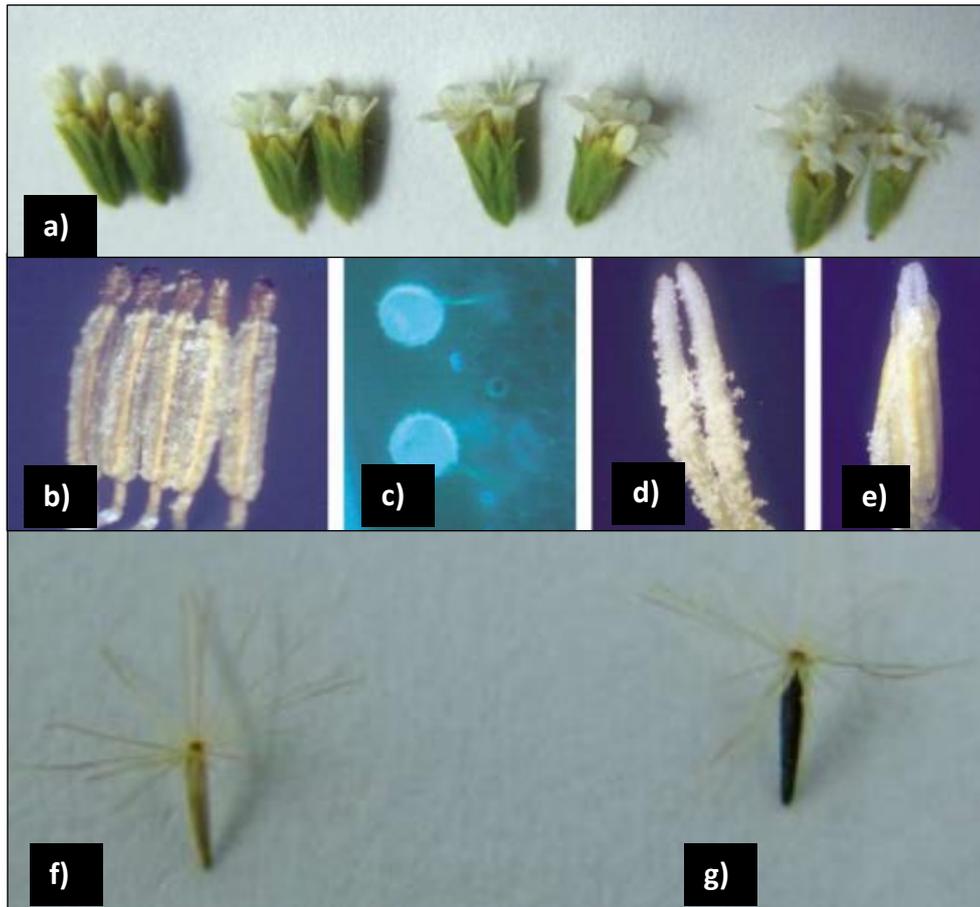


Figura 3: Partes reproductivas de la planta *Stevia rebaudiana*

Nota. a) Diferentes estadios de flor abierta b) Anteras c) Polen germinado con tubo polínico d) Estigma e) Estigma saliendo de las anteras f) Semilla infértil g) Semilla fértil.
Adaptado de “A review on the improvement of *Stevia* [*Stevia rebaudiana* (Bertoni)] (p. 267), por A. K. Yadav et al., 2011, *Canadian Journal of Plant Science*, 91(1).

2.2.1.5. Componentes de la hoja

Stevia rebaudiana es comúnmente conocida por ser endulzante natural que no aporta calorías, especialmente para la industria japonesa. Existen más de 100 componentes que han sido identificados en esta especie, como flavonoides, vitaminas, taninos, fitoesteroles, minerales, alcaloides, ácido hidroxicinámico, aceites esenciales y otros componentes misceláneos con propiedades antimicrobianas y antioxidantes (Saqib et al., 2015).

“Entre los más conocidos de estos son los glucósidos diterpenoides ent-kaureno de sabor dulce, particularmente steviosido y rebaudiosido A” (Kinghorn, 2001b, p. 68).

Los edulcorantes, en su mayoría concentrados en las hojas, son sintetizados, al menos en los estados iniciales, usando la misma ruta del ácido giberélico a partir del mevalonato (Saqib et al., 2015).

Tabla 1: Concentración de aminoácidos en extracto de hojas de *Stevia rebaudiana*

Tipo de aminoácidos	Nombre de los aminoácidos	Porcentaje (%)
Aminoácidos esenciales	Arginina	0.796
	Histidina	0.336
	Isoleucina	0.716
	Leucina	1.288
	Lisina	1.050
	Fenilalanina	0.867
	Prolina	1.671
	Treonina	0.744
	Valina	0.935
Aminoácidos no esenciales	Alanina	0.941
	Asparagina	1.658
	Glutamina	1.894
	Glicina	0.846
	Serina	1.036
	Tirosina	0.485

Nota. Adaptado de “Domestication of Non-Conventional Crops to Combat Human Health Diseases: A review on Crop *Stevia Rebaudiana* view of Pakistan as an Example”, por M. Saqib et al., 2015, *American Research Journal of Agriculture*, 1(1).

Tabla 2: Composición química de aceites esenciales y propiedades funcionales de polvo de *Stevia rebaudiana*

Composición química de los aceites esenciales		Propiedades funcionales	
Aceites esenciales	(%)	Propiedades	Valor
Ciclopentasiloxane	0.88	Densidad	0.443 g/ml
Geraniol vinil eter	0.14	Capacidad de absorción de agua	4.7 ml/g
Ciclohexasiloxane	4.4	Capacidad de absorción de grasa	4.5 ml/g
Indol	0.17	Valor de emulsificación	5 ml/g
Cariofileno	0.08	Swelling	5.01 ml/g
Espatulenol	2.21	Solubilidad	0.365 ml/g
Oxido cariofileno	1.23	pH	5.95
Santalol	0.07		
β -guaiene	0.32		
Oxido de ledene (II)	0.21		
α -cadinol	2.98		
Epóxido aristoleno	0.18		
Silenediol	4.49		
Estra-1,3,5(10)-trien-17-ones	1.92		

Nota. Adaptado de “Domestication of Non-Conventional Crops to Combat Human Health Diseases: A review on Crop *Stevia Rebaudiana* view of Pakistan as an Example”, por M. Saqib et al., 2015, *American Research Journal of Agriculture*, 1(1).

Tabla 3: Cantidad de esteviol glicósidos en hojas de *Stevia rebaudiana* reportada por varios autores

Esteviol glicósidos	Fuerza endulzante
Steviosido	150 - 300
Rebaudiosido A	350 - 450
Rebaudiosido B	300 - 350
Rebaudiosido C	50 - 120
Rebaudiosido D	200 - 300
Rebaudiosido E	250 - 300
Rebaudiosido F	ND
Steviol biosido	100 - 125
Dulcosido A	50 - 120

Nota. ND: No definido. Adaptado de “Domestication of Non-Conventional Crops to Combat Human Health Diseases: A review on Crop *Stevia Rebaudiana* view of Pakistan as an Example”, por M. Saqib et al., 2015, *American Research Journal of Agriculture*, 1(1).

a) Síntesis de esteviol glicósidos

Todos los terpenos naturales proceden de unidades de acetato activo (Acetil CoA), que se condensan y transforman para originar ácido mevalónico (AMV), unidad de cinco átomos de carbono, específica de la biosíntesis de terpenos.

En la primera etapa de esta ruta sintética, por acción de una tiolasa y la hidroximetilglutaril CoA sintetasa, se condensan tres unidades de acetil CoA y forman 3-hidroxi-3-metilglutaril CoA (HMG-CoA), compuesto que experimenta una reducción dependiente de NADPH.H⁺, transformándose en AMV por la acción de la HMG-CoA reductasa ubicada en la membrana del retículo endoplasmático (RE). El AMV es activado, formándose isopentenil pirofosfato (IPP). En las reacciones de alargamiento de la cadena terpénica, IPP y dimetilalil pirofosfato (DMAPP) se condensan de cabeza a cola; el DMAPP aporta el resto isoprenoide α , o inicial, formándose geranyl pirofosfato GPP (C10). La adición sucesiva cabeza a cola de otras unidades de IPP conduce a las síntesis de farnesil pirofosfato FPP (C15), geranylgeranyl pirofosfato GGPP (C20), que dará origen al diterpeno tetracíclico *ent* kaureno en una reacción catalizada por la enzima *ent* kaureno sintetasa (KS) (Jarma et al., 2010, p. 264).

b) Conversión del *ent*-kaureno a glicósidos de esteviol

Brandle *et al.* (2002), quienes han clonado y secuenciado el gen de estevia que codifica para la enzima copalil pirofosfato sintasa, responsable de la conversión de GGPP a CPP, afirman que la hidroxilación del ácido *ent*-kaurenoico en la posición

C13 es el punto de divergencia para la síntesis de esteviol y las giberelinas. Esta hidroxilación, que requiere NADPH y oxígeno molecular proveniente del estroma, es catalizada por el enzima ácido ent-kaurenoico 13-hidroxisasa (Jarma *et al.*, 2010).

Seguidamente, en el aparato de Golgi, cadenas laterales que contienen glucosa y/o ramnosa, se agregan al grupo alcohol del C13 y al grupo carboxilo del C19 del esteviol por acción de 2 glucosil transferasas (GTasa I y IIB), que catalizan la transferencia de la glucosa a los principales glicósidos de esteviol, a partir de ADP glucosa (Jarma *et al.*, 2010).

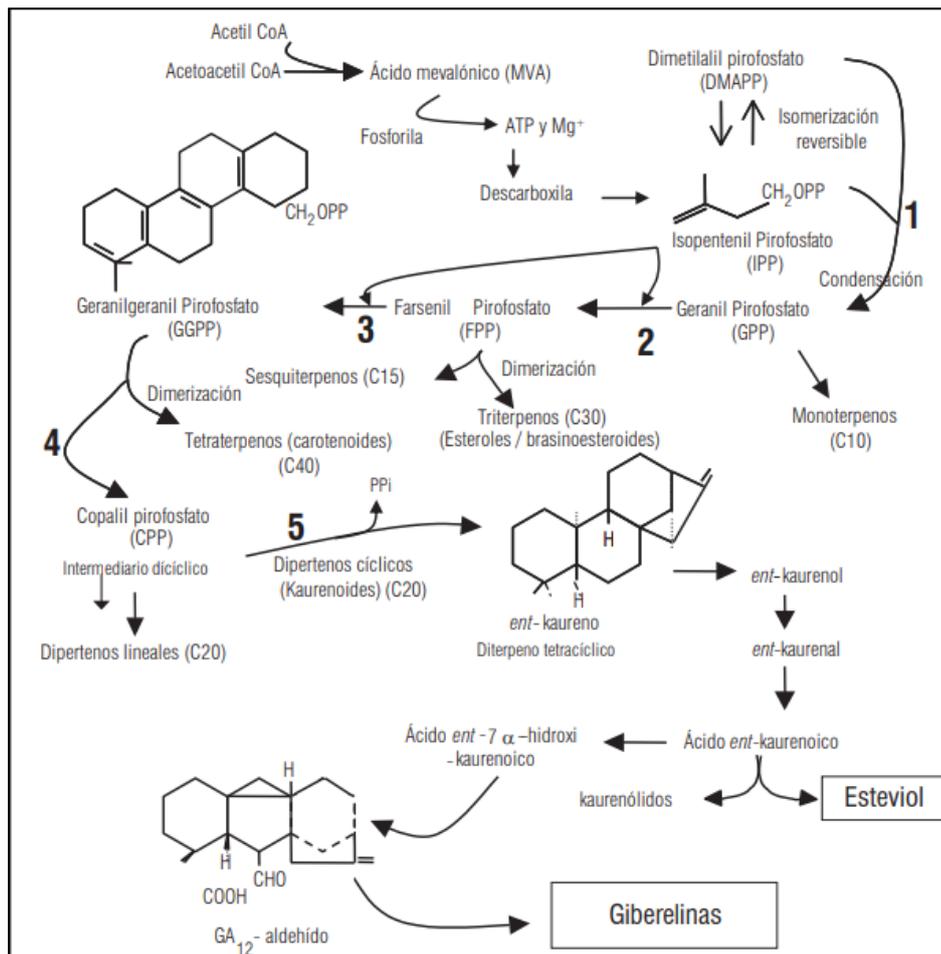


Figura 4: Enzimas que intervienen en el alargamiento de la cadena terpenica en la ruta de la esteviol

Nota. 1. GPP-sintasa; 2. FPP-sintasa; 3. GGPP-sintasa; 4. CPP-sintasa y 5. Kaurenosintetasa. Adaptado de "Aspectos nutricionales y metabolismo de *Stevia rebaudiana* (Bertoni). Una revisión" (p. 201), por A. Jarma *et al.*, 2010, Agronomía Colombiana, 28(2).

c) Glucósidos de esteviol

Según la FAO (2017), los glucósidos de esteviol consisten en una mezcla de compuestos que contienen un esqueleto de esteviol conjugado con cualquier número o combinación de las principales fracciones de azúcar (glucosa, ramnosa, xilosa, fructosa, arabinosa, galactosa y desoxiglucosa).

Asimismo, Younes et al. (2020), señala que se han identificado 60 glucósidos de esteviol en *S. rebaudiana*, desde el más bajo peso molecular (steviolmonosido, 481 gr/mol), al más alto peso molecular (rebaudiosido IX, 1778 gr/mol); en el **ANEXO 1** se mencionan los diferentes tipos de glucósidos de esteviol.

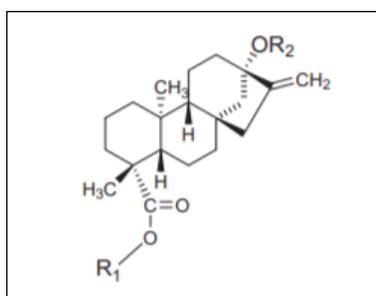


Figura 5: Estructura de la molécula de esteviol

Nota. Adaptado de “Safety of a proposed amendment of the specifications for steviol glycosides (E 960) as a food additive: to expand the list of steviol glycosides to all those identified in the leaves of *Stevia rebaudiana* Bertoni” (p. 8), por M. Younes et al., 2020, *EFSA Journal*, 18(4).

“El esteviosido y el rebaudiosido A, son los principales compuestos responsables de la edulcorancia y normalmente, están acompañados por pequeñas cantidades de otros steviol glicósidos” (Vasquez-Villalobos et al., 2012, p. 162).

En las últimas décadas se han desarrollado variedades mejoradas de *Stevia* con enfoque en la cantidad y calidad de los SGs presentes. En general, las variedades mejoradas contienen concentraciones de SG's totales elevadas y relaciones RbA/Stv altas. Con relaciones de RbA/Stv altas se reducen retrogustos indeseables en extractos de *Stevia*. Además de RbA, otros SGs deseables en hojas y extractos son RbC y Rebaudiosido D. Reb C ha sido reportado como resultado de sabor dulce en mezclas de SGs utilizadas como edulcorantes (Celaya et al. 2020).

2.2.2. Variedades cultivadas

Según Martínez (2015), *Stevia rebaudiana* cuenta con más de 144 variedades a nivel mundial. Debido a que se trata de una planta que se reproduce sexualmente con fecundación cruzada (alógama), los diferentes fenotipos que se desarrollan espontáneamente, provocan una gran diferencia del contenido de edulcorante entre las plantas, dicha variabilidad ha sido aprovechada por algunos productores para seleccionar y multiplicar plantas con características morfológicas sobresalientes y niveles elevados de estevioglicósidos (Soto, 2018).

Las variedades más importantes desde el punto de vista comercial son las siguientes:

- Variedad nativa paraguaya: Casaccia y Alvarez (2006), sostienen que esta variedad es la más utilizada comúnmente por los productores. Esta variedad, es producto de la selección empírica efectuada por años por productores, llegando la misma a presentar ciertas características propias. Se encuentra constituida por una mezcla de varios tipos de plantas, que varían en sus características morfológicas y fenológicas, es por ello que esta variedad presenta florecimiento heterogéneo.

Llega a alcanzar en promedio una altura de 60 cm, en los meses de diciembre o enero; presenta un potencial de rendimiento en condiciones experimentales, en un primer año de cultivo se obtuvo 1889 Kg/ha/año (en tres cortes), con una densidad de 100000 plantas/ha. Asimismo, el contenido promedio de Esteviósido y rebaudiosido A, alcanzan valores de 14% en una segunda cosecha.

- Variedad Morita II: fue desarrollada en Japón por Toyosigue Morita, la ventaja de esta variedad es que presentan mayores rendimientos de hoja seca y mejor contenido de glucósidos de esteviol (Rebaudiósido A), crecen mejor en zonas de clima tropical; presenta un sabor noble y dulce que otras variedades y contiene cerca de 10 a 12% de rebaudiosido A y de 2 a 4 % de steviósido, pero con mayores necesidades de manejo en el cultivo (Torres, 2006).
- Variedad Jbb: fue desarrollada por el laboratorio japonés Stevia JBB, para optimizar la producción de tallo de Stevia y aprovechar los importantes contenidos antioxidantes en el tallo (Torres, 2006).

- Variedad Eirete mejorada: Casaccia y Álvarez (2006), reportaron que en el año 2005 se lanzó oficialmente una nueva variedad, la variedad clonal genéticamente mejorada denominada IAN/VC-142, fue desarrollada por el instituto agronómico nacional de Caacupé (Paraguay), con características agronómicas ampliamente superiores a la variedad criolla. Esta presenta un ciclo más tardío que la variedad Criolla (de 10 a 12 días más largo), es de porte alto, pudiendo alcanzar 1.20 m de altura.

Posee hojas grandes y abundantes, tiene un tallo poco ramificado, permitiendo alta densidad en el cultivo. El rendimiento potencial de la variedad, obtenido en condiciones experimentales en el IAN, a una densidad de 100.000 plantas/ha, en primer año de producción es de 4990 kg/ha/año.

Otra característica resaltante es la concentración de principios edulcorantes. EIRETE presenta 7% más de Rebaudiosido A en la variedad criolla. La suma de Esteviosido y Rebaudiosido A, alcanza valores promedios de 19%.

Cabe resaltar que Cruz & Maurate (2018), señalan en la entrevista realizada al Dr. Raul Urbina (ex gerente general de Stevia One Perú), que la empresa producía sus propias variedades llamadas Seb 1 y Marc, las cuales rinden el triple que las variedades comerciales, ya que se encuentran adaptadas a las condiciones agroclimáticas de la selva del Perú.

2.2.3. Cultivo de Stevia

Los factores ambientales que más influyen en el cultivo de *Stevia rebaudiana*, vienen dados por el suelo para un buen desarrollo radicular, y el clima que influye en la producción foliar.

2.2.3.1. Requerimientos del suelo

Martínez (2015), señala que los suelos óptimos para el cultivo de la Stevia, son aquellos con pH 6.5 – 7, con mediano contenido de materia orgánica, de textura franco arenosa a franco, y con buena permeabilidad y drenaje.

Esta planta puede crecer en un amplio rango de tipos de suelo, pero tiene poca tolerancia a la salinidad, esto ocurre en los bordes de zonas marítimas o en comunidades de pastizales en suelos con capas freáticas poco profundas, donde los suelos son típicamente arenas ácidas o lodos infértiles. Stevia crecerá bien en una

amplia variedad de suelos con un suministro constante de humedad y drenaje adecuado (Ramesh et al, 2006).

