

UTILIZACIÓN DEL ION AMONIO EN EL DESARROLLO DE PLÁNTULAS DE ESTEVIA (*Stevia rebaudiana* BERTONI) EN CONDICIONES DE HIDROPONIA

Francisco Marcelo Lara Viveros, Nadia Landero Valenzuela, Graciano Javier Aguado Rodríguez, Muhammad Ehsan, Vicente Moreno Hernández y Alejandro Ventura Maza

RESUMEN

La estevia (*Stevia rebaudiana*) es una planta que crece en algunas regiones de América del Sur, cuya parte de interés comercial son las hojas, responsables de su alto poder endulcorante. Se utilizaron plántulas de Estevia de dos meses de edad irrigadas con distintas soluciones nutritivas. Para la preparación de la solución nutritiva se utilizaron porcentajes de aniones y cationes constantes: 35% NO_3^- , 45% P_2O_4 , 20% SO_4 , 60% K^+ , 5% Ca^{++} y 35% Mg^{++} . En algunos trata-

mientos se incluyó el ion amonio en concentraciones de 0 a 3Meq. Los resultados mostraron que la presencia del ion amonio en la solución nutritiva afectó el peso seco de las hojas; el valor óptimo fue de 1,7Meq, que ocasionó el mayor peso seco registrado. La concentración de la solución nutritiva afectó el contenido de estevioles totales. La concentración que mostró una mayor concentración de estevioles fue de 15Meq.

Introducción

La estevia es una planta de la familia de las Asteraceae (Compositae), que crece en algunas regiones de América del Sur (Ramesh *et al.*, 2006). Las hojas son la parte de interés comercial ya que en ellas se encuentran varios grupos de glucósidos denominados estevioles (Ceunen *et al.*, 2012), que son los responsables de su alto poder endulcorante; sin embargo, en la mayoría de los casos, las plantas se comercializan en función de su peso seco. Algunos reportes muestran que su sabor puede llegar a ser de 300 a 400 veces más dulce que la sacarosa, sin

aportar calorías (de Lima Filho *et al.*, 1997). Los estevioles se consideran seguros para el consumo humano (European Food Safety Authority, 2010) y han sido aprobados para su utilización en varios países como EEUU, Canadá, China, Japón, Corea del Sur, Australia, Nueva Zelanda, y en Europa (Karimi *et al.*, 2015). Actualmente China es el primer productor mundial de cristales de estevia con unas 2700t/año, seguido por Paraguay con 2000t/año (Gonzales, 2011). En México, el cultivo de estevia está cobrando importancia en los estados del sur, debido a que la planta crece en condiciones tropicales, típica de

esa zona. En el centro y norte de México existen plantaciones de estevia que podrían ser afectadas por las bajas temperaturas frecuentes en la época invernal. Una alternativa a este problema es la siembra de estevia en condiciones de invernadero y en sistemas hidropónicos; sin embargo, debido a que la estevia ha sido introducida como cultivo desde hace poco tiempo, no se cuentan con estudios acerca de su comportamiento fisiológico y agronómico (Karimi *et al.*, 2015). Los estudios acerca de la nutrición mineral necesaria para el óptimo crecimiento de la planta son escasos y se concentran básicamente en Brasil y Colombia

(Jarma *et al.*, 2010); para México la información acerca de las necesidades nutricionales del cultivo son escasas. Por otro lado, la producción de plantas de interés para el ser humano utilizando sistemas hidropónicos se ha convertido en una alternativa viable. Una parte importante de los sistemas hidropónicos es la solución nutritiva que proporciona a la planta los elementos esenciales (Lara, 1999). Muchos sistemas hidropónicos utilizan el método propuesto por (Steiner, 1961) que se basa en una relación mutua entre aniones y cationes; sin embargo, en esta formulación no se considera el ion amonio, que puede propor-

PALABRAS CLAVE / Amonio / Estevia / Hidroponia / Solución Nutritiva /

Recibido: 08/02/2017. Modificado: 22/01/2018. Aceptado: 24/01/2018.