2.2.3.2. Requerimientos climáticos

Martínez et al. (2015), señala que “la Stevia en su estado natural, crece en una región subtropical, semihúmeda de América, con precipitaciones que oscilan entre 1400 a 1800 mm, distribuidos durante todo el año”. Esta ocurre en áreas donde los sitios están continuamente húmedos, pero no sujetos a inundación prolongada; la estevia suele crecer en lugares con un alto nivel de agua subterránea o con suelo continuamente humedecido, la humedad óptima va desde 43 a 47.6%, y el requerimiento promedio por día es de 2.33 mm por planta (Ramesh et al, 2006).

Ramesh señala que el rango de temperatura óptima para el crecimiento de la Stevia es de 15-30°C, aunque la planta puede tolerar temperaturas críticas de 0-2°C; asimismo la Stevia tiene una alta sensibilidad a los días largo y requiere de 12-16 horas de luz.

2.2.4. Zonas de producción

La producción global de Stevia, según el Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sostenible y la Soberanía Alimentaria (CEDRSSA) (2018) indica “la producción mundial de esta planta es entre 100 mil y 200 mil toneladas”.

El 80% del cultivo mundial fue situado en China, 5% en Paraguay, 3% en Argentina, 3% en Brasil y 3% en Colombia. También se cultiva en Perú, India, Japón, Kenya, Taiwan, Vietnam y los Estados Unidos. Asimismo, China no solo cuenta con la mayor superficie para producción de *Stevia rebaudiana*, también es el mayor proveedor de extractos de estevia en el mundo, las principales zonas de plantación en China son Jiangsu, Shandong, Anhui, Helan, Zhejiang y Xinjiang (Angelini et al. 2018, p. 42).

El segundo país productor de Stevia es Paraguay, donde hay aproximadamente 2000 ha dedicadas a este cultivo, la producción anual puede llegar a cuatro millones de kilos, con un promedio productivo de 2000 kg/ha. Desde el año 2012, uno de los principales importadores de la producción paraguaya es Chima, en el año 2019 fueron exportados 288'129 kg (Red agrícola, 2019).

2.2.5. Tipos de propagación

2.2.5.1. Propagación por esqueje

La propagación de Stevia es usualmente realizada por esquejes de tallo que enraízan fácilmente, pero esto requiere altos insumos de mano de obra. Algunas variedades de Stevia producen semillas no viables, donde la propagación vegetativa es la única manera de multiplicar (Yadav et al., 2011). Shock (1982), señaló que la propagación de Stevia principalmente fue dado a través de esquejes de tallo.

Para la propagación a través de esquejes, se debe establecer una plantación madre donde se seleccionen plantas que presenten características deseables como vigor, rusticidad y productividad; esta plantación madre debe presentar un buen estado nutricional y sanitario, ya que pueden afectar considerablemente a la plantación (Martínez, 2015).

Según Yadav y colaboradores (2011), los esquejes deben tener de 2 a 3 pares de hojas, lo cual dependerá de la temporada. En cuanto a la longitud de los esquejes, esta deberá estar en el rango de 8 a 18 cm, de preferencia no es adecuado el uso de esquejes con hojas alternas ya que está es una característica de que la planta entrará en fase de floración lo que disminuye la posibilidad de enraizamiento y de tener plantas juveniles (Martínez, 2015).

El enraizamiento de los esquejes a veces puede ser estimulado con el uso de reguladores de crecimiento, como el ácido naftalacético o el ácido indol butírico en tratamiento de 500 ppm, si el tratamiento es mayor a 1000 ppm, causa una completa inhibición del enraizamiento (Yadav et al., 2011).

2.2.5.2. Propagación por cultivo de tejidos

Son un conjunto de herramientas que utilizan un explante (tejidos de una planta), pudiendo ser celular, esquejes, yemas, hojas o cualquier parte u órgano de la planta; para el cultivo en un medio nutritivo estéril bajo condiciones controladas (Rojas, 2020).

El cultivo de tejidos es un método de propagación vegetativa que permite plantaciones más uniformes. Las ventajas de la micro propagación, en comparación con sistemas convencionales, son el incremento acelerado del número de plantas, la disminución del tiempo de multiplicación, un mayor número de plantas por superficie

utilizada, el mayor control de la sanidad, el fácil transporte para intercambio internacional de materiales y la posibilidad de multiplicar rápidamente especies en peligro de extinción (Martínez, 2015).

La propagación in vitro consta de cinco etapas; la etapa 0 o inicial para seleccionar una planta madre; la etapa I de iniciación o establecimiento para el cultivo inicial o primario; la etapa II de multiplicación de brotes; la etapa III de enraizamiento o pre-trasplante para producir una planta autotrófica que sobreviva en las condiciones de trasplante del suelo y la etapa IV de transferencia final al medio ambiente (Martínez, 2015).

Sin embargo, en trabajos de multiplicación realizados en Ecuador, se han variado las etapas tradicionales del cultivo de tejidos; etapa 0: selección del explante; etapa I de introducción en cultivo inicial; etapa II multiplicación in vitro; etapa III multiplicación en sistema autotrófico hidropónico (SAH), en sustrato de coco; finalmente la etapa IV de enraizamiento y aclimatación en bandejas de multiplicación (Martínez, 2015).

2.2.5.3. Propagación por semillas

La reproducción en la naturaleza es principalmente por semilla, pero la germinación y el establecimiento de la semilla son a menudo pobres y a veces sin éxito, debido a la baja producción de semillas y a la escasa capacidad de germinación (Yadav et al, 2011).

Carneiro & Guedes (1992) señalan que los estudios de fertilidad y producción de semillas sugieren que son posibles altas tasas de germinación a partir de líneas seleccionadas.

Asimismo, Yadav et al (2011) indica que “existen dos tipos de semillas, las negras y las de color café”. Goettemoeller & Ching (1999) investigó la baja germinación de semillas, donde obtuvo que las semillas negras son más viables que las de color café, 76.7% frente a 8.3%, respectivamente.

Sin embargo, en algunos casos se realiza la producción de plántulas a través de semillas en almácigos convencionales, pero teniendo en cuenta prácticas especiales para disminuir las pérdidas. Es importante resaltar que la propagación por medio de

semillas es útil especialmente para el mejoramiento genético, pero no para cultivos comerciales (Martínez, 2015).

2.2.6. Cultivos hidropónicos

El término hidroponía es derivado de las palabras griegas hidro que significa agua, y ponos que significa trabajo, este es un método de cultivo de plantas utilizando soluciones nutritivas minerales sin suelo. Las plantas terrestres pueden ser cultivadas con sus raíces inmersas en una solución nutritiva o en un medio inerte como perlita, grava u otros, siempre y cuando se oxigene la solución nutritiva (Sardare et al., 2013).

El término hidroponía, fue acuñado con el profesor William Gericke a principios de la década de 1930, en el que describe el cultivo de plantas con las raíces suspendidas en agua que contiene nutrientes. Investigadores de la Universidad de Purdue, en el año 1940, desarrollaron un sistema hidropónico. Durante los años 1960 y 1970, los cultivos hidropónicos comerciales fueron se desarrollaron en Arizona, Abu Dhabi, Bélgica, California, Dinamarca, Alemania, Holanda, Irán, Italia, Japón, entre otros (Sharma et al., 2018)

2.2.6.1. Tipos de sistemas hidropónicos

Sardare et al. (2013), indican que “se utilizan diversas técnicas de cultivo hidropónico; sin embargo, los factores que se consideran en seleccionar una técnica son: el espacio, la productividad esperada, la disponibilidad de sustrato y la calidad esperada”

En Centro de Investigación de Hidroponía y Nutrición Mineral (Rodríguez et al., 2002) indica que los sistemas hidropónicos se pueden dividir en sistema hidropónicos en agua, y sistemas hidropónicos en sustratos. En los sistemas en agua las raíces están en contacto con el agua, donde las plantas crecen y desarrollan; en los sustratos inertes, la solución nutritiva fluye entre las partículas del sustrato humedeciendo las raíces.



Figura 6: Sistemas hidropónicos - métodos no circulantes

Nota. a) Técnica de acción de capilaridad. Adaptado de “A review on plant without soil - hydroponics” (p. 300), por Sardare et al., 2013, *International Journal of Research in Engineering and Technology*, 2(3).

2.2.6.2. Tipos de sustratos usados en cultivo sin suelo

Mora (2011), indica que “el término sustrato, se aplica a materiales sólidos diferentes al suelo, ya que se emplea como sostén para la planta, mas no como aporte nutricional”.

El sustrato es todo material sólido que puede ser usado como reemplazo del suelo, y sirve como medio de crecimiento de las plantas. La función principal del sustrato es permitir el anclaje de las raíces y el soporte mecánico de la planta, el crecimiento de la raíz en sustrato es más rápido y vigoroso que en suelo (Rodríguez et al., 2002).

En principio no existe un sustrato ideal o único, porque se puede utilizar una gran diversidad de sustratos ya sea puros o mezclas como: arena, grava, piedra pómez, cascarilla de arroz, etc. Un sustrato adecuado debe ser químicamente inerte, fácil de conseguir, retentivo, no salino y durable (Rodríguez et al., 2002).

Existen dos tipos de sustratos según su origen los orgánicos e inorgánicos. En el primero, se encuentra la cascarilla de arroz, piedra pómez, aserrín, viruta, entre otros; mientras que los de origen inorgánico se encuentra las escorias de carbón mineral quemado, tobas volcánicas, arenas de río, grava fina, maicillo, entre otros. Para todos los tipos de sustratos es importante realizar lavados y desinfectarlo para evitar la inclusión de microorganismos que puedan afectar al cultivo (FAO, 2003).

Rodríguez et. al. (2002), indica como propiedades de los sustratos:

a) Propiedades físicas

Las propiedades físicas de los sustratos dependen del tamaño de las partículas que lo constituyen. Un buen sustrato debe tener una mezcla de diferentes tamaños de partículas entre 0.2 mm a dos mm de diámetro que permita la disponibilidad de agua y aire adecuadas para conseguir un mejor desarrollo del cultivo.

b) Propiedades químicas

- Salinidad

Hace referencia a la concentración de las sales solubles en la solución del sustrato. Debido al reducido volumen del medio de cultivo que disponen las raíces de las plantas cultivadas en sustratos aumenta el riesgo de acumulación de niveles excesivos de sales disueltas, lo que se conoce como salinidad.

Rango óptimo menor a 1.0 dS/m

- pH

Las plantas pueden sobrevivir en un amplio rango de pH del sustrato sin sufrir desórdenes fisiológicos aparentes, siempre y cuando todos los nutrientes se suministren en forma asimilable. No obstante, el crecimiento y desarrollo de las plantas se ven reducidos de modo marcado en condiciones de acidez y alcalinidad extremas.

Rango óptimo entre 5.5 a 7.0

2.2.6.3. Tipos de sustratos hidropónicos

Rodríguez et al. (2002), señala que “existen diversos factores que se deben considerar para un adecuado control y manejo de la solución nutritiva, lo cual repercutirá directamente en la calidad del producto obtenido”.

a) pH

El potencial de hidrogeno (pH), determina la disponibilidad de elementos vegetales esenciales, el rango óptimo de la solución nutritiva para el desarrollo de las plantas, deberá encontrarse de 5.5 a 6.5, para la mayoría de las plantas; sin embargo, esto puede variar de acuerdo a la especie (Sharma et al., 2018).

b) Conductividad eléctrica

La conductividad eléctrica de la solución ideal para la mayoría de cultivos está entre 1.5 y 2.5 dS/m. Una conductividad eléctrica más alta evitará la absorción de nutrientes debido a la presión osmótica, y el nivel más bajo afectará gravemente a la salud de las plantas y el rendimiento, es por ello que es importante el manejo apropiado de la conductividad eléctrica en la técnica de cultivo hidropónico (Sharma et. al., 2018).

c) Boro y sodio

Es importante monitorear la concentración de los elementos Boro y Sodio en el agua a usar, el Na en cantidades altas (mayor a 50 ppm) y el B (mayor a 0.7 ppm) provocarán toxicidad, sobre todo en los cultivos más sensibles (Rodriguez et al., 2002).

d) Carbonatos y bicarbonatos

El contenido de bicarbonatos (HCO_3^-) y carbonatos (CO_3^-) es preferible que el agua esté libre o contenga bajas concentraciones de ambos aniones. En aguas con alto contenido de carbonatos (mayor a 5.0 meq/L), el calcio, magnesio y el hierro tienden a precipitar y, por lo tanto, no estarían disponibles para las plantas mostrando síntomas de deficiencia (CIHNM, 2017).

e) Disponibilidad de nutrientes

Las soluciones de nutrientes están compuestas por 13 elementos esenciales, cada nutriente tiene una adecuada concentración y proporciones de acuerdo a la especie. Sin embargo, la concentración iónica en las soluciones nutritivas cambia con el tiempo y posteriormente se produce un desequilibrio de nutrientes en el sistema hidropónico cerrado (Son et. al, 2020).

2.2.6.4. Cultivo hidropónico en *Stevia rebaudiana*

Existen investigaciones previas realizadas sobre la técnica hidropónica en *Stevia*; Kafle et al. (2017), realizó el cultivo hidropónico de *Stevia rebaudiana* evaluando la técnica del elemento faltante, es decir, el efecto de la omisión de un nutriente, variando el pH en la solución en la concentración de steviolglicosidos (SG), y obtuvo que para lograr el máximo rendimiento de la hoja, el pH de la solución debe ser menor a 7.0, asimismo, para obtener un buen rendimiento de SG se deberá evitar las deficiencias de micronutrientes (Cu y Fe), y provisionar de N y P en concentraciones adecuadas.

Por otro lado, Ossa et al. (2017) realizó el cultivo en un sistema cerrado del tipo NFT en donde señala que el sistema aplicado requirió ajustes con el fin de realizar pruebas y mediciones fiables, asimismo indica que la variable más crítica fue la humedad relativa, si esta es menor al 66% sus hojas presentan síntomas de deshidratación y pérdida de vitalidad, bajo condiciones de Medellín, Colombia.

2.2.6.5. Importancia del potasio en *Stevia rebaudiana*

El K^+ es un activador de muchas enzimas esenciales para la fotosíntesis y la respiración, entre ellas las que son necesarias para formar almidón y proteínas. Adicionalmente el potasio, es uno de los contribuyentes más importantes al potencial osmótico de las células y, por tal, también a su presión de turgencia, siendo esencial en el balance de las cargas negativas de ácidos orgánicos y de aniones tales como el sulfato y nitrato absorbidos por las raíces del medio externo y manteniendo la electro-neutralidad de las células (Taiz & Zeiger, 2006). El mecanismo estomático depende del flujo de iones K^+ . por lo que plantas que crecen bajo deficiencias de este nutriente presentan daños en esta actividad.

Siendo el K^+ activador de varias enzimas, su deficiencia ocasiona disturbios en eventos metabólicos, por ejemplo, acumulación de compuestos nitrogenados libres o solubles. Estos compuestos pueden ser aminoácidos, como putrescina, N-carbamilputrescina y agmatina.

De Lima Filho & Malavolta (1997), encontraron menor proporción de ramas en *Stevia* ante deficiencias de K. Una disminución en la proporción de ramas puede generar una menor migración de fotoasimilados a través de los vasos conductores, lo que probablemente esté relacionado con el proceso de fosforilación (producción de ATP), ya que cuando el nivel de K es alto, podría ocurrir un estímulo en la producción de ATP.

2.2.6.6. Importancia de la poda en la agricultura

La Sociedad Colombiana de Ciencias Hortícolas (2009), señala que la poda consiste en la modificación de los ejes de crecimiento de la planta y puede realizarse en diferentes fases del desarrollo y con distintas finalidades como:

- A. Modificar la bioarquitectura de las plantas, al permitir la formación de diferentes tipos de ramificación sobre la estructura de soporte de cultivo.

- B. Determinar el porte final de la planta manteniendo las plantas sin entrecruzamientos con plantas vecinas.
- C. Modificar el vigor, fortalecer y engrosar las ramas, para mejorar la capacidad de brotación y finalmente aumentar la productividad de las plantas.

La poda se hace para orientar la actividad vegetativa de la planta hacia un fin predeterminado, la cual puede ser ornamental, fructificación o floración. Esta es una práctica cultural para regular la capacidad vegetativa y reproductiva del cultivo, que está definida genéticamente según la especie e influenciada por las condiciones ambientales del manejo.

El efecto directo de la poda es la estimulación del crecimiento vegetativo, ya que se produce una alteración del equilibrio entre la copa y las raíces. A largo plazo, su efecto es una reducción en el crecimiento total de la planta, sobre todo si la poda es frecuente, caso en el que se disminuye el área foliar y se produce un abastecimiento menor a las raíces de asimilados. Un crecimiento de las ramas inhibe el crecimiento radical, pero, por el contrario, el crecimiento débil de la copa fomenta el de las raíces (Casierra-Posada & Fischer, 2012, pp. 170-171).

III. MATERIALES Y METODOLOGÍA

3.1. Lugar de ejecución

Debido a la pandemia del COVID-19 y, por las dificultades para realizar la investigación en el campus de la universidad, la presente investigación se tuvo que realizar en un biohuerto doméstico, ubicado en la Calle Luxemburgo #137, Urb. Los Portales de Javier Prado, segunda etapa, en el distrito de Ate, provincia y región de Lima, localizado en las coordenadas latitud 12°02'39.8''S, longitud 76°55'55.3''W y a una altitud de 280 msnm.

3.2. Infraestructura del área

El área constó de 20 metros cuadrados, ubicado en el tercer nivel, no se realizó ningún tipo de cobertura con mallas agrícolas, manteniéndose el cultivo en el nivel mencionado.

3.3. Materiales

Para el desarrollo de esta investigación se emplearon plantas provenientes de esquejes de la especie *Stevia rebaudiana* variedad Criolla, de un mismo lote de producción propagadas en la ciudad de Tumbes por una asociación productora lideradas por el Sr. Anderson Quispe Zevallos, quien indicó que dicha variedad fue importada de Paraguay.

a) Materiales de laboratorio

- Probeta de 1000 mL
- Pipetas de 10 mL
- Bombillas de succión

b) Reactivos

- Solución hidropónica A – La Molina
- Solución hidropónica B – La Molina
- Sulfato de potasio
- Buffer 7.0
- Buffer 4.0

- Agua destilada
- Lejía 5.0%
- c) Materiales de campo
 - Cuaderno de apuntes
 - Wincha métrica
 - Arena de cantera
 - Macetas de cuatro litros
 - Baldes de cinco litros
 - Bandejas
 - Tamiz
 - Jarras medidoras
 - Etiquetas de pincho
 - Plumón indeleble
 - Bolsas Ziploc
 - Bolsas de papel
 - Tierra de diatomeas
- d) Equipos
 - pH/conductímetro
 - Balanza de gramo
 - Balanza analítica
 - Horno microondas

3.4. Metodología

3.4.1. Homogenización de las plántulas

A partir de las cien plántulas propagadas por esquejes provenientes de la ciudad de Tumbes, se seleccionaron 56, donde se consideró la similitud en las características morfológicas como altura, peso, color de follaje, desarrollo radicular, además del estado sanitario de cada una de ellas. Posteriormente, al material vegetal se le dio dos semanas de aclimatación, quedando en óptimas condiciones para ser empleadas en esta investigación.

3.4.2. Instalación del experimento

3.4.2.1. Preparación del sustrato y siembra

Se empleó como sustrato arena de cantera, la cual se le realizó un tratamiento previo para su uso, el cual fue tamizado, lavado y desinfectado.

- a) Primero se tamizó para hacer una selección de partículas, éstas estuvieron en un rango de 0.5 mm a 2 mm, que es el tamaño ideal para realizar siembras directas o trasplantes definitivos.

- b) Luego, se realizó dos lavados con agua del sustrato inerte, para ello se colocó en un recipiente y se llenó con agua, con la finalidad de retirar cualquier tipo de tierra o material extraño.
- c) Posteriormente, para la desinfección se empleó hipoclorito de sodio al uno por ciento (10 ml de lejía en un L de agua), para ello se colocó en un recipiente el sustrato con la solución desinfectante y se dejó reposar durante una hora, luego se retiró el excedente.

Finalmente, se enjuagó tres veces con agua y se dejó secar el sustrato al aire libre durante dos días, una vez que se encontró completamente seco, se homogenizó todo el sustrato y se procedió a llenar macetas plásticas de 4 litros de capacidad con el sustrato para poder sembrar las plántulas de estevia.

3.4.2.2. Preparación de tratamientos

La solución nutritiva base (T0) empleada fue obtenida en el Centro de Investigación de Hidroponía y Nutrición Mineral de la Universidad Nacional Agraria La Molina, la cual consta de:

Solución Concentrada A:

Cantidad de fertilizantes para 5.0 litros

Nitrato de potasio 13.5% N, 45% K ₂ O	550.0 g
Nitrato de Amonio 33% N	350.0 g
Superfosfato triple de Calcio 45% P ₂ O ₅ , 20% CaO	180.0 g

Solución Concentrada B:

Cantidad de fertilizantes para 2.0 litros

Sulfato de magnesio 16% MgO, 13% S	220.0 g
Quelato de hierro 6% Fe	17.0 g
Solución de micronutrientes	0.4 L

Solución de micronutrientes:

Cantidad para un litro de concentrada

Sulfato de manganeso MnSO ₄ .4H ₂ O	5.0 g
Ácido bórico H ₃ BO ₃	3.0 g
Sulfato de zinc ZnSO ₄ .7H ₂ O	1.7 g
Sulfato de cobre CuSO ₄ .5H ₂ O	1.0 g
Molibdato de amonio (NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	0.2 g

Para la preparación de la solución nutritiva T0, se agitó previamente ambas soluciones, donde en un litro de agua se agregó cinco mL de solución concentrada A y dos mL de solución concentrada B.

Tabla 4: Concentración de la solución nutritiva preparada con la solución hidropónica La Molina

Elemento	Concentración	Elemento	Concentración
Potasio	210 ppm	Hierro	1.0 ppm
Nitrógeno	190 ppm	Manganeso	0.50 ppm
Calcio*	150 ppm	Boro*	0.50 ppm
Azufre*	70 ppm	Zinc	0.15 ppm
Magnesio*	45 ppm	Cobre	0.10 ppm
Fosforo	35 ppm	Molibdeno	0.05 ppm

Nota. * La concentración de la solución nutritiva incluye las cantidades que aporta el agua: 125 mg Ca/L, 24 mg Mg/L, 42 mg S/L, 0.3 ppm B/L.

En cuanto a la preparación del sulfato de potasio concentrado, se usó 120 gramos disuelto en un litro de agua destilada, donde cada mL de esta solución concentrada preparada aportó 50 mg de potasio a la solución nutritiva.

En base a ello, los tratamientos fueron los siguientes:

T0: 210 ppm K (Control)

T1: 260 ppm K

T2: 310 ppm K

T3: 360 ppm K

Además, se evaluó la influencia de la poda en las plántulas. La poda se realizó en la mitad de unidades experimentales de cada tratamiento, cortando en el segundo entrenudo desde la parte apical de la planta después de dos días de ser trasplantadas a maceta.

3.4.2.3. Riegos y mantenimiento

Los riegos se realizaron de manera interdiaria, debido a la temporada de invierno; en cada riego se aplicaba cien ml de solución nutritiva durante el ciclo de vida del cultivo. Asimismo, para el mantenimiento de la solución nutritiva y unidades experimentales, se tomó en cuenta lo siguiente:

- El valor del pH de la solución nutritiva se mantuvo entre 6.0 y 6.7. En caso el valor se encontraba por debajo de 6.0, el pH se ajustaba aplicando hidróxido de potasio y, en caso el pH estaba sobre 7.0, se adicionaba ácido fosfórico, para llevar al rango óptimo.
- La conductividad eléctrica se mantuvo en el rango de 1.5 a 2.2 dS/m, si es que el valor se encontraba por debajo del rango óptimo, se adicionaba más solución concentrada A y B; si la conductividad eléctrica superaba el rango óptimo, solo se agregaba agua.
- La temperatura de la solución nutritiva no excedió los 30°C.
- La solución nutritiva se preparó al momento de cada riego.

3.4.3. Evaluación de parámetros

3.4.3.1. Evaluación de biomasa

Para la evaluación de la biomasa, se evaluó al final del ciclo del cultivo los siguientes parámetros: peso fresco de hojas, tallos y raíz; peso fresco de hojas y raíz.

3.4.3.2. Análisis foliares

Para la realización de los análisis foliares completos de macronutrientes y micronutrientes, se tercerizó con la empresa AGQ Labs, donde se analizó la concentración de nutrientes en hoja seca.

3.4.3.3. Análisis de glicósidos de esteviol

Para la realización de los análisis de glicósidos de esteviol se tercerizó con el Instituto de Biotecnología (IBT), en el área de Biotecnología Industrial y Bioprosos de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM), donde se analizó la concentración de dos esteviolglicósidos, Rebaudiosido A y Steviosido, según cada tratamiento.

3.4.3.4. Análisis de agua

Para la realización del análisis de agua estándar, se tercerizó con el Laboratorio de Análisis de Suelos y Plantas, perteneciente a la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM), donde se analizó la calidad de agua empleada.

3.4.4. Diseño experimental, modelo y análisis estadístico

El diseño experimental se describe a continuación:

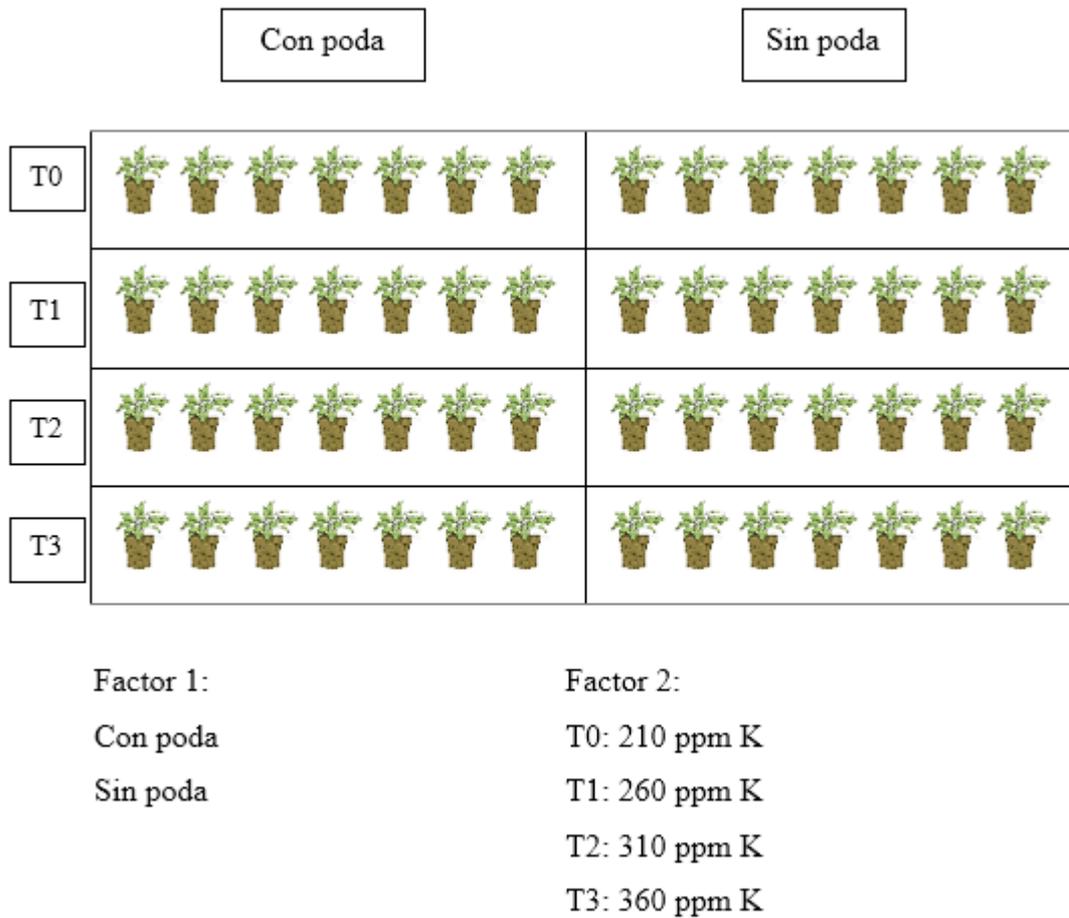


Figura 7: Diseño experimental

Se empleó el diseño completamente al azar con arreglo factorial $p \times q$ con dos factores (niveles de potasio y, con y sin poda) en DCA, considerando cuatro factores de concentración de potasio (K) en la solución nutritiva y dos factores en la poda estructural. Asimismo, se realizó un Análisis de Varianza (ANOVA), para evaluar la existencia de diferencias significativas, para los datos de evaluación de biomasa, concentración de glicósidos de esteviol y absorción de nutrientes.

El modelo estadístico es el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

$$i = 1, \dots, p [p = 4]; j = 1, \dots, q [q = 2]; k = 1, \dots, r [r = 7]$$

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A los 77 días, desde sembrado los plantines, se realizó la poda y cosecha para cuantificar la biomasa, absorción de nutrientes y producción de glicósidos de esteviol, según cada tratamiento.

4.1. Evaluación de crecimiento

A través del análisis de varianza y el test de LSD Fischer, para un nivel de significancia de 0.05, se encontraron diferencias significativas para las variables altura y peso fresco de tallo; sin embargo, no se encontró interacción entre los factores poda y niveles de potasio (Tabla 5). No se encontraron diferencias significativas entre los dos factores estudiados ni en la interacción, para las variables peso fresco de hoja, peso seco de hoja y peso seco de raíz.

Con el tratamiento sin poda (SP), las plantas alcanzaron mayor altura con respecto al tratamiento con poda (CP). Evaluando los niveles de potasio aplicados, las plantas cultivadas con una concentración de 360 ppm de potasio alcanzaron mayor altura. Por otro lado, las plantas podadas obtuvieron mayor peso fresco de tallos con respecto a las plantas no podadas.

Tabla 5: Efecto de los niveles de potasio y poda sobre el crecimiento de plantas de estevia. Valores promedio de 7 plantas.

Factor 1	Factor 2	Altura (cm)	PF Hoja (g)	PF Tallo (g)	PS hoja (g)	PS raíz (g)
SP	T0	16.51ab	22.57a	5.71a	6.00a	1.53 ^a
SP	T1	16.08ab	21.29a	4.14a	6.17a	1.81 ^a
SP	T2	16.74ab	19.28a	4.29a	6.33a	2.49 ^a
SP	T3	18.91a	21.71a	4.57a	6.50a	2.22 ^a
CP	T0	13.91bc	25.57a	6.14b	6.67a	1.51 ^a
CP	T1	13.89bc	24.86a	5.86b	7.00a	2.08 ^a
CP	T2	13.80bc	23.86a	6.57b	7.17a	2.14 ^a
CP	T3	15.37b	22.00a	5.86b	7.17a	2.19 ^a

²Medias con la misma letra, dentro de columnas, son iguales de acuerdo con la prueba de Fisher a una $P \leq 0.05$.
Nota. SP: Sin poda, CP: Con poda, PF: Peso fresco, PS: Peso seco. Elaboración propia.

La mayor altura alcanzada en las plantas sin poda coincide con los datos obtenidos por Abdullateef y Osman (2012), quienes indican que las células meristemáticas apicales son las encargadas de la secretar auxinas, promoviendo la dominancia apical. Las auxinas son transportadas polarmente hacia la zona radicular, inhibiendo el desarrollo de las yemas laterales; sin embargo, cuando se retira la dominancia apical se induce la dormancia temporal de las yemas inferiores.

Es importante resaltar, el efecto de la interacción entre fitohormonas; las citoquininas estimulan el desarrollo morfogénico vegetal, su efecto ocurre en presencia de auxinas, esto debido a su alta complementariedad en el estímulo del desarrollo; mientras que un mayor nivel de auxinas podría incrementar la producción de raíces. Por otro lado, una concentración mayor de citoquininas induciría a una mayor producción de brotes o yemas vegetales (Alcantara et al., 2019). Coenen y Lomax (1997), señalan que, ante una decapitación, por tanto, una eliminación de la fuente de auxina, conduce a un mayor incremento de citoquininas en exudados del xilema.

Asimismo, Kebrom (2017), señala que existen diferentes teorías respecto a la dominancia apical; una de ellas denominada desviación, en la que indica que la auxina de origen apical inhibe la biosíntesis de citoquininas en el tallo, el cual estimula el desarrollo de brotes y a su vez promueve la biosíntesis de estrigolactonas en las raíces que inhiben el crecimiento de brotes; por otro lado, señalan que la glucosa es una molécula muy importante, ya que está puede limitar el crecimiento en la planta durante su etapa de ramificación, es por ello que el crecimiento del tallo inducido por auxinas inhibe indirectamente los brotes al privar de los azúcares necesarios para su crecimiento.

Singh et al. (2015), encontraron en su investigación que las plantas de *Stevia rebaudiana* alcanzaron mayor altura de 61.6 cm cuando fueron fertilizadas con un nivel de potasio (150 kg de K₂O/ha) respecto a las plantas del tratamiento control, que alcanzaron una altura de 33.0 cm. El potasio es uno de los macroelementos de más importancia en la nutrición la Stevia. Ma et al. (2011), mencionan que el potasio en una adecuada dosis es favorable ya que promueve la actividad radicular, la resistencia al estrés, la tasa de fotosíntesis e incrementa el crecimiento.



Figura 8: Cultivo de *Stevia rebaudiana* bajo tratamiento SP (sin poda) a los 77 días



Figura 9: Cultivo de *Stevia rebaudiana* bajo tratamiento CP (con poda) a los 77 días

Tabla 6: Efecto de los niveles de potasio y poda sobre número de ramas, hojas y área foliar. Valores promedio de 7 plantas.

Factor 1	Factor 2	Número de ramas	Número de hojas	Área foliar par 1 (cm²)	Área foliar par 2 (cm²)
SP	T0	12.86bcd	328.42b	7.60ad	8.20ad
SP	T1	11.57bc	306.42b	6.50acd	6.71acd
SP	T2	6.42a	308.57b	4.95ac	5.33ac
SP	T3	10.00b	290.29b	4.83ac	4.91ac
CP	T0	15.71d	365.43b	9.83bd	9.84bd
CP	T1	15.14d	342.71b	7.97bcd	8.54bcd
CP	T2	14.14cd	362.29b	7.61bc	7.84bc
CP	T3	11.00bc	278.86b	8.17bc	8.59bc

²Medias con la misma letra, dentro de columnas, son iguales de acuerdo con la prueba de Fisher a una $P \leq 0.05$.

Como se puede observar en la Tabla 6, a través del análisis de varianza y el test de LSD Fischer, para un nivel de significancia de 0.05, se encontró que existen diferencias significativas para la variable número de ramas en ambos factores, así como una interacción entre ellos, mostrando mayor número de ramas entre la interacción del factor 1 CP “con poda” y factor 2 tratamiento 1 (210 ppm K), como se muestra en la Figura 8. Adicionalmente, también se halló significancia para el área foliar, mostrando mayores valores para el factor 1 CP “con poda” (ver Figura 11), y factor 2 tratamiento 0 (ver Figura 12).

Los valores obtenidos para peso fresco de tallo y número de tallos, coinciden con los resultados de las investigaciones realizadas por Abdullateef y Osman (2012) y González et al. (2019). Cuando se realiza una poda estructural a las plantas, las yemas inferiores proceden a activarse, incentivando el crecimiento de las ramas, generando mayor número de ramas y, por consiguiente, peso (Abdullateef & Osman, 2012).

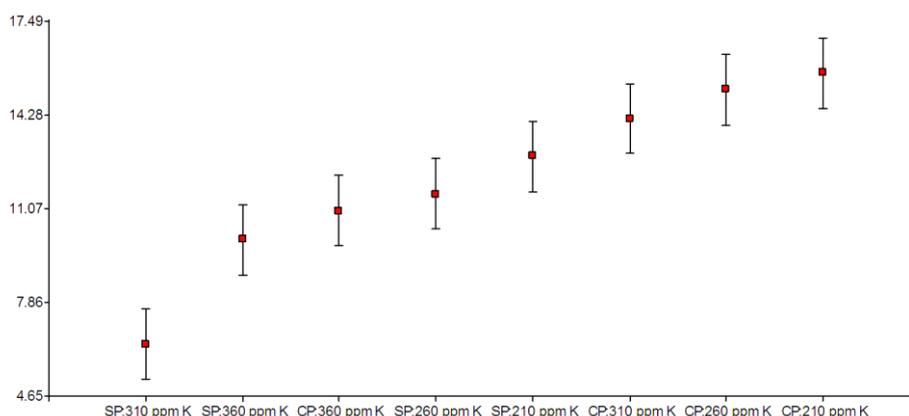


Figura 10: Diagrama de cajas de la variable número de ramas

Es importante resaltar, que se obtuvo mayor número de ramas con T0 (210 ppm K), para ambos factores, lo cual coincide con los resultados de Maniruzzaman et al. (2017), donde incrementó el número de ramas con un nivel de potasio de 200 kg K₂O/ha de 3.0 a 7.7 número de ramas en promedio respecto al tratamiento testigo; sin embargo, éste disminuyó lentamente, conforme se incrementó el nivel de potasio hasta llegar a los 250 kg K₂O/ha. De igual forma, para la variable área foliar hubo un incremento del 80%; para condiciones de la investigación, se obtuvo un mayor valor con una concentración de 210 ppm K. Es importante resaltar que el área foliar es un parámetro de crecimiento que determina la capacidad de la planta, a captar energía solar para la fotosíntesis, la cual tiene influencia en el crecimiento de la misma (Maniruzzaman et al., 2017).



Figura 11: Quinto par de hojas de tratamiento T0 (210 ppm K) con poda



Figura 12: Quinto par de hojas del tratamiento T0 (210 ppm K) sin poda

Tamara (2016), menciona que el potasio en altas cantidades puede inhibir la absorción del Mg y B, ya que son elementos antagonistas; asimismo, Jarra et al. (2010), señalan que, en plantas con deficiencia de boro, se desactiva la división celular en el tallo y hojas jóvenes; investigaciones realizadas por Maurya y Garg (2020), obtuvieron mayor área foliar, así como número de tallos con el tratamiento de 6 kg/ha de boro, el cual fue la mayor cantidad de fertilizante brindado. El boro es un micronutriente importante en el desarrollo de paredes celulares, división celular, actividad de hormonas y transporte de azúcares; sin embargo, en altas concentraciones puede causar reducción en la tasa de fotosíntesis e inhibición de la división celular (Maurya y Garg, 2020).

4.2. Evaluación de la concentración y absorción de nutrientes en hojas

La concentración de macronutrientes en hojas de estevia se muestra en la Tabla 7. La absorción de macronutrientes en hojas de plantas de estevia se muestra en el Tabla 8, información obtenida con los resultados del análisis foliar y el peso seco de hojas (Tabla 5).

Tabla 7: Efecto de los niveles de potasio y poda sobre el contenido de macronutrientes en hojas plantas de estevia.