Francisco Marcelo Lara Viveros. Ingeniero de Sistemas, Universidad Veracruzana, México. Maestro en Ciencias y Doctor en Fisiología Vegetal, Colegio de Postgraduados (COLPOS), México. Catedrático, Universidad Politécnica de Francisco I. Madero (UPFIM), México.
Nadia Landero Valenzuela (Autor de correspondencia).

Doctora en Fitopatología, COLPOS, México. Catedrático, UPFIM. México. Dirección: Carretera Tepa-San Juan Tepa Km 2. Francisco I. Madero, Hidalgo México. C.P 4660. e-mail: nlanderova@conacyt.mx
Graciano Javier Aguado Rodríguez. Ingeniero en Irrigación, Universidad Autónoma de Chapingo, México. Doctor en

Hidrociencias, COLPOS, México. Catedrático, UPFIM. México.
Muhammad Ehsan. Ingeniero Agrónomo, Agricultural University Peshawar, Pakistan. Doctor en Edafología, COLPOS, México. Profesor, University of Agriculture, Pakistán.
Vicente Moreno Hernández. Ingeniero en Agrotecnología, UPFIM, México.

Alejandro Ventura Maza. Ingeniero Agrónomo, Universidad Autónoma de Chiapas, México. Maestro en Ciencias en Recursos Naturales y Desarrollo Rural, Colegio de la Frontera Sur, México. Profesor Investigador, UPFIM, México.

USE OF AMMONIUM IN THE DEVELOPMENT OF STEVIA PLANTS (*Stevia rebaudiana* BERTONI) IN HYDROPONIC CONDITIONS

Francisco Marcelo Lara Viveros, Nadia Landero Valenzuela, Graciano Javier Aguado Rodríguez, Muhammad Ehsan, Vicente Moreno Hernández and Alejandro Ventura Maza

SUMMARY

Stevia (*Stevia rebaudiana*) is a plant grown in some regions of South America, whose leaves are the element of economic interest due to their high sweetening power. *Stevia* seedlings were irrigated with different nutrient solutions. For preparation of the nutrient solutions the percentages between anions and cations were used constant (35% NO_3 , 45% P_2O_4 , 20% SO_4 , 60% K^+ , 5% Ca^{++} and 35% Mg^{++}). In some treatments

included ammonium ion in varying concentrations from 0 to 3Meq. The results showed that the presence of ammonium ion in the nutrient affect the dry weight of the leaves. Values $>1.7\text{Meq}$ caused a decrease in weight of the leaves. The concentration that showed the highest concentration of steviol was 15Meq. The presence of ammonium ion did not affect this variable.

UTILIZAÇÃO DO ÍON AMÔNIO NO DESENVOLVIMENTO DE PLÂNTULAS DE ESTÉVIA (*Stevia rebaudiana* BERTONI) EM CONDIÇÕES DE HIDROPONI

Francisco Marcelo Lara Viveros, Nadia Landero Valenzuela, Graciano Javier Aguado Rodríguez, Muhammad Ehsan, Vicente Moreno Hernández e Alejandro Ventura Maza

RESUMO

A estévia (*Stevia rebaudiana*) é uma planta que cresce em algumas regiões da América do Sul, cuja parte de interesse comercial são as folhas, responsáveis por seu alto poder endulcorante. Utilizaram-se plântulas de Estévia de dois meses de idade irrigadas com distintas soluções nutritivas. Para a preparação da solução nutritiva se utilizaram concentrações de ânions e cátions constantes: 35% NO_3 , 45% P_2O_4 , 20% SO_4 , 60% K^+ , 5% Ca^{++} e 35%