Factor 1	Factor 2	N (%)	P (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)	S (%)
SP	T0	3.32	0.35	2.81	1.28	0.43	0.50
SP	T1	3.36	0.41	3.26	1.26	0.42	0.61
SP	T2	3.01	0.40	3.06	1.09	0.37	0.65
SP	T3	3.13	0.34	3.06	0.98	0.36	0.50
CP	T0	3.39	0.34	2.96	1.31	0.44	0.44
CP	T1	3.27	0.37	3.09	1.12	0.39	0.49
CP	T2	3.21	0.33	3.20	1.18	0.41	0.47
CP	T3	3.17	0.31	3.14	1.07	0.40	0.36

Tabla 8: Efecto de los niveles de potasio y poda sobre la absorción de macronutrientes en hojas de plantas de estevia. Valores promedio de 6 plantas.

Factor 1	Factor 2	mg N	mg P	mg K	mg Ca	mg Mg	mg S
SP	T0	215.8a	22.75a	182.65a	83.20a	27.95a	32.50 ^a
SP	T1	212.8a	25.96a	206.46a	79.80a	26.60a	38.63 ^a
SP	T2	180.60a	24.00a	183.60a	65.40a	22.20a	39.00a
SP	T3	193.01a	20.96a	188.70a	60.43a	22.20a	30.83 ^a
CP	T0	226.00a	22.66a	197.33a	87.33a	29.33a	29.33b
CP	T1	234.35a	26.51a	221.45a	80.26a	27.95a	35.11b
CP	T2	230.05a	23.65a	202.66a	74.73a	25.96a	29.76b
CP	T3	221.90a	21.70a	209.93a	72.43a	26.76a	25.10b

²Medias con la misma letra, dentro de columnas, son iguales de acuerdo con la prueba de Fisher a una $P \leq 0.05$.

A través del análisis de varianza y el test de LSD Fischer, para un nivel de significancia de 0.05, no se encontraron diferencias significativas en la absorción de cinco macronutrientes evaluados en hojas de estevia; sin embargo, para el caso de absorción de azufre, se encontró diferencias significativas para el factor 1 (poda).

Los datos reportados de absorción de nutrientes, se ajustan a los de Pérez y Calvache, (2018), quienes analizaron la absorción de macronutrientes en estevia cada 15 días. Sus valores obtenidos fueron de 176.14 mg N/planta, 23 mg P /planta y 25.71 mg Mg /planta a los 60 días; 188.85 mg K /planta a los 45 días y 75.28 mg Ca /planta a los 30 días; sin embargo, no se registran coincidencias con los valores de absorción de S el cual registró 52.86 mg S/planta a los 60 días (se consideró una densidad poblacional de 70'000 plantas de estevia/ha).

De igual forma, los datos reportados por De Lima et. al (1997b), analizaron la absorción de nutrientes cada 15 días, en diferentes órganos de plantas de estevia, obteniendo datos de 74.3 mg N/planta, 4.5 mg P/planta, 48.3 mg K/planta, 18.2 mg Ca/planta, 3 mg Mg/planta y 2.9 mg S/planta en hojas a los 60 días después de sembrado; sin embargo, la cantidad de nutrientes absorbidos por planta dependerá de la producción obtenida, la cual también se encontrará influenciada por la variedad, como se demuestra en la investigación realizada por Villalba-Martínez y Oroa-Pfefferkorn (2018).

Es importante resaltar el gran dinamismo de la absorción de macronutrientes dependiendo del estado fenológico y órgano, ya que en estado de pre floración hay una alta redistribución de elementos hacia los órganos productivos; sin embargo, para el caso de K, este elemento

migra en menor cantidad por la alta actividad fotosintética en la pre floración, donde es requerida su alta eficiencia en la apertura y cierre estomático (Jarma et. al, 2012).

En nitrógeno influye en el crecimiento del tamaño de la célula y aumento de grosor de sus paredes; la división y la expansión celular (Jarma et. al, 2010). El fósforo es un importante elemento que participa en los procesos metabólicos más intensos de los tejidos meristemáticos, que incluyen división y expansión celular, respiración y fotosíntesis (De Lima et al., 1997b).

Villalba-Martínez y Oroa-Pfefferkorn (2018) realizaron un comparativo entre 03 variedades de estevia AKHL1 (Pure cycle 1), Eirete y Katupyry, sobre la concentración y absorción de nutrientes a los 60 días desde sembrado, dichos datos de absorción de nutrientes son superiores a los obtenidos; excepto el de la absorción de S en la variedad de Katupyrys, la cual fue en promedio 31.5 mg/planta. Debe tenerse en cuenta que, la variable del peso seco en hoja es predominante para el cálculo de la absorción cuenta, este en promedio fue de 17.3 gramos entre las tres variedades estudiadas, respecto a los 6 gramos de hoja seca por planta obtenido bajo condiciones de la presente investigación.

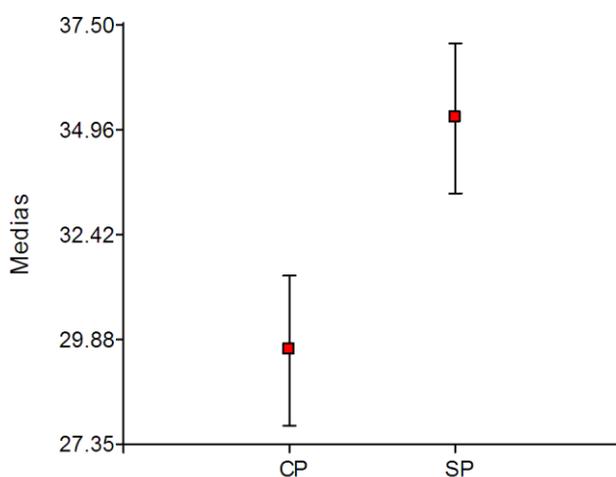


Figura 13: Diagrama de cajas de la variable absorción de Azufre

La Figura 13, muestra una mayor de absorción de azufre en plantas que no fueron podadas con una media de 35.24 mg S, respecto a las que fueron podadas con una media de 29.83 mg S; Azcon Bierto & Talón (2008), mencionan que el transporte activo de sulfato al interior de las células epidérmicas de raíz, se estimulan ante condiciones de insuficiencia de azufre. Asimismo, Jarma et. al. (2010), indican que el azufre es un elemento constituyente de los aminoácidos cisteína y metionina, y otros compuestos como tiamina, biotina y coenzima A (compuesto esencial para la respiración, la síntesis y la degradación de ácidos grasos, y del

acetil CoA en la síntesis de glucósidos de diterpenos); es importante resaltar que los tratamientos que han sido podados, obtuvieron una mayor cantidad de ramas, número de hojas, y área foliar; es decir, mayor biomasa, donde habrá mayor formación de compuestos derivados de azufre, y por consiguiente menor concentración de dicho elemento.

La concentración de Mg en hojas, suele incrementar previo a la floración, lo cual podría indicar su papel importante en la síntesis de glicósidos de esteviol, ya que el Mg participa junto al ATP, en reacciones para formar isopentenil-pirofosfato, siendo este uno de los precursores en la síntesis de moléculas compuestas de esteviol (Jarma et al., 2012).

Cabe resaltar, que se observa una tendencia a disminuir la absorción de magnesio, conforme se incrementa la cantidad de potasio brindada en la solución nutritiva, esto es debido a que se trata de elementos antagonistas. Xie et. al. (2020) señalan que el efecto inhibitorio de K^+ sobre la captación de Mg^{2+} puede resultar de la competencia por la unión producida metabólicamente de compuestos o sitios activos presentes en la membrana plasmática, debido a que existen transportadores de K^+ de alta afinidad en la membrana denominados HKT1 y HKT2, la mayoría de los miembros de HKT2 funcionan como transportadores de K^+ y Na^+ , para mantener la homeostasis; sin embargo, otros miembros de la familia de transportadores de HKT2 muestran permeabilidad a una amplia gama de cationes, las cuales son limitadas y dependen de las concentraciones competidoras de K^+ en plantas.

En la Tabla 9, se muestra los resultados del análisis foliar de micronutrientes y, en la Tabla 10, indica la absorción de micronutrientes en hojas de estevia, información obtenida con los resultados del análisis foliar y el peso seco de hojas (Tabla 5).

Tabla 9: Efecto de los niveles de potasio y poda sobre la concentración de micronutrientes en hojas de estevia.

Factor 1	Factor 2	Mo (mg/kg)	mg Fe (mg/kg)	mg Mn (mg/kg)	mg Cu (mg/kg)	mg Zn (mg/kg)	mg B (mg/kg)
SP	T0	0.34	632	220	10.6	75.1	152
SP	T1	0.71	630	251	11.1	85.3	156
SP	T2	0.40	602	231	11.2	82.4	146
SP	T3	0.89	636	212	10.6	74.7	149
CP	T0	1.01	713	204	11.1	74.6	172
CP	T1	0.56	538	196	10.1	67.2	176
CP	T2	0.50	642	201	9.76	70.6	178
CP	T3	0.36	733	195	10.4	70.3	172

A través del análisis de varianza y el test de LSD Fischer, para un nivel de significancia de 0.05, se encontraron diferencias significativas para la absorción de molibdeno y boro en hojas de estevia (Tabla 10).

Tabla 10: Efecto de los niveles de potasio y poda sobre la absorción de micronutrientes en hojas de estevia. Valor promedio de 06 plantas.

Factor 1	Factor 2	mg Mo	mg Fe	mg Mn	mg Cu	mg Zn	mg B
SP	T0	0.002a	4.11a	1.43a	0.069a	0.488a	0.988 ^a
SP	T1	0.004cd	3.99a	1.59a	0.070a	0.540a	0.988 ^a
SP	T2	0.002a	3.61a	1.38a	0.067a	0.494a	0.876 ^a
SP	T3	0.005d	3.92a	1.30a	0.065a	0.461a	0.919 ^a
CP	T0	0.007e	4.75b	1.36a	0.074a	0.497a	1.147b
CP	T1	0.004bc	3.85b	1.40a	0.072a	0.482a	1.261b
CP	T2	0.003ab	4.06b	1.27a	0.062a	0.447a	1.127b
CP	T3	0.003a	4.79b	1.30a	0.069a	0.469a	1.153b

²Medias con la misma letra, dentro de columnas, son iguales de acuerdo con la prueba de Fisher a una $P \leq 0.05$.

Con respecto a la absorción de boro, se halló diferencia significativa para el factor 1 (con o sin poda), donde se obtuvo 1.11 mg B en plantas podadas, respecto a 0.88 mg B en plantas sin podar. Por otro lado, con respecto a la absorción de molibdeno, se obtuvo diferencia significativa entre los tratamientos nutricionales (Factor 2), donde la menor absorción se observó en el tratamiento 2 (310 ppm) con 0.1344 mg Mo/planta.

Jarma et. al. (2010), indica que la cantidad prevista para la extracción de micronutrientes en estevia sería de 89 g B/ha, 26 g Cu/ha, 683 g Fe/ha, 207 g Mn/ha y 13 g Zn/ha, lo cual a una densidad de 70000 plantas/ha equivaldría a 1.27 mg B/planta, 0.37 mg Cu/planta, 9.76 mg Fe/planta, 2.96 mg Mn/planta y 0.19 mg Zn/planta. Dichos valores son mayores con respecto a los valores obtenidos en el ensayo, a excepción del Boro, el cual se encuentra dentro del promedio.

La Figura 14, muestra el diagrama de cajas para la absorción de Fe, el cual presenta una media de 3.91 mg Fe (sin poda) y 4.36 mg Fe (con poda); Taiz & Zeiger (2006), indican que el hierro libre puede interaccionar con O₂ para dar lugar a especies reactivas del oxígeno; sin embargo, las células vegetales limitan este proceso formando unidades proteicas de fitoferritina, que actúan como almacén del excedente de hierro. Es importante resaltar, que el Fe está íntimamente involucrado en procesos de fotosíntesis y respiración (Briat et al.,

2007), de verse limitado las reservas de hierro, habrá una disminución de la producción de biomasa, como se observa en los tratamientos que no fueron podados.

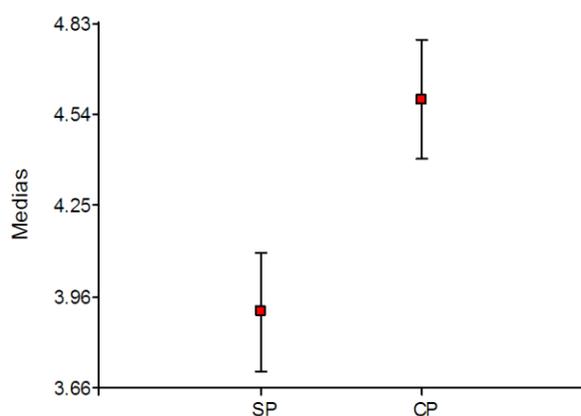


Figura 14: Diagrama de cajas de la variable absorción de Hierro

El hierro, manganeso, zinc y cobre están presentes en diversas enzimas involucradas en procesos de suma importancia como la respiración, la fotosíntesis, transcripción del ADN, fijación de nitrógeno, entre otros; además, también cumplen funciones estructurales (Jarma et. al. 2010).

Tadhani & Subhash (2006), reportan valores superiores a 1.14 ppm de Mo. Este elemento es importante ya que es clave en la asimilación del nitrato; la enzima nitrato reductasa, responsable de la reducción de nitratos a nitritos; asimismo forma parte de la enzima nitrogenasa (Azcon Bierto & Talon, 2008).

Jones, J. (1965) & Ranade-Malvi, U. (2011), indican que existe una relación inversa entre el potasio y el molibdeno; el molibdeno requerido por plantas es la más baja, y se emplea para ser parte del cofactor Moco, que participa en los procesos redox esenciales. Asimismo, se han reportado deficiencias de este elemento en diferentes especies, y la misma está originada por la ausencia de la enzima nitrato reductasa (Baran, 2021). Ranade-Malvi (2011), indica que la respuesta a fertilizantes nitrogenados disminuye cuando el contenido de potasio intercambiable está por debajo del óptimo, esto debido a que la enzima nitrato reductasa que cataliza la formación de proteínas es activado por potasio.

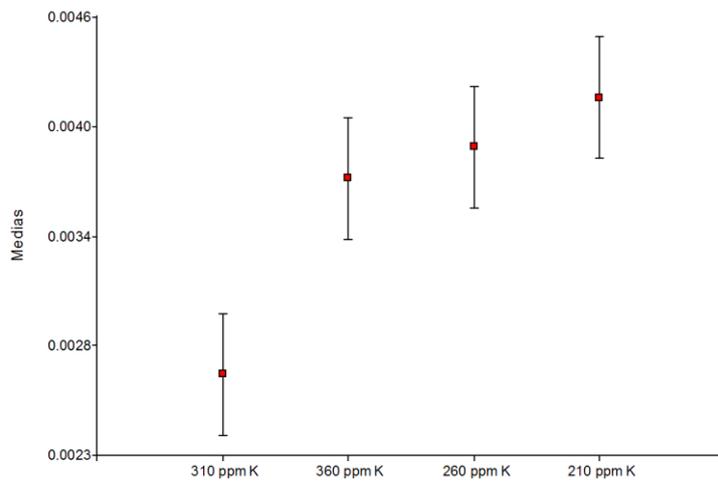


Figura 15: Diagrama de cajas de la variable absorción de molibdeno

Valores de boro reportados por De Lima et. al (1997c) y Villalba & Oroa (2018), son en promedio de 52- 89 ppm, dependiendo del estado fenológico; es importante resaltar, que el boro se encuentra principalmente en las paredes celulares, ya que se cree que su papel es básicamente estructural (Azcon Bierto & Talon, 2008), es por ello que su acumulación se da en mayor proporción en plantas que han sido podada, debido a que presentan mayor ramificación.

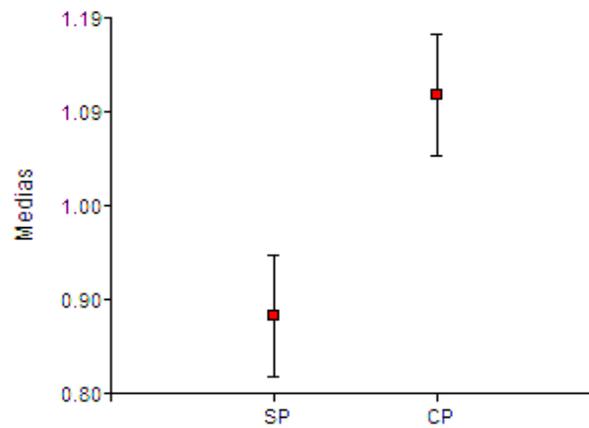


Figura 16: Diagrama de cajas de la variable absorción de boro
Nota. SP: Sin poda, CP: Con poda.

4.3. Evaluación de producción de glicósidos de esteviol

En la Tabla 11, se muestra la concentración de glicósidos de esteviol: Rebaudiosido A (%), Steviosido (%) y Glicósidos de esteviol (Reb A + Stv) (%) obtenida en hojas de estevia.

A través del análisis de varianza y el test de LSD Fischer, para un nivel de significancia de 0.05, se encontró que existen diferencias significativas para la variable Rebaudiosido A y Esteviosido.

Tabla 11: Valores promedio de Rebaudiosido A (%), Steviosido (%) y Glicósidos totales (%)

Factor 1	Factor 2	Reb A (%)	Steviosido (%)	Glicósidos totales (%)
SP	T0	4.621c	1.040e	5.662c
SP	T1	4.466b	0.909b	5.375b
SP	T2	5.482e	1.013de	6.496f
SP	T3	5.027d	0.969c	5.995d
CP	T0	4.246a	0.816a	5.062 ^a
CP	T1	4.651c	0.938bc	5.589c
CP	T2	5.227f	0.972cd	6.199e
CP	T3	5.121de	0.907b	6.028d

²Medias con la misma letra, dentro de columnas, son iguales de acuerdo con la prueba de Fisher a una $P \leq 0.05$.

Respecto a la concentración de Rebaudiosido A, se obtuvo diferencias significativas para el factor 1, factor 2 e interacción entre ambos factores. Se tiene que la concentración Rebaudiosido A (%) fue de 5.482% en un tratamiento “SP” (Sin poda), y con una concentración de K de 210 ppm (T2). En cuanto a la concentración de Esteviosido, de igual forma se obtuvieron diferencias significativas para el factor 1, factor 2 e interacción entre ambos factores, donde se logró de 1.013% con el factor 1 “SP” (Sin poda), con una concentración de K de 210 ppm (T2).

La cantidad óptima para incrementar la concentración de glicósidos de esteviol fue de 310 ppm de K. Investigaciones realizadas por Fakhrol et. al. (2014), muestran el efecto que tiene diferentes concentraciones de potasio, en cultivo in vitro; donde obtuvieron un pico de concentración de Rebaudiosido A de 1.3%, con el tratamiento de 21.08 g K/100 ml en solución stock. En cuanto a la influencia de la poda, Moraes et. al. (2013), obtuvo una mayor concentración de Rebaudiosido A y Steviosido, en plantas que habían recibido el menor número de cortes.

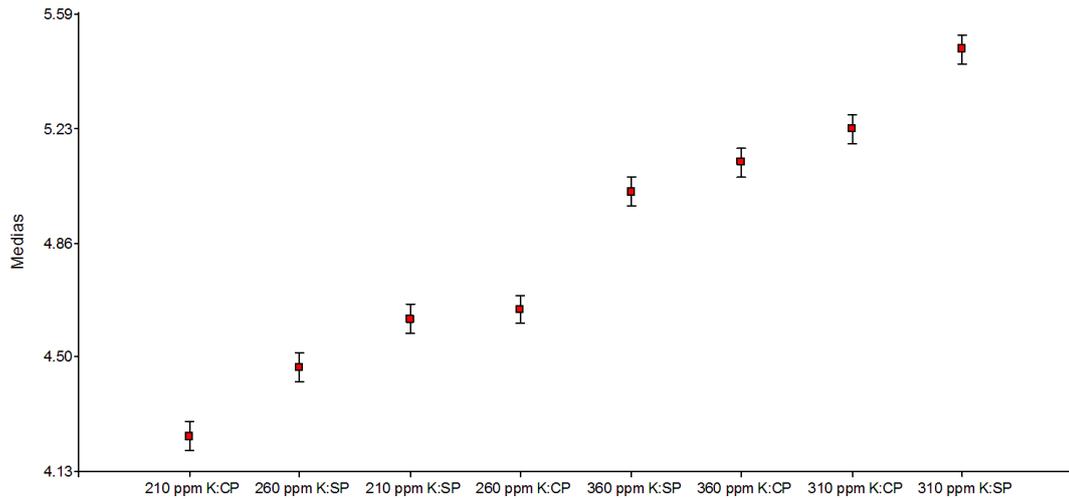


Figura 17: Diagrama de cajas de concentración de Rebaudiosido A, según tratamiento

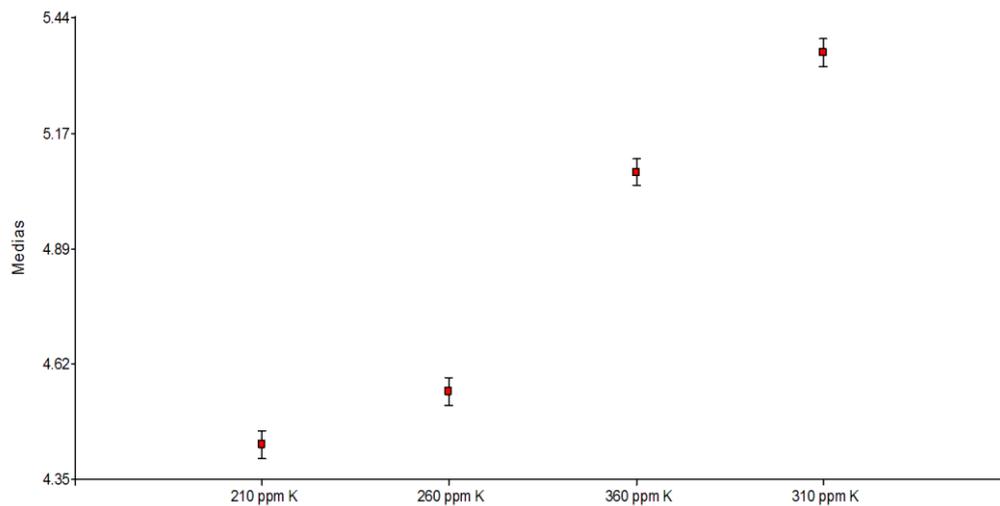


Figura 18: Diagrama de cajas de concentración SG's total (Reb A + Steviosido), según tratamiento para el factor 2 (concentración de potasio)

El potasio, es uno de los componentes más importantes, que desempeñan diversas funciones fisiológicas como la activación de enzimas, la síntesis de proteínas, absorción y transporte de iones, función osmótica, fotosíntesis y respiración; está en concentraciones excesivas el crecimiento y rendimiento de las plantas (Fakhrul et al, 2014).

Tavakoli et. al. (2019), indica que existen más de 15 enzimas involucradas en la producción de glicósidos de esteviol, y cuales quiera de ellas podría ser un factor limitante en su producción. Jarma et. al. (2010), señala que las enzimas involucradas como geranil pirofosfato sintasa requiere de Mg^{2+} o Mn^{2+} , como cofactores; farnesil pirofosfato sintasa

requiere Mg^{2+} como cofactor y geranyl geranyl pirofosfato sintasa requiere Mn^{2+} para su actividad.

Asimismo, una de las enzimas más importantes en la producción de esteviol es el ácido entkaureno 13 hidroxilasa, la cual forma esteviol a partir de ácido kaurenoico; según Shibata et. al. (1995) está mediado por el cofactor enzimático NADPH y requiere H^+ y O_2 . Faggionato et. al. (2011), señala que el K activa enzimas del tipo oxidorreductasas, deshidrogenasa, transferasas, sintetetas y quinasas, las cuales son de las familias de enzimas que están involucrados en el proceso de síntesis de esteviol, adicionalmente Lima et. al (1997) señala que cuando el ion K^+ es alto, existe un estímulo en la producción de ATP mediante el proceso de fotofosforilación.

Es importante resaltar, que las expresiones fenotípicas, así como de concentración de nutrientes y glicósidos de esteviol, pueden verse afectados por factores ambientales como radiación solar, precipitaciones y temperatura, ya que se encuentran involucrados en los procesos de fotosíntesis, transpiración y alargamiento celular (González et al., 2019), es aún relevante la diferencia que pueden existir entre las distintas variedades de Stevia, ya que cada una cuenta con un número de días distinto, así como requerimientos nutricionales diferentes que se verán afectados en la absorción de nutrientes y formación de metabolitos.

V. CONCLUSIONES

La poda y los diferentes niveles de potasio, influyen en el desarrollo fenotípico de la planta.

La producción de *Stevia rebaudiana* bajo condiciones de cultivo sin suelo, se dio de manera eficiente durante la investigación.

La poda favorece la emisión de ramas en la planta, así como permite obtener mayor área foliar.

El tratamiento de 310 ppm aumenta la concentración de glicósidos de esteviol en las hojas de estevia.

Los diferentes niveles de potasio, influyen en la absorción de azufre, boro y molibdeno en las hojas de estevia.

VI. RECOMENDACIONES

Finalizado este experimento, se permite recomendar:

- Utilizar el método de raíz flotante, para evaluar eficientemente el desarrollo radicular.
- Incrementar mayor cantidad de repeticiones por tratamiento.
- La aplicación preventiva de insecticidas orgánicos o, realizar lavados con detergente agrícola de manera continua.
- Analizar otros tipos de glicósidos de esteviol en hojas secas.
- Incluir la evaluación de la concentración de citoquininas, auxinas y estrigolactonas, en tallo y hojas.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- Abdullateef, R. A., & Osman, M. (2011). Studies on Effects of Pruning on Vegetative Traits in *Stevia rebaudiana* Bertoni (Compositae). *International Journal of Biology*, 4(1).
Doi: <https://doi.org/10.5539/ijb.v4n1p146>
- Angelini, L. G., Martini, A., Passera, B., & Tavarini, S. (2018). Cultivation of *Stevia rebaudiana* Bertoni and Associated Challenges. *Reference Series in Phytochemistry*, 35–85. Doi: https://doi.org/10.1007/978-3-319-27027-2_8
- Alcantara Cortez, J. S., Acero Godoy, J., Alcantara Cortez, J. D., & Sanchez Mora, R. M. (2019). Principales reguladores hormonales y sus interacciones en el crecimiento vegetal. *NOVA*, 17(32), 109 – 129.
- Azcon-Bieto, J. (2008). *Fundamentos De Fisiologia Vegetal*, (2.^a ed.). Mcgraw hill education.
- Baran, E. (2021). *Metaloenzimas de plantas* (1.^a ed.) [Libro electrónico]. Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales.
- Bonilla, C. R., Sánchez, M. S., & Perlaza, D. F. (2007). Evaluación de métodos de propagación, fertilización nitrogenada y fenología de estevia en condiciones del Valle del Cauca. *Acta agronómica*, 56(3), 131–134.
- Brandle, J., Richman, A., Swanson, A., & Chapman, B. (2002). Leaf ESTs from *Stevia rebaudiana*: a resource for gene discovery in diterpene synthesis. *Plant Molecular Biology*, 50(4/5), 613–622. Doi: <https://doi.org/10.1023/a:1019993221986>
- Briat, J. F., Curie, C., & Gaymard, F. (2007). Iron utilization and metabolism in plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 10(3), 276–282. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2007.04.003>
- Carneiro, J., & Guedes, T. (1992). Influência do contato das sementes de stevia (*Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni) no substrato avaliada pela função de Weibull. *Revista Brasileira de Sementes*, 14(1), 65–68. Doi: <https://doi.org/10.17801/0101-3122/rbs.v14n1p65-68>

- Casaccia, J. & Álvarez, E. (2006). Recomendaciones técnicas para una producción sustentable del ka'a he'e (*Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni) en el Paraguay. *Instituto Agronómico Nacional Agrícola*. Manual Técnico N° 8. Casierra-Posada, F., & Fischer, G. (2012). Poda de árboles frutales. En *Manual para el cultivo de frutales en el trópico* (pp. 169–185). Produmedios. Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/259185288_Poda_de_arboles_frutales
- Celaya, L., Taiariol, D., Valle, S., & Kolb Koslobsky, N. (2020). Glicósidos de esteviol y compuestos fenólicos en infusiones de *Stevia rebaudiana* dependiendo de la variedad. *Revista de Ciencia y Tecnología*, 33, 76–84. Doi: <https://doi.org/10.36995/j.recyt.2020.33.010>
- Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria. (2018, septiembre). *Oportunidades para la agricultura en México: La Estevia*. Recuperado de: <http://www.cedrssa.gob.mx/files/b/13/92Estevia.pdf>
- Coenen, C., & Lomax, T. L. (1997). Auxin – cytokinin interactions in higher plants: old problems and new tools. *Trends in Plant Science*, 2(9), 351-356. Doi: [https://doi.org/10.1016/s1360-1385\(97\)84623-7](https://doi.org/10.1016/s1360-1385(97)84623-7)
- Cruz, S. & Maurate, M. (2018). Factores claves de éxito para desarrollar oferta exportable de *Stevia rebaudiana*, comercializada como hojas secas del departamento de San Martín – Perú hacia el mercado de Japón [Tesis para optar el título profesional, Universidad San Martín de Porres]. Repositorio institucional de la Universidad San Martín de Porres. Recuperado de: https://repositorio.usmp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12727/4566/cruz_maurate.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Durán A, S., Rodríguez N, M. D. P., Cordon A, K., & Record C, J. (2012). Estevia (*stevia rebaudiana*), edulcorante natural y no calórico. *Revista chilena de nutrición*, 39(4), 203–206. Doi: <https://doi.org/10.4067/s0717-75182012000400015>
- Faggionato, R. (2018). Equivalente fertilizante de potasio para algunos suelos agrícolas de Uruguay. Tesis para optar el título profesional, Universidad de la República. <http://colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/9785/1/3917fag.pdf>
- Fakhrul, R. H., Norrizah, J. S., Jaapar, S. S., & Noor Anilizawatima, S. (2014). The Effect of Potassium Concentrations on the Growth and Development of *Stevia rebaudiana*

- (Bertoni) and Production of Stevioside and Rebaudioside A. *American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture*, 8(2), 42–51.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2017). *El futuro de la alimentación y la agricultura*. FAO. Recuperado de: <http://www.fao.org/3/i6881s/i6881s.pdf>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2017). *Steviol glycosides*. FAO. Recuperado de: <http://www.fao.org/3/BU609en/bu609en.pdf>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2003). *La huerta hidropónica popular*. FAO. Recuperado de: <http://www.fao.org/3/ah501s/ah501s.pdf>
- Goettemoeller, J., & Ching, A. (1999). Seed germination in *Stevia rebaudiana*. *ASHS Press*, 510–511. Recuperado de: <https://www.everstevia.com/Study-on-Seed-Germination-in-Stevia-rebaudiana.pdf>
- González, M., Daquinta, M., Pina, D., Portal, N., Mosqueda, O., Andújar, I., González, L., Pérez, L., Lezcano, Y., Concepción, O., & Escalona, M. (2019). Efecto de la poda en la producción de biomasa y contenido de esteviolglicósidos de *Stevia rebaudiana* Bertoni var. Morita II. *Biotecnología vegetal*, 19(3), 155–164.
- Jarma, A., Espitia, M., & Fischer, G. (2010). Síntesis de esteviósidos en estevia (*Stevia rebaudiana* Bert.). *Acta biológica colombiana*, 15(1), 263–268.
- Jarma, A., Combatt, E., & Polo, J. (2012). Contenido de glucósidos en función de deficiencias nutricionales en *Stevia rebaudiana* Bert. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 15(1). Doi: <https://doi.org/10.31910/rudca.v15.n1.2012.807>
- Kafle, G. G., Midmore, D. J., & Gautam, R. (2017). Effect of nutrient omission and pH on the biomass and concentration and content of steviol glycosides in stevia (*Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni) under hydroponic conditions. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 7, 136–142. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2017.08.001>
- Kebrom, T. H. (2017). A Growing Stem Inhibits Bud Outgrowth – The Overlooked Theory of Apical Dominance. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1–7. Doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01874>

- Kinghorn, A. D. (Ed.). (2001b). Stevia. En *The genus Stevia* (Adobe Digital Editions, pp. 1–202). Taylor & Francis.
- Lima Filho, O. F. D., & Malavolta, E. (1997a). Sintomas de desordens nutricionais em Estévia *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni. *Scientia Agricola*, 54(1/2), 53–61. Doi: <https://doi.org/10.1590/s0103-90161997000100008>
- Lima Filho, O. D., Malavolta, E., Sena, J. D., & Carneiro, J. (1997b). Absorção e acumulação de nutrientes em estévia *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni: I. Macronutrientes. *Scientia Agricola*, 54(1–2), 14–22. Doi: <https://doi.org/10.1590/s0103-90161997000100003>
- Lima Filho, O. D., Malavolta, E., Sena, O. D., & Carneiro, J. (1997c). Absorção e acumulação de nutrientes em estévia *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni: II. Micronutrientes. *Scientia Agricola*, 54(1–2), 23–30. Doi: <https://doi.org/10.1590/s0103-90161997000100004>
- Ma, L., Ren, G. X., & Shi, Y. (2011). Effects of Potassium Fertilizer on Diurnal Change of Photosynthesis in *Stevia Rebaudiana* Bertoni. *Advanced Materials Research*, 343-344, 1087–1091. Doi: <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/amr.343-344.1087>
- Madan, S., Ahmad, S., Singh, G. N., Kohli, K., Kumar, Y., Singh, R., & Garg, M. (2010). *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni - A Review. *Indian journal of natural products and resources*, 1(3), 267–286.
- 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), 297–302. Doi: <https://doi.org/10.5455/faa.276431>
- Martínez, M. (2015). *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni. Una revisión. *Cultivos tropicales*, 36, 5–15.
- Maurya, S. K., & Garg, S. K. (2020). Morphological and biochemical responses to Boron and Zinc fertilizers in *Stevia rebaudiana*. *Plant Archives*, 20(1), 344–348.
- Mora, M. (2011). Manejo de riego en hidroponía en diferentes tipos de sustratos y sus mezclas. [Caso de estudio para optar el grado de Especialista, Centro de Investigación en Química Aplicada]. Repositorio institucional del Centro de Investigación en Química Aplicada. Recuperado de:

<https://ciqa.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1025/396/1/Maria%20de%20Lourdes%20de%20la%20Mora%20Rosales.pdf>

- Moraes, R. M., Donega, M. A., Cantrell, C. L., Mello, S. C., & McChesney, J. D. (2013). Effect of harvest timing on leaf production and yield of diterpene glycosides in *Stevia rebaudiana* Bert: A specialty perennial crop for Mississippi. *Industrial Crops and Products*, 51, 385–389. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.09.025>
- Ossa, G. J. U., Montoya, C. G., & Velasquez, M. A. V. (2017, octubre). *Control and monitoring of a stevia plantation in a hydroponic system*. IEEE 3rd Colombian Conference on Automatic Control (CCAC), Medellín, Colombia. Doi: <https://doi.org/10.1109/ccac.2017.8276462>
- Pérez Chamorro, O. B., & Calvache, M. (2018). Acumulación de nutrientes en *Stevia Rebaudiana* (Bertoni). *Revista Alfa*, 2(5), 82–89. Doi: <https://doi.org/10.33996/revistaalfa.v2i5.40>
- Ranade-Malvi, U. (2011). Interaction of micronutrients with major nutrients with special reference to potassium. *Karnataka Journal of Agricultural Sciences*, 24(11), 106–109.
- Ramesh, K., Singh, V., & Megeji, N. W. (2006). Cultivation of Stevia [*Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni]: A Comprehensive Review. *Advances in Agronomy*, 89, 137–177. Doi: [https://doi.org/10.1016/s0065-2113\(05\)89003-0](https://doi.org/10.1016/s0065-2113(05)89003-0)
- Red Agrícola. (2019, octubre). *La dulce revolución de la estevia*. Redagrícola Perú. Doi: <https://www.redagricola.com/pe/la-dulce-revolucion-de-la-estevia/>
- Rodríguez, A. & Chang, M. 2002. Curso Práctico de Hidroponía. Centro de Investigación de Hidroponía y Nutrición Mineral. Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Rojas, A. C. (2020). Efecto del ácido indol butírico y naftalen acético sobre la producción y morfología radicular in vitro de kiwi verde (*Actinida deliciosa* var. Hayward) y la supervivencia de la planta ex vitro [Tesis para optar el título profesional, Universidad Nacional Agraria La Molina]. Repositorio institucional de la Universidad Nacional Agraria La Molina. Recuperado de: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/4514/rojas-fajardo-angel-christian.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Salvador-Reyes, R., Sotelo-Herrera, M., & Paucar-Menacho, L. (2014). Study of Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) as a natural sweetener and its use in benefit of the health. *Scientia agropecuaria*, 5, 157–163. Doi: <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2014.03.06>
- Sardare, M., & Admane, S. (2013). A review on plant without soil - Hydroponics. *International Journal of Research in Engineering and Technology*, 2(03), 299–304. Doi: <https://doi.org/10.15623/ijret.2013.0203013>
- Saqib, M., Ijaz, M., Latif, M., Mahmood, K., & Yasir, T. A. (2015). Domestication of Non-Conventional Crops to Combat Human Health Diseases: A Review on Crop *Stevia Rebaudiana* View of Pakistan as an Example. *American Research Journal of Agriculture*, 1(1), 16–34. Recuperado de: <https://www.arjonline.org/papers/arja/v1-i1/3.pdf>
- Shibata, H., Sawa, Y., Oka, T., Sonoke, S., Kim, K., & Yoshioka, M. (1995). Steviol and Steviol-Glycoside: Glucosyltransferase Activities in *Stevia rebaudiana* Bertoni - Purification and Partial Characterization. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 321(2), 390–396. Doi: <https://doi.org/10.1006/abbi.1995.1409>
- Sharma, N., Acharya, S., Kumar, K., Singh, N., & Chaurasia, O. (2018). Hydroponics as an advanced technique for vegetable production: An overview. *Journal of Soil and Water Conservation*, 17(4), 364–371. Doi: <https://doi.org/10.5958/2455-7145.2018.00056.5>
- Shock, C. (1982). Experimental cultivation of Rebaudi's Stevia in California. *Agronomy progress report*, 122, 1–9. Recuperado de: <http://www.shockfamily.info/ShockExperimentalCultivationOf%20Rebaudi'sSSteviaInCaliforniaApril1982.pdf>
- Singh, A., Singh, P., Chandel, S. K. S., Singh, R. P., & Singh, M. P. (2015). Effect of N, P and K Levels on Growth Parameters of Herbal Sugar of *Stevia rebaudiana* in Varanasi. *Environment & Ecology*, 33(4A), 1676–1679.
- Sociedad Colombiana de Ciencias Hortícolas. (2009). *Cultivo, poscosecha y comercialización de las pasifloraceas en Colombia* (G. Fischer, C. Carranza, & D. Miranda, Eds.). Sociedad Colombiana de Ciencias Hortícolas. Recuperado de: <https://www.researchgate.net/publication/259346111>

- Son, J. E., Kim, H. J., & Ahn, T. I. (2020). Hydroponic systems. *Plant Factory*, 273–283. Doi: <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-816691-8.00020-0>
- Soto, M. (2018). *Descripción del cultivo de Stevia (Stevia rebaudiana B.) en la irrigación de Santa Rita de Sigwas – Arequipa*. [Tesis para optar el título de Ingeniero agrónomo, Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa]. Repositorio institucional de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa. Recuperado de: <http://repositorio.una.edu.pe/handle/UNSA/5826>
- Tadhani, M., & Subhash, R. (2006). Preliminary Studies on *Stevia rebaudiana* Leaves: Proximal Composition, Mineral Analysis and Phytochemical Screening. *Journal of Medical Sciences*, 6(3), 321–326.
- Taiz, L. & Zeiger, E. (2006). *Fisiología vegetal* (3 ed., Vol. 1). Universitat Jaume L.
- Tamara, L. (2016). Macronutrientes y micronutrientes. Universidad de Sucre.
- Torres, W. (2013, 20 junio). *Tipos y variedades de Stevia*. Stevia Yaracuy. Recuperado de: <http://steviyaracuy.blogspot.com/2013/06/tipos-y-variedades-de-stevia.html>
- Tavakoli, H., Tavakoli, N., & Moradi, F. (2019). The effect of the elicitors on the steviol glycosides biosynthesis pathway in *Stevia rebaudiana*. *Functional Plant Biology*, 46(9), 787. Doi: <https://doi.org/10.1071/fp19014>
- USDA (United States Department of Agriculture). (s. f.). *Stevia rebaudiana (Bertoni) Bertoni*. United States Department of Agriculture. Recuperado, de <https://plants.usda.gov/home/plantProfile?symbol=STRE2>
- Vásquez - Villalobos, V., Blas, R., Collantes, L., Echevarría, M., Gordillo, C., Guerrero, N., Rodríguez, R., & Vásquez, J. (2012). Grado de aceptabilidad de *Stevia (Stevia rebaudiana B.)* en infusión en una bebida de manzanilla (*Matricaria chamomilla L.*). *Agroindustrial Science*, 161–172.
- 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*, 17, 9–13.
- 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. Doi: <https://doi.org/10.4141/cjps10086>

- Younes, M., Aquilina, G., Engel, K., Fowler, P., Frutos Fernandez, M. J., Fürst, P., Gürtler, R., Gundert-Remy, U., Husøy, T., Manco, M., Mennes, W., Moldeus, P., Passamonti, S., Shah, R., Waalkens-Berendsen, I., Wölfle, D., Wright, M., Degen, G., Giarola, A., . . . Castle, L. (2020). Safety of a proposed amendment of the specifications for steviol glycosides (E 960) as a food additive: to expand the list of steviol glycosides to all those identified in the leaves of *Stevia Rebaudiana* Bertoni. *EFSA Journal*, 18(4), 1–30. Doi: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6106>
- Zubiate, F. (2007, 14 febrero). *Manual del Cultivo de La Stevia (Yerba Dulce)*. Ergomix. Recuperado de <https://www.engormix.com/agricultura/articulos/cultivo-de-la-stevia-yerba-dulce-t26941.htm>

VIII. ANEXOS

Anexo 1: Reporte de resultados totales obtenidos

1.1 Reporte de resultados obtenidos de altura, peso fresco total, peso fresco de hoja, peso fresco de tallo, número de ramas y número de hojas

FACTOR 1	FACTOR 2	Repetición	Altura alcanzada	Peso fresco total (gr)	Peso fresco hoja (gr)	Peso fresco tallo (gr)	Número de rama	Número de hoja
SP	210 ppm K	1	19.6	21	17	4	10	166
SP	210 ppm K	2	13.7	28	23	5	15	336
SP	210 ppm K	3	15	25	20	5	15	386
SP	210 ppm K	4	14.6	33	25	8	15	338
SP	210 ppm K	5	17.4	27	22	5	13	327
SP	210 ppm K	6	17.6	32	26	6	12	368
SP	210 ppm K	7	17.7	32	25	7	10	378
SP	260 ppm K	1	14	28	23	5	10	321
SP	260 ppm K	2	15.2	23	20	3	7	260
SP	260 ppm K	3	13.6	36	31	5	12	381
SP	260 ppm K	4	19.7	31	25	6	16	449
SP	260 ppm K	5	16.7	36	30	6	14	315
SP	260 ppm K	6	16.5	15	13	2	7	245
SP	260 ppm K	7	16.9	9	7	2	15	174
SP	310 ppm K	1	16	19	17	2	5	297
SP	310 ppm K	2	17.3	10	8	2	3	185
SP	310 ppm K	3	15	35	29	6	10	420
SP	310 ppm K	4	15.5	36	28	8	8	280
SP	310 ppm K	5	16.7	15	12	3	5	234
SP	310 ppm K	6	17.5	31	25	6	8	369
SP	310 ppm K	7	19.2	19	16	3	6	375
SP	360 ppm K	1	16.4	29	23	6	15	333
SP	360 ppm K	2	20	31	25	6	11	275
SP	360 ppm K	3	17.5	27	22	5	8	332
SP	360 ppm K	4	26	18	17	1	4	223
SP	360 ppm K	5	17.3	23	20	3	11	315
SP	360 ppm K	6	18.2	31	26	5	10	230
SP	360 ppm K	7	17	25	19	6	11	324
CP	210 ppm K	1	13.9	40	33	7	16	386
CP	210 ppm K	2	15	40	32	8	18	456
CP	210 ppm K	3	12	25	20	5	18	376
CP	210 ppm K	4	15.4	38	31	7	16	394
CP	210 ppm K	5	13.6	25	19	6	15	261
CP	210 ppm K	6	12.5	19	15	4	12	242
CP	210 ppm K	7	15	35	29	6	15	443
CP	260 ppm K	1	14.8	15	12	3	9	202
CP	260 ppm K	2	13.4	38	32	6	18	390
CP	260 ppm K	3	13.1	37	31	6	17	418
CP	260 ppm K	4	11.6	26	21	5	18	310
CP	260 ppm K	5	13.1	29	24	5	15	382
CP	260 ppm K	6	13.7	35	27	8	16	397
CP	260 ppm K	7	17.5	35	27	8	13	300
CP	310 ppm K	1	12.3	37	28	9	17	396
CP	310 ppm K	2	14.6	29	22	7	18	437
CP	310 ppm K	3	14.5	36	30	6	15	373
CP	310 ppm K	4	17.2	40	31	9	16	465
CP	310 ppm K	5	12.6	36	27	8	13	372
CP	310 ppm K	6	10.4	9	7	2	6	153
CP	310 ppm K	7	15	27	22	5	14	340
CP	360 ppm K	1	13.7	35	29	6	13	346
CP	360 ppm K	2	16.5	38	28	10	12	401
CP	360 ppm K	3	16.7	25	21	4	11	248
CP	360 ppm K	4	15.2	37	29	8	14	281
CP	360 ppm K	5	14	23	17	6	15	293
CP	360 ppm K	6	14	12	10	2	7	172
CP	360 ppm K	7	17.5	25	20	5	5	211

1.2 Reporte de resultados obtenidos de peso seco de hojas, peso seco de raíz, área foliar del par de hojas, y peso seco de cada par de hojas.

FACTOR 1	FACTOR 2	Repetición	Peso seco hojas (gr)	Peso seco raíz (gr)	Area foliar 1	Area foliar 2
SP	210 ppm K	1	5	2.9672	9.411	9.867
SP	210 ppm K	2	7	1.5034	8.131	8.625
SP	210 ppm K	3	5	1.5428	7.256	8.668
SP	210 ppm K	4	7	1.2592	7.58	9.142
SP	210 ppm K	5	6	0.8772	6.071	5.592
SP	210 ppm K	6	7	1.5571	6.453	7.021
SP	210 ppm K	7	7	0.9575	8.268	8.5
SP	260 ppm K	1	6	2.4103	7.901	8.121
SP	260 ppm K	2	5	1.1324	10.412	9.984
SP	260 ppm K	3	9	2.6783	8.796	8.471
SP	260 ppm K	4	6	1.1007	5.021	5.578
SP	260 ppm K	5	8	2.7123	7.199	7.127
SP	260 ppm K	6	4	1.1976	3.51	4.207
SP	260 ppm K	7	2	1.4652	2.679	3.488
SP	310 ppm K	1	5	5.4094	4.095	3.875
SP	310 ppm K	2	3	1.2446	3.614	3.621
SP	310 ppm K	3	8	2.2729	7.007	7.821
SP	310 ppm K	4	8	3.3414	8.232	9.413
SP	310 ppm K	5	4	0.9854	3.918	4.038
SP	310 ppm K	6	7	1.0455	5.385	6.303
SP	310 ppm K	7	4	3.1262	2.385	2.25
SP	360 ppm K	1	7	2.666	4.221	4.165
SP	360 ppm K	2	7	1.8421	5.599	5.344
SP	360 ppm K	3	6	1.7551	6.382	6.489
SP	360 ppm K	4	4	1.7272	3.832	4.082
SP	360 ppm K	5	5	3.8774	4.614	4.534
SP	360 ppm K	6	7	2.354	5.157	5.013
SP	360 ppm K	7	5	1.3367	3.992	4.736
CP	210 ppm K	1	9	2.944	9.907	10.679
CP	210 ppm K	2	7	1.6157	10.35	9.847
CP	210 ppm K	3	5	0.6957	11.263	11.371
CP	210 ppm K	4	7	1.1131	7.929	8.448
CP	210 ppm K	5	5	0.8161	13.608	14.04
CP	210 ppm K	6	3	2.1571	7.66	6.83
CP	210 ppm K	7	7	1.2466	8.118	7.664
CP	260 ppm K	1	4	1.9195	3.492	3.736
CP	260 ppm K	2	8	2.3279	8.17	9.936
CP	260 ppm K	3	9	2.5481	7.296	8.471
CP	260 ppm K	4	5	1.4122	8.316	8.265
CP	260 ppm K	5	6	2.1208	10.74	11.537
CP	260 ppm K	6	7	1.8197	8.457	8.237
CP	260 ppm K	7	8	2.412	9.32	9.631
CP	310 ppm K	1	7	2.6682	7.62	6.965
CP	310 ppm K	2	6	1.9163	9.79	8.789
CP	310 ppm K	3	9	1.9431	7.617	9.053
CP	310 ppm K	4	7	0.9257	9.051	8.558
CP	310 ppm K	5	8	4.208	8.049	8.408
CP	310 ppm K	6	1	1.0989	3.328	3.22
CP	310 ppm K	7	6	2.226	7.815	9.897
CP	360 ppm K	1	8	3.7582	9.875	10.093
CP	360 ppm K	2	9	2.4872	9.556	9.815
CP	360 ppm K	3	6	3.3746	8.37	9.413
CP	360 ppm K	4	8	1.4812	10.028	10.523
CP	360 ppm K	5	5	0.9601	8.739	8.972
CP	360 ppm K	6	2	0.4866	2.491	2.734
CP	360 ppm K	7	6	2.7603	8.156	8.588

1.3 Reporte de resultados obtenidos análisis de glicósidos de esteviol

Factor 1	Factor 2	Rep	Reb A (%)	Steviosido (%)	SG's total
CP	210 ppm K	1	4.218	0.803	5.021
CP	210 ppm K	2	4.332	0.812	5.144
CP	210 ppm K	3	4.189	0.833	5.022
CP	260 ppm K	1	4.667	0.936	5.603
CP	260 ppm K	2	4.725	0.954	5.679
CP	260 ppm K	3	4.56	0.925	5.485
CP	310 ppm K	1	5.222	0.97	6.192
CP	310 ppm K	2	5.336	0.98	6.316
CP	310 ppm K	3	5.123	0.967	6.09
CP	360 ppm K	1	5.146	0.909	6.055
CP	360 ppm K	2	5.21	0.912	6.122
CP	360 ppm K	3	5.008	0.899	5.907
SP	210 ppm K	1	4.554	1.009	5.563
SP	210 ppm K	2	4.652	1.11	5.762
SP	210 ppm K	3	4.658	1.002	5.66
SP	260 ppm K	1	4.389	0.909	5.298
SP	260 ppm K	2	4.489	0.91	5.399
SP	260 ppm K	3	4.521	0.908	5.429
SP	310 ppm K	1	5.495	1.017	6.512
SP	310 ppm K	2	5.556	1.021	6.577
SP	310 ppm K	3	5.396	1.002	6.398
SP	360 ppm K	1	5.031	0.963	5.994
SP	360 ppm K	2	5.026	0.945	5.971
SP	360 ppm K	3	5.023	0.998	6.021

1.4 Reporte de resultados de absorción de nutrientes

FACTOR 1	FACTOR 2	Repetición	Peso seco hojas (gr)	Absorción de nutrientes													
				mg S	mg K	mg N	mg P	mg Ca	mg Mg	mg Mo	mg Fe	mg Mn	mg Cu	mg Zn	mg B	mg Cloruros	mg Na
SP	210 ppm K	1	7	35	196.7	232.4	24.5	89.6	30.1	0.00238	4.424	1.54	0.0742	0.5257	1.064	52.08	2.765
SP	210 ppm K	2	5	25	140.5	166	17.5	64	21.5	0.0017	3.16	1.1	0.053	0.3755	0.76	37.2	1.975
SP	210 ppm K	3	7	35	196.7	232.4	24.5	89.6	30.1	0.00238	4.424	1.54	0.0742	0.5257	1.064	52.08	2.765
SP	210 ppm K	4	6	30	168.6	199.2	21	76.8	25.8	0.00204	3.792	1.32	0.0636	0.4506	0.912	44.64	2.37
SP	210 ppm K	5	7	35	196.7	232.4	24.5	89.6	30.1	0.00238	4.424	1.54	0.0742	0.5257	1.064	52.08	2.765
SP	210 ppm K	6	7	35	196.7	232.4	24.5	89.6	30.1	0.00238	4.424	1.54	0.0742	0.5257	1.064	52.08	2.765
SP	260 ppm K	1	6	36.6	195.6	201.6	24.6	75.6	25.2	0.00426	3.78	1.506	0.0666	0.5118	0.936	40.464	2.652
SP	260 ppm K	2	5	30.5	163	168	20.5	63	21	0.00355	3.15	1.255	0.0555	0.4265	0.78	33.72	2.21
SP	260 ppm K	3	9	54.9	293.4	302.4	36.9	113.4	37.8	0.00639	5.67	2.259	0.0999	0.7677	1.404	60.696	3.978
SP	260 ppm K	4	6	36.6	195.6	201.6	24.6	75.6	25.2	0.00426	3.78	1.506	0.0666	0.5118	0.936	40.464	2.652
SP	260 ppm K	5	8	48.8	260.8	268.8	32.8	100.8	33.6	0.00568	5.04	2.008	0.0888	0.6824	1.248	53.952	3.536
SP	260 ppm K	6	4	24.4	130.4	134.4	16.4	50.4	16.8	0.00284	2.52	1.004	0.0444	0.3412	0.624	26.976	1.768
SP	310 ppm K	1	5	32.5	153	150.5	20	54.5	18.5	0.002	3.01	1.155	0.056	0.412	0.73	16.825	2.16
SP	310 ppm K	2	8	52	244.8	240.8	32	87.2	29.6	0.0032	4.816	1.848	0.0896	0.6592	1.168	26.92	3.456
SP	310 ppm K	3	8	52	244.8	240.8	32	87.2	29.6	0.0032	4.816	1.848	0.0896	0.6592	1.168	26.92	3.456
SP	310 ppm K	4	4	26	122.4	120.4	16	43.6	14.8	0.0016	2.408	0.924	0.0448	0.3296	0.584	13.46	1.728
SP	310 ppm K	5	7	45.5	214.2	210.7	28	76.3	25.9	0.0028	4.214	1.617	0.0784	0.5768	1.022	23.555	3.024
SP	310 ppm K	6	4	26	122.4	120.4	16	43.6	14.8	0.0016	2.408	0.924	0.0448	0.3296	0.584	13.46	1.728
SP	360 ppm K	1	7	35	214.2	219.1	23.8	68.6	25.2	0.00623	4.452	1.484	0.0742	0.5229	1.043	21.553	2.786
SP	360 ppm K	2	7	35	214.2	219.1	23.8	68.6	25.2	0.00623	4.452	1.484	0.0742	0.5229	1.043	21.553	2.786
SP	360 ppm K	3	6	30	183.6	187.8	20.4	58.8	21.6	0.00534	3.816	1.272	0.0636	0.4482	0.894	18.474	2.388
SP	360 ppm K	4	5	25	153	156.5	17	49	18	0.00445	3.18	1.06	0.053	0.3735	0.745	15.395	1.99
SP	360 ppm K	5	7	35	214.2	219.1	23.8	68.6	25.2	0.00623	4.452	1.484	0.0742	0.5229	1.043	21.553	2.786
SP	360 ppm K	6	5	25	153	156.5	17	49	18	0.00445	3.18	1.06	0.053	0.3735	0.745	15.395	1.99
CP	210 ppm K	1	9	39.6	266.4	305.1	30.6	117.9	39.6	0.00909	6.417	1.836	0.0999	0.6714	1.548	35.514	3.789
CP	210 ppm K	2	7	30.8	207.2	237.3	23.8	91.7	30.8	0.00707	4.991	1.428	0.0777	0.5222	1.204	27.622	2.947
CP	210 ppm K	3	5	22	148	169.5	17	65.5	22	0.00505	3.565	1.02	0.0555	0.373	0.86	19.73	2.105
CP	210 ppm K	4	7	30.8	207.2	237.3	23.8	91.7	30.8	0.00707	4.991	1.428	0.0777	0.5222	1.204	27.622	2.947
CP	210 ppm K	5	5	22	148	169.5	17	65.5	22	0.00505	3.565	1.02	0.0555	0.373	0.86	19.73	2.105
CP	210 ppm K	6	7	30.8	207.2	237.3	23.8	91.7	30.8	0.00707	4.991	1.428	0.0777	0.5222	1.204	27.622	2.947
CP	260 ppm K	1	8	39.2	247.2	261.6	29.6	89.6	31.2	0.00448	4.304	1.568	0.0808	0.5376	1.408	26.152	3.376
CP	260 ppm K	2	9	44.1	278.1	294.3	33.3	100.8	35.1	0.00504	4.842	1.764	0.0909	0.6048	1.584	29.421	3.798
CP	260 ppm K	3	5	24.5	154.5	163.5	18.5	56	19.5	0.0028	2.69	0.98	0.0505	0.336	0.88	16.345	2.11
CP	260 ppm K	4	6	29.4	185.4	196.2	22.2	67.2	23.4	0.00336	3.228	1.176	0.0606	0.4032	1.056	19.614	2.532
CP	260 ppm K	5	7	34.3	216.3	228.9	25.9	78.4	27.3	0.00392	3.766	1.372	0.0707	0.4704	1.232	22.883	2.954
CP	260 ppm K	6	8	39.2	247.2	261.6	29.6	89.6	31.2	0.00448	4.304	1.568	0.0808	0.5376	1.408	26.152	3.376
CP	310 ppm K	1	7	32.9	224	224.7	23.1	82.6	28.7	0.0035	4.494	1.407	0.06332	0.4942	1.246	28.525	3.542
CP	310 ppm K	2	6	28.2	192	192.6	19.8	70.8	24.6	0.003	3.852	1.206	0.05856	0.4236	1.068	24.45	3.036
CP	310 ppm K	3	9	42.3	288	288.9	29.7	106.2	36.9	0.0045	5.778	1.809	0.08784	0.6354	1.602	36.675	4.554
CP	310 ppm K	4	7	32.9	224	224.7	23.1	82.6	28.7	0.0035	4.494	1.407	0.06332	0.4942	1.246	28.525	3.542
CP	310 ppm K	5	8	37.6	256	256.8	26.4	94.4	32.8	0.004	5.136	1.608	0.07808	0.5648	1.424	32.6	4.048
CP	310 ppm K	6	1	4.7	32	32.1	3.3	11.8	4.1	0.0005	0.642	0.201	0.00976	0.0706	0.178	4.075	0.506
CP	310 ppm K	1	6	28.2	192	192.6	19.8	70.8	24.6	0.003	3.852	1.206	0.05856	0.4236	1.068	24.45	3.036
CP	360 ppm K	2	9	32.4	282.6	285.3	27.9	96.3	36	0.00324	6.597	1.755	0.0936	0.6327	1.548	40.851	4.689
CP	360 ppm K	3	6	21.6	188.4	190.2	18.6	64.2	24	0.00216	4.398	1.17	0.0624	0.4218	1.032	27.234	3.126
CP	360 ppm K	4	8	28.8	251.2	253.6	24.8	85.6	32	0.00288	5.864	1.56	0.0832	0.5624	1.376	36.312	4.168
CP	360 ppm K	5	5	18	157	158.5	15.5	53.5	20	0.0018	3.665	0.975	0.052	0.3515	0.86	22.695	2.605
CP	360 ppm K	6	6	21.6	188.4	190.2	18.6	64.2	24	0.00216	4.398	1.17	0.0624	0.4218	1.032	27.234	3.126

Anexo 2: Análisis de varianza (ANOVA)

2.1 Análisis de varianza de altura

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
ALTURA	56	0.43	0.35	13.21

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	156.89	7	22.41	5.24	0.0002
FACTOR 1	111.45	1	111.45	26.04	<0.0001
FACTOR 2	42.04	3	14.01	3.28	0.0289
FACTOR 1*FACTOR 2	3.40	3	1.13	0.26	0.8506
Error	205.39	48	4.28		
Total	362.28	55			

2.2 Análisis de varianza de peso fresco hoja

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
PESO FRESCO HOJA	56	0.08	0.00	30.59

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	205.43	7	29.35	0.61	0.7435
FACTOR 1	114.29	1	114.29	2.38	0.1293
FACTOR 2	55.86	3	18.62	0.39	0.7621
FACTOR 1*FACTOR 2	35.29	3	11.76	0.25	0.8644
Error	2303.43	48	47.99		
Total				2508.86	55

2.3 Análisis de varianza de peso fresco tallo

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
PESO FRESCO TALLO	56	0.18	0.06	37.25

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	41.64	7	5.95	1.47	0.1991
FACTOR 1	28.57	1	28.57	7.08	0.0106
FACTOR 2	6.64	3	2.21	0.55	0.6515
FACTOR 1*FACTOR 2	6.43	3	2.14	0.53	0.6632
Error	193.71	48	4.04		
Total	235.36	55			

2.4 Análisis de varianza de peso seco hoja

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Peso seco hojas (gr)	48	0.09	0.00	21.96

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	8.58	7	1.23	0.58	0.7685
FACTOR 1	6.75	1	6.75	3.19	0.0817
FACTOR 2	0.25	3	0.08	0.04	0.9894
FACTOR 1*FACTOR 2	1.58	3	0.53	0.25	0.8613
Error	84.67	40	2.12		
Total	93.25	47			

2.5 Análisis de varianza de peso seco raíz

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
PESO SECO RAIZ	56	0.11	0.00	49.79

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	5.95	7	0.85	0.86	0.5447
FACTOR 1	0.01	1	0.01	0.01	0.9040
FACTOR 2	5.27	3	1.76	1.78	0.1640
FACTOR 1*FACTOR 2	0.66	3	0.22	0.22	0.8794
Error	47.42	48	0.99		
Total	53.36	55			

2.6 Análisis de varianza de número de ramas

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
NUMERO RAMAS	56	0.49	0.41	26.10

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	455.93	7	65.13	6.52	<0.0001
FACTOR 1	200.64	1	200.64	20.09	<0.0001
FACTOR 2	170.93	3	56.98	5.70	0.0020
FACTOR 1*FACTOR 2	84.36	3	28.12	2.82	0.0490
Error	479.43	48	9.99		
Total	935.36	55			

2.7 Análisis de varianza de número de hojas

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
NUMERO HOJAS	56	0.14	0.01	25.08

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	50842.13	7	7263.16	1.11	0.3736
FACTOR 1	11687.16	1	11687.16	1.78	0.1881
FACTOR 2	30886.91	3	10295.64	1.57	0.2087
FACTOR 1*FACTOR 2	8268.05	3	2756.02	0.42	0.7392
Error	314664.00	48	6555.50		
Total	365506.13	55			

2.8 Análisis de varianza de área foliar par 1

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
AREA FOLIAR 1	56	0.40	0.31	29.24

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	139.88	7	19.98	4.53	0.0006
FACTOR 1	82.55	1	82.55	18.72	0.0001
FACTOR 2	50.84	3	16.95	3.84	0.0152
FACTOR 1*FACTOR 2	6.49	3	2.16	0.49	0.6903
Error	211.66	48	4.41		
Total	351.54	55			

2.9 Análisis de varianza de área foliar par 2

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
AREA 2	56	0.38	0.29	29.47

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	142.83	7	20.40	4.18	0.0012
FACTOR 1	81.71	1	81.71	16.74	0.0002
FACTOR 2	52.17	3	17.39	3.56	0.0208
FACTOR 1*FACTOR 2	8.95	3	2.98	0.61	0.6112
Error	234.34	48	4.88		
Total	377.17	55			

2.10 Análisis de varianza de absorción de N

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
mg N	48	0.10	0.00	26.18

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	12883.39	7	1840.48	0.61	0.7436
FACTOR 1	4240.91	1	4240.91	1.41	0.2425
FACTOR 2	8564.57	3	2854.86	0.95	0.4270
FACTOR 1*FACTOR 2	300.94	3	100.31	0.03	0.9917
Error	120558.59	40	3013.96		
Total	133441.98	47			

2.11 Análisis de varianza de absorción de P

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
mg P	48	0.12	0.00	26.45

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	212.65	7	30.38	0.82	0.5802
FACTOR 1	5.34	1	5.34	0.14	0.7071
FACTOR 2	174.17	3	58.06	1.56	0.2146
FACTOR 1*FACTOR 2	28.74	3	9.58	0.26	0.8558
Error	1490.61	40	37.27		
Total	1703.26	47			

2.12 Análisis de varianza de absorción de K

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
mg K	48	0.07	0.00	26.80

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	8124.44	7	1160.63	0.41	0.8918
FACTOR 1	3863.59	1	3863.59	1.36	0.2509
FACTOR 2	4273.60	3	1424.53	0.50	0.6841
FACTOR 1*FACTOR 2	187.53	3	62.51	0.02	0.9955
Error	113861.84	40	2846.55		
Total	121986.28	47			

2.13 Análisis de varianza de absorción de Ca

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
mg Ca	48	0.18	0.03	26.47

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3467.03	7	495.29	1.24	0.3037
FACTOR 1	491.78	1	491.78	1.23	0.2735
FACTOR 2	2677.99	3	892.66	2.24	0.0987
FACTOR 1*FACTOR 2	234.94	3	78.31	0.20	0.8983
Error	15958.43	40	398.96		
Total	19425.46	47			

2.14 Análisis de varianza de absorción de Mg

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
mg Mg	48	0.13	0.00	26.38

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	294.60	7	42.09	0.89	0.5261
FACTOR 1	95.17	1	95.17	2.00	0.1646
FACTOR 2	173.15	3	57.72	1.22	0.3165
FACTOR 1*FACTOR 2	27.45	3	9.15	0.19	0.9008
Error	1899.32	40	47.48		
Total	2193.92	47			

2.15 Análisis de varianza de absorción de S

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
mg S	48	0.24	0.11	27.08

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	979.88	7	139.98	1.80	0.1134
FACTOR 1	376.79	1	376.79	4.86	0.0334
FACTOR 2	555.96	3	185.32	2.39	0.0832
FACTOR 1*FACTOR 2	80.32	3	26.77	0.34	0.7929
Error	3104.27	40	77.61		
Total	4084.15	47			

2.16 Análisis de varianza de absorción de Mo

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Mo (mg/kg)	48	0.76	0.72	23.48

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1.1E-04	7	1.5E-05	18.14	<0.0001
FACTOR 1	3.8E-06	1	3.8E-06	4.48	0.0406
FACTOR 2	1.5E-05	3	5.1E-06	6.03	0.0017
FACTOR 1*FACTOR 2	8.9E-05	3	3.0E-05	34.79	<0.0001
Error	3.4E-05	40	8.5E-07		
Total				1.4E-04	47

2.17 Análisis de varianza de absorción de Fe

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Fe (mg/kg)	48	0.25	0.12	22.00

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	11.46	7	1.64	1.88	0.0994
FACTOR 1	5.50	1	5.50	6.31	0.0162
FACTOR 2	2.84	3	0.95	1.08	0.3667
FACTOR 1*FACTOR 2	3.12	3	1.04	1.19	0.3254
Error	34.92	40	0.87		
Total	46.38	47			

2.18 Análisis de varianza de absorción de Mn

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Mn (mg/kg)	48	0.07	0.00	22.59

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.30	7	0.04	0.42	0.8865
FACTOR 1	0.02	1	0.02	0.15	0.6999
FACTOR 2	0.16	3	0.05	0.52	0.6685
FACTOR 1*FACTOR 2	0.12	3	0.04	0.40	0.7556
Error	4.06	40	0.10		
Total	4.36	47			

2.19 Análisis de varianza de absorción de Cu**Análisis de la varianza**

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Cu (mg/kg)	48	0.04	0.00	22.30

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3.6E-04	7	5.1E-05	0.21	0.9811
FACTOR 1	2.3E-04	1	2.3E-04	0.92	0.3420
FACTOR 2	8.1E-05	3	2.7E-05	0.11	0.9537
FACTOR 1*FACTOR 2	5.3E-05	3	1.8E-05	0.07	0.9743
Error	0.01	40	2.4E-04		
Total	0.01	47			

2.20 Análisis de varianza de absorción de Zn**Análisis de la varianza**

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Zn (mg/kg)	48	0.04	0.00	22.59

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.02	7	3.1E-03	0.25	0.9707
FACTOR 1	3.1E-05	1	3.1E-05	2.5E-03	0.9605
FACTOR 2	0.01	3	2.5E-03	0.20	0.8943
FACTOR 1*FACTOR 2	0.01	3	4.6E-03	0.37	0.7747
Error	0.50	40	0.01		
Total	0.52	47			

2.21 Análisis de varianza de absorción de B**Análisis de la varianza**

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
B (mg/kg)	48	0.32	0.21	21.85

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1.08	7	0.15	2.73	0.0204
FACTOR 1	0.98	1	0.98	17.42	0.0002
FACTOR 2	0.03	3	0.01	0.16	0.9236
FACTOR 1*FACTOR 2	0.07	3	0.02	0.41	0.7450
Error	2.25	40	0.06		
Total				3.33	47

2.22 Análisis de varianza de concentración de Reb A

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
REB A	24	0.97	0.96	1.62

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3.75	7	0.54	86.72	<0.0001
FACTOR 1	0.05	1	0.05	7.49	0.0146
FACTOR 2	3.38	3	1.13	182.23	<0.0001
FACTOR 1*FACTOR 2	0.33	3	0.11	17.63	<0.0001
Error	0.10	16	0.01		
Total	3.85	23			

2.23 Análisis de varianza de concentración de esteviosido

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Steviosido (%)	24	0.91	0.87	2.65

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.10	7	0.01	23.55	<0.0001
Factor 1	0.03	1	0.03	53.03	<0.0001
Factor 2	0.02	3	0.01	9.81	0.0007
Factor 1*Factor 2	0.05	3	0.02	27.48	<0.0001
Error	0.01	16	6.3E-04		
Total	0.11	23			

2.24 Análisis de varianza de glicósidos de esteviol totales

Análisis de la varianza

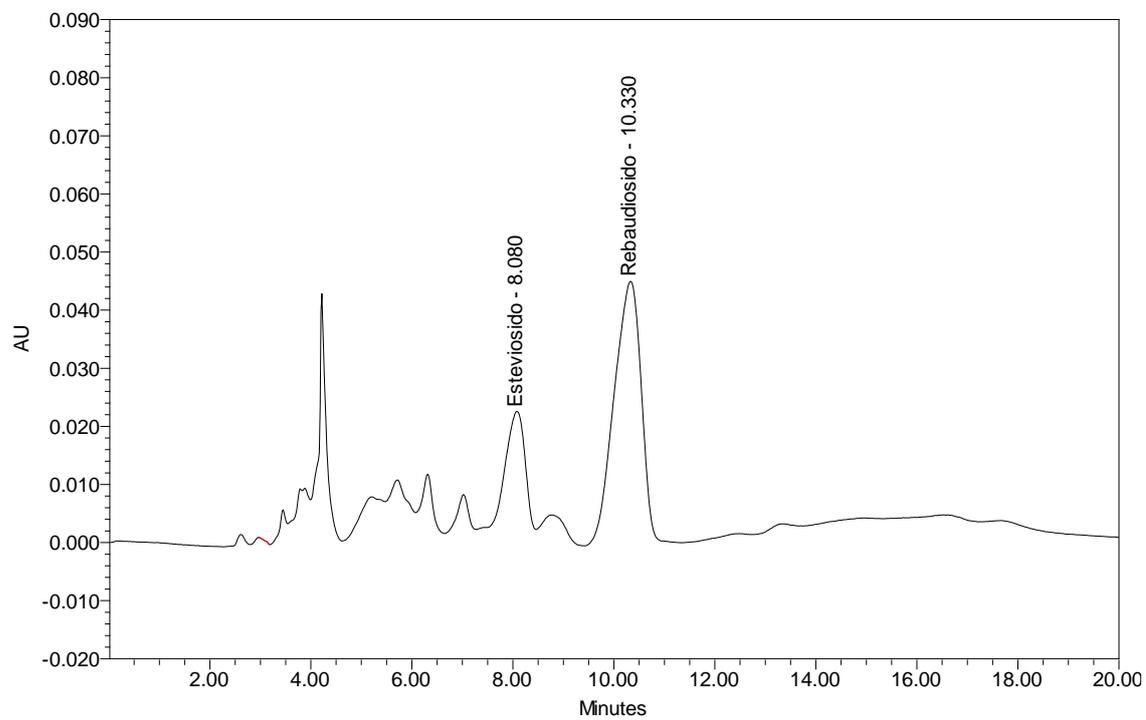
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
SGT	24	0.97	0.96	1.53

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

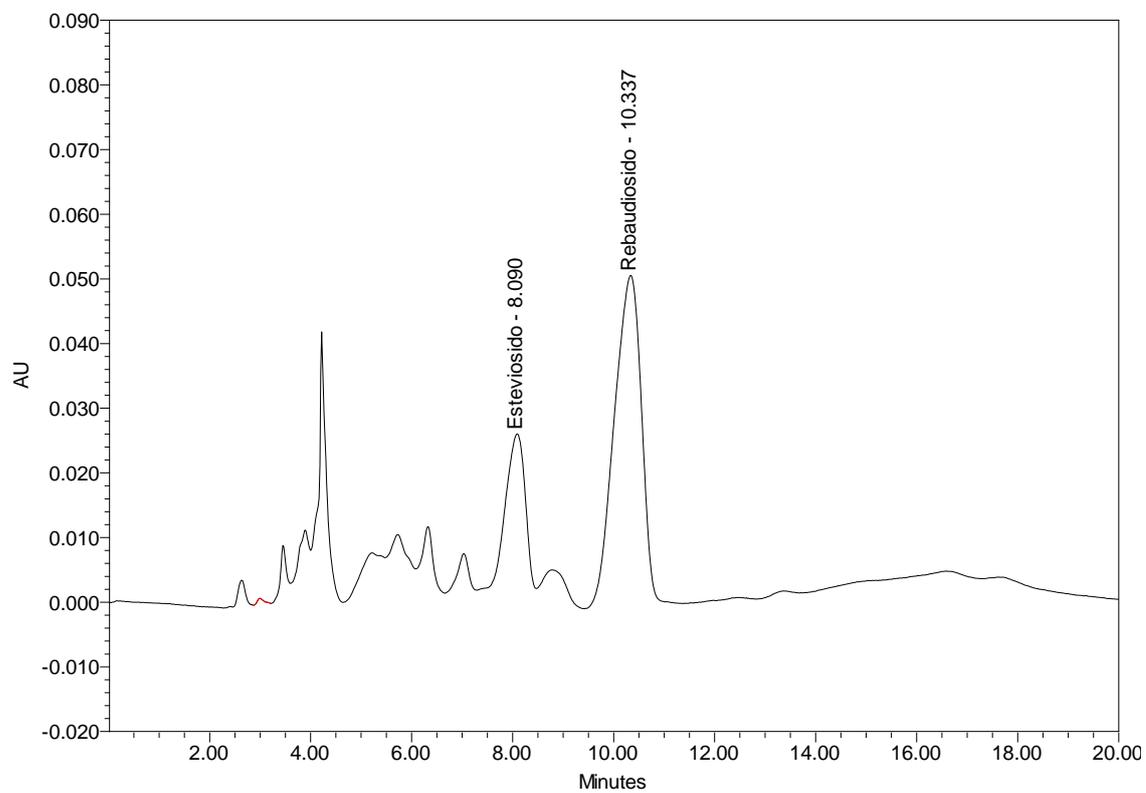
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4.57	7	0.65	82.92	<0.0001
FACTOR 1	0.16	1	0.16	20.10	0.0004
FACTOR 2	3.82	3	1.27	162.09	<0.0001
FACTOR 1*FACTOR 2	0.58	3	0.19	24.69	<0.0001
Error	0.13	16	0.01		
Total	4.69	23			

Anexo 3: Cromatogramas de glicósidos de esteviol

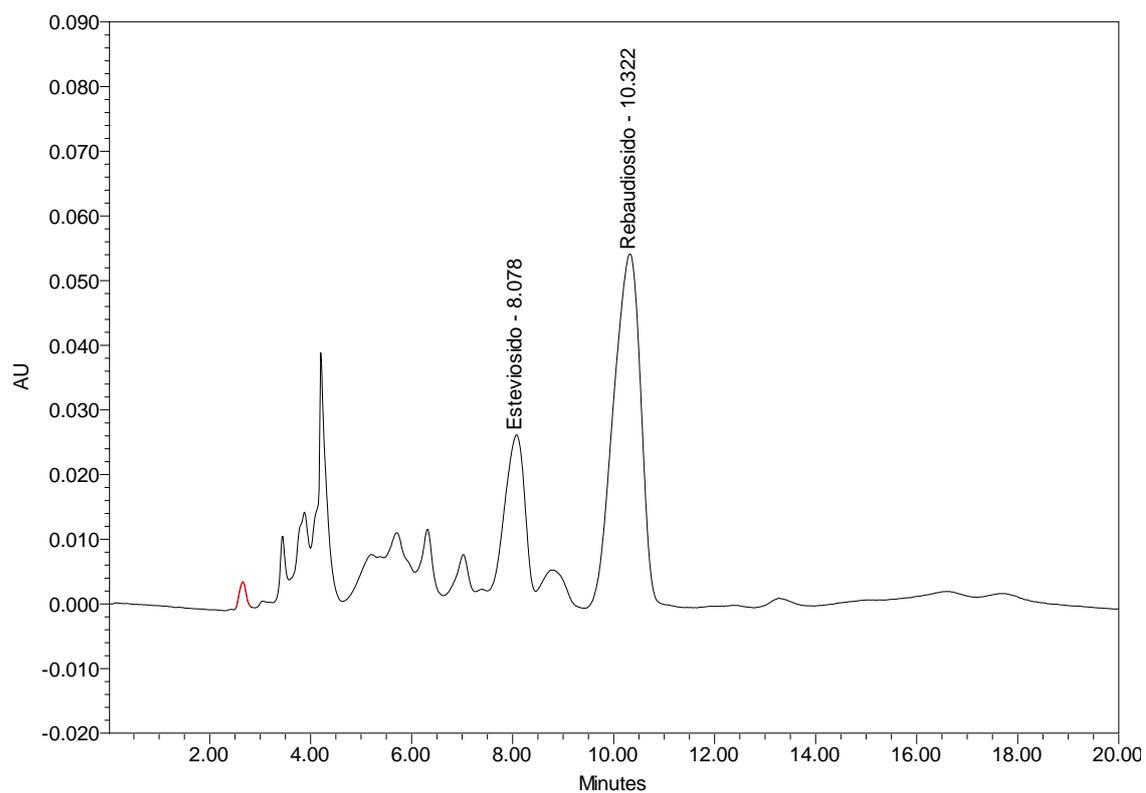
3.1 Cromatograma del tratamiento CP T0



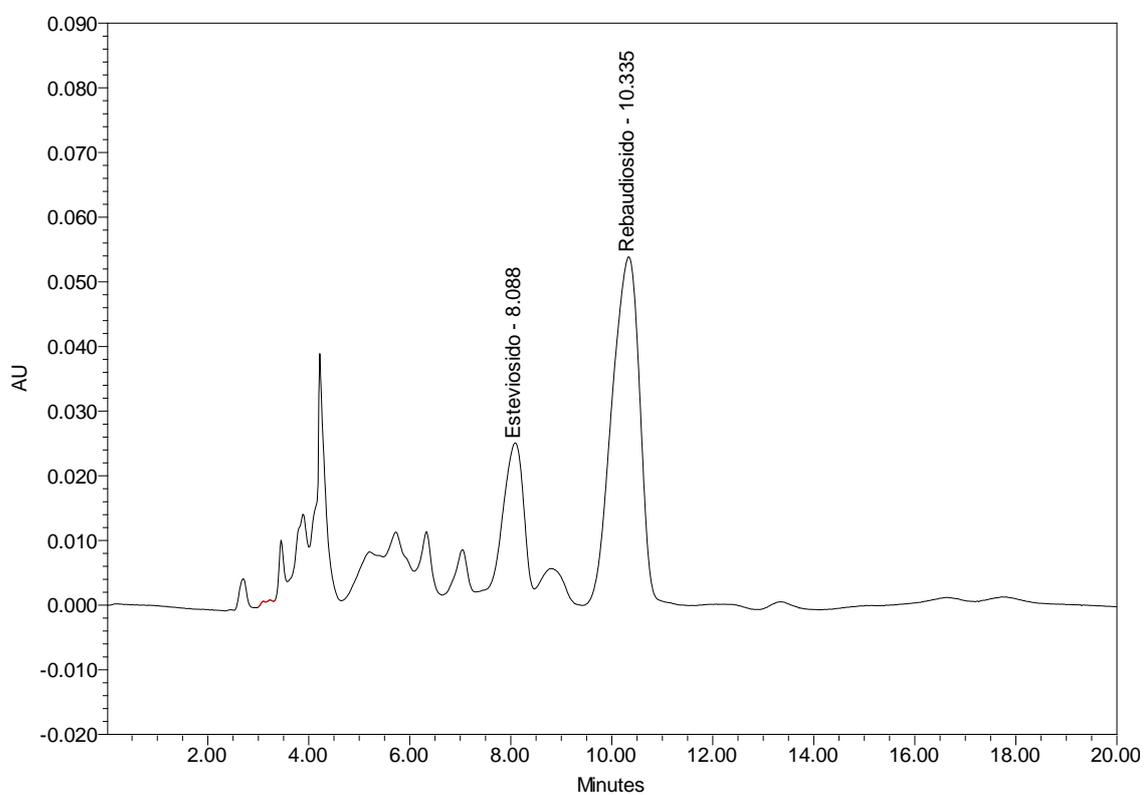
3.2 Cromatograma del tratamiento CP T1



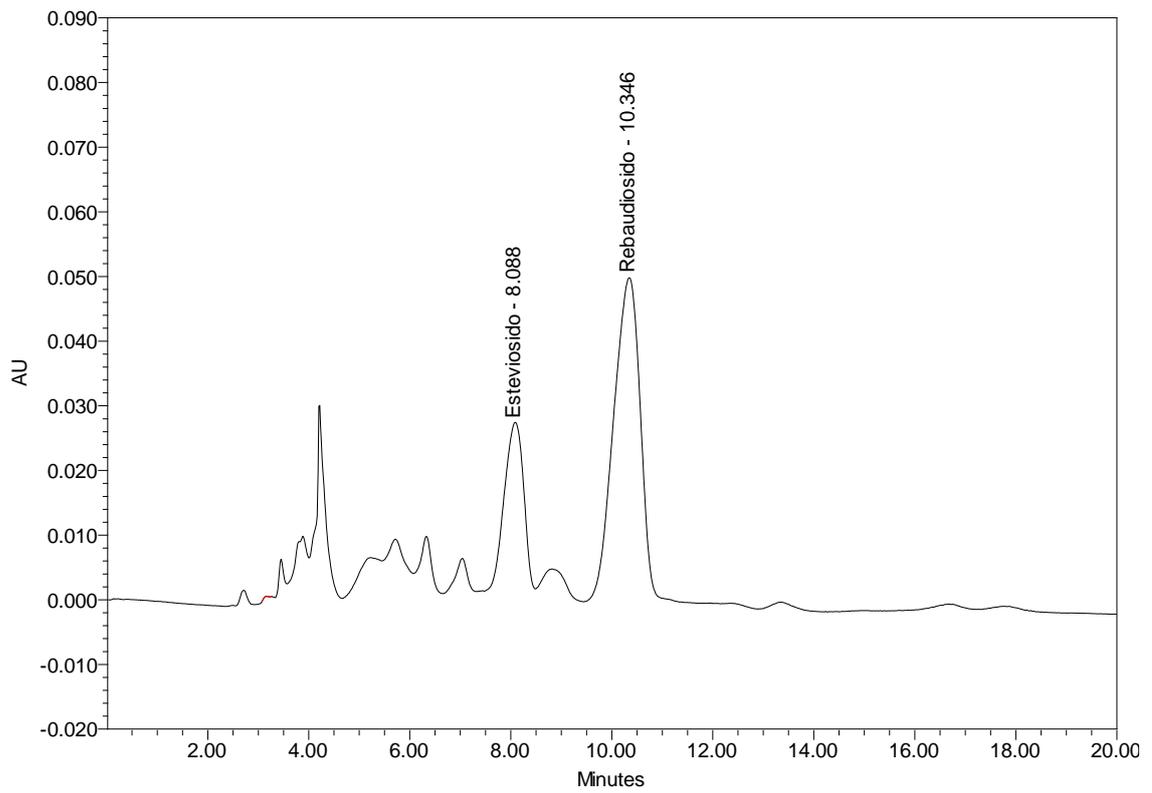
3.3 Cromatograma del tratamiento CP T2



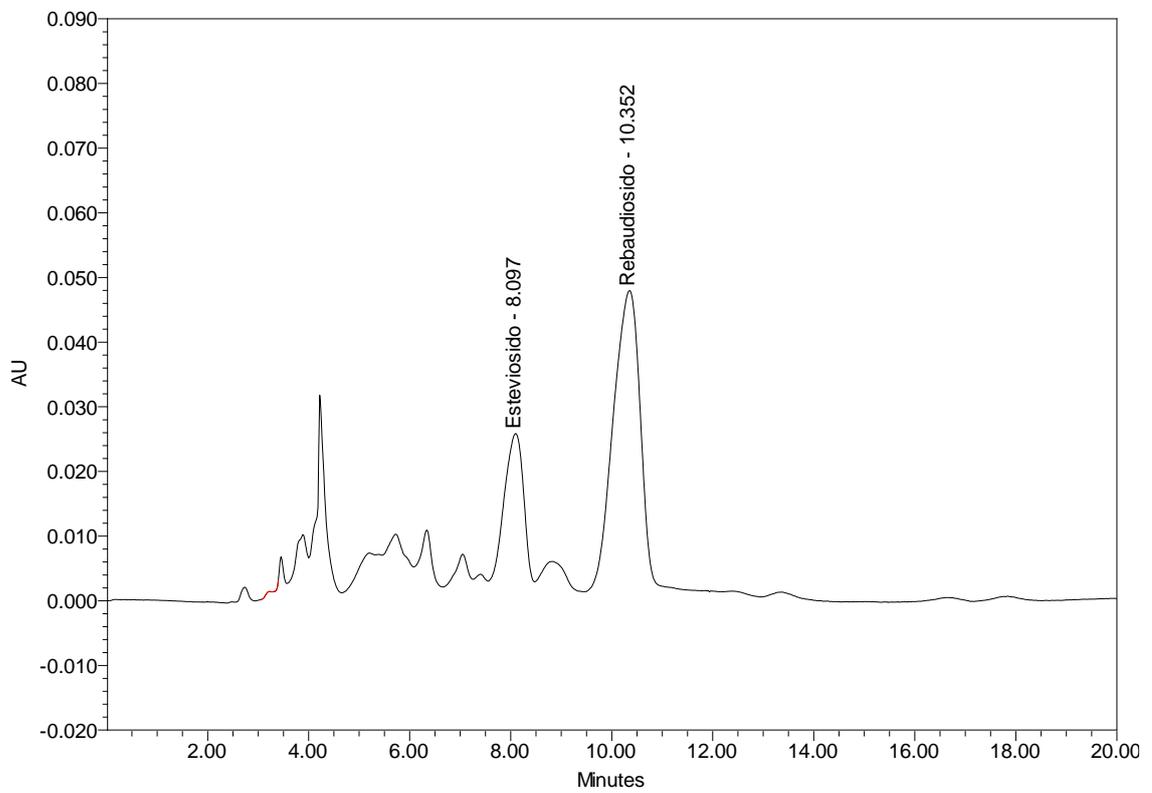
3.4 Cromatograma del tratamiento CP T3



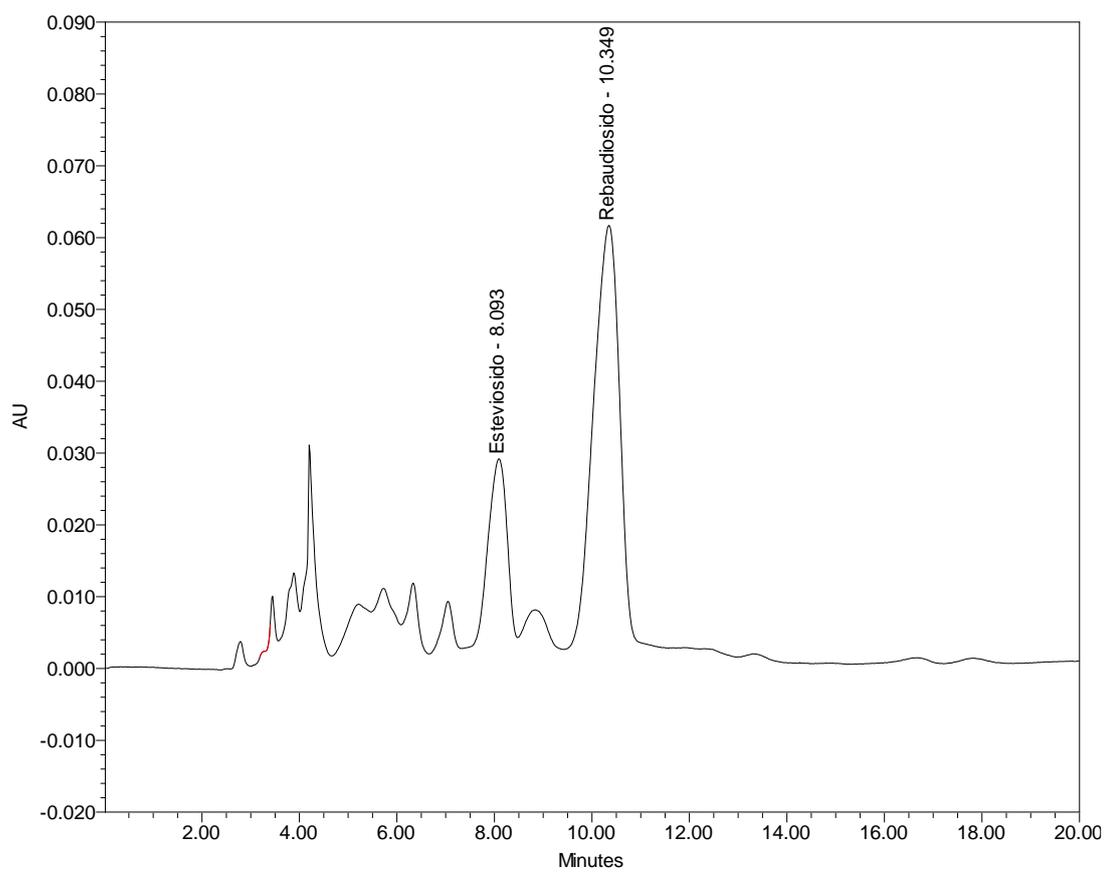
3.5 Cromatograma del tratamiento SP T0



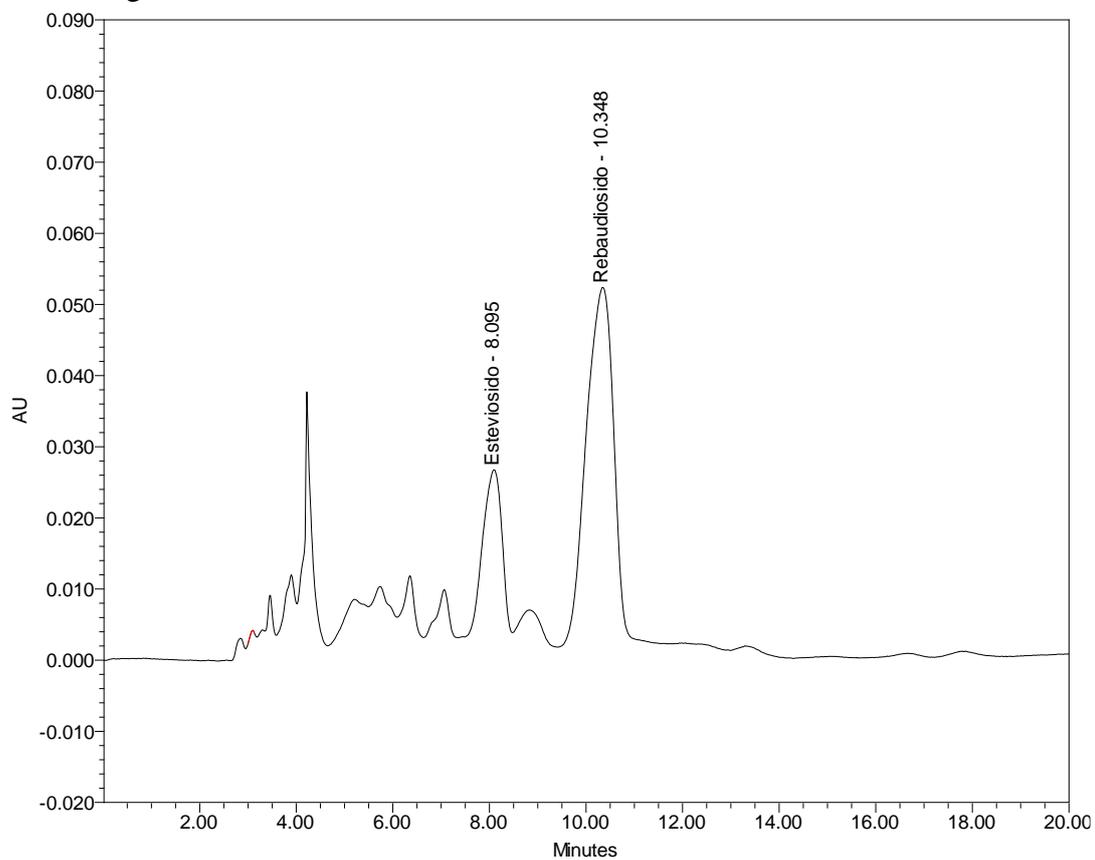
3.6 Cromatograma del tratamiento SP T1



3.7 Cromatograma del tratamiento SP T2

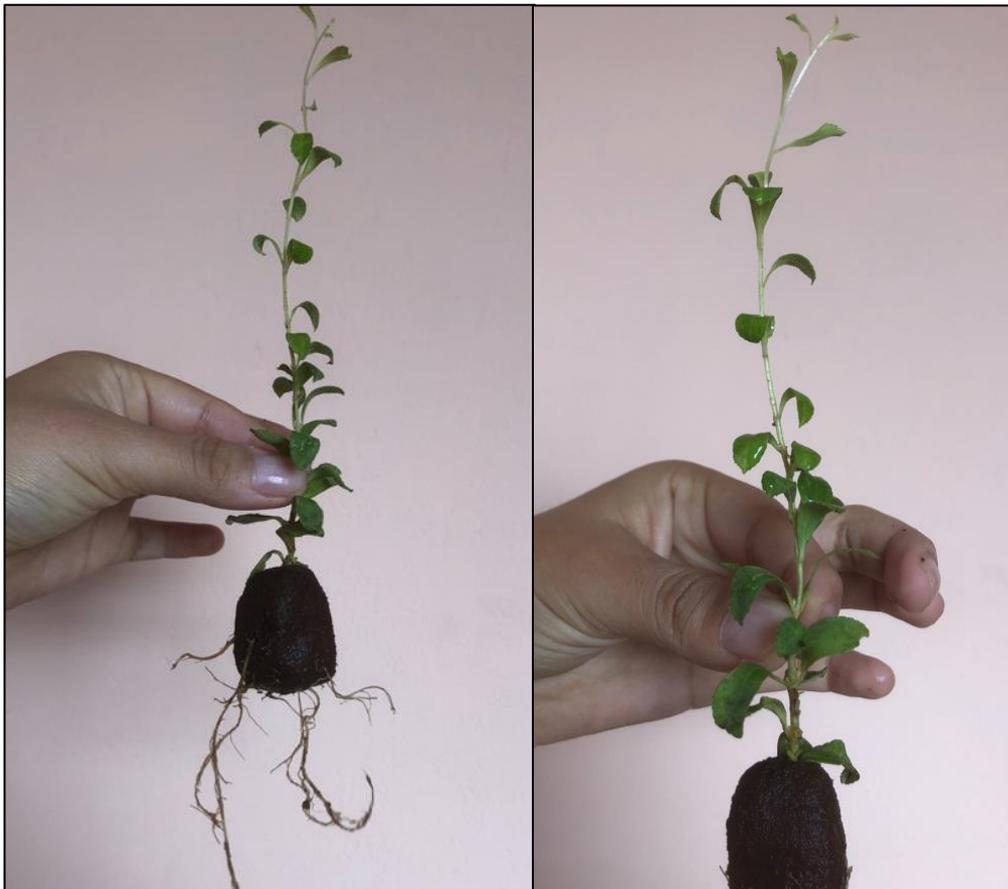


3.8 Cromatograma del tratamiento SP T3



Anexo 4: Registro fotográfico

4.1 Plántulas de estevia



4.2 Llenado de sustrato en macetas





4.3 Siembra de plantines de *Stevia rebaudiana*



4.4 Desarrollo de plantas podadas día 45



4.5 Desarrollo de plantas sin podar día 45



4.6 Desarrollo de plantas podadas día 70



4.7 Desarrollo de plantas sin podar día 70



4.9 Pesaje de hojas



4.10 Evaluación de biomasa radicular