Mg^{++} . Em alguns tratamentos se incluiu o íon amônio em concentrações de 0 a 3Meq. Os resultados mostraram que a presença do íon amônio na solução nutritiva afetou o peso seco das folhas; o valor ótimo foi de 1,7Meq, que ocasionou o maior peso seco registrado. A concentração da solução nutritiva afetou o conteúdo de estevóis totais. A concentração que mostrou uma maior concentração de estevóis foi de 15Meq.

cionar nitrógeno fácilmente asimilable a las plantas en crecimiento. El conocimiento acerca de la concentración adecuada de este ion para plantas de estevia podría incrementar el rendimiento del cultivo y evitar problemas de contaminación derivados del uso excesivo de fertilizantes nitrogenados (Smill, 1997). El objetivo del presente trabajo fue evaluar la respuesta de plantas de estevia a la aplicación del ion amonio en solución nutritiva.

Materiales y Métodos

Material vegetal y sitio de estudio

Se utilizaron plántulas de *Stevia rebaudiana* Bertoni, Var. Morita II, de ~5cm de altura, sembradas en charolas de Unicel de 180 orificios. Cuando las plantas alcanzaron una altura de 12,7cm en promedio (unos dos meses después) se trasplantaron a bolsas de plástico de 5 litros de

capacidad. El sustrato utilizado fue tezontle fino. Las plantas se irrigaron diariamente con 200ml de solución nutritiva. El experimento se realizó en un invernadero comercial, localizado en el municipio de Francisco I. Madero, Hidalgo, México.

Preparación de la solución nutritiva

Para la preparación de la solución nutritiva se utilizó la metodología propuesta por Steiner (1961), conservando los porcentajes entre aniones y cationes: 35% NO_3 , 45% P_2O_4 , 20% SO_4 , 60% K^+ , 5% Ca^{++} y 35% Mg^{++} . En los tratamientos que incluyeron amonio se sustituyó en una proporción del 20% del N total (Tabla I).

Los fertilizantes utilizados en la preparación de las diferentes soluciones fueron nitrato de calcio, nitrato de potasio, fosfato monopotásico, sulfato de potasio, sulfato de magnesio y fosfato mono-

amónico como fuente de amonio. En todos los casos el pH de la solución nutritiva se ajustó a un valor de 5,5 utilizando ácido sulfúrico grado reactivo. El agua utilizada para el riego y las soluciones nutritivas mostró una conductividad promedio de 400 μS . En total se utilizaron 20 plantas por cada uno de los tratamientos ensayados. Cada una de las plantas fue considerada como una repetición.

Variables evaluadas

Porcentaje de cobertura de suelo. El porcentaje de suelo cubierto por el follaje del cultivo de estevia fue determinado por medio de imágenes digitales de acuerdo con el procedimiento propuesto por Mullan y Barceló-García (2012). De cada una de las plantas en estudio se obtuvieron imágenes digitales mediante una cámara fotográfica Sony® de 18 megapi-

TABLE I
RELACIÓN ENTRE CATIONES, ANIONES Y EQUILIBRIO ESTEQUIOMÉTRICO UTILIZADO PARA LA PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES NUTRITIVAS

Tratamiento	Cationes				Aniones			
	NO_3	P_2O_4	SO_4	K^+	Ca^{++}	Mg^{++}	NH_4	
T1 10Meq	6	0,5	3,5	3,5	4,5	2	-	
T2 10Meq + Amonio	4,8	1,4	3,8	3,2	3,9	1,7	1,2	
T3 15Meq	9	0,7	5,25	5,25	6,7	3	-	
T4 15Meq + Amonio	7,2	2,1	5,7	4,8	5,85	2,55	1,8	
T5 (20Meq)	12	1	7	7	9	4	-	
T6 20Meq + Amónio	9,6	2,8	7,6	6,4	7,8	3,4	2,4	
T7 25Meq	15	1,25	8,75	8,75	11,25	5	-	
T8 25Meq + Amónio	12	3,25	9,75	8,75	9,7	3,5	3	

xeles. Las imágenes fueron tomadas a una altura constante de 150cm desde el suelo y posteriormente procesadas con ayuda del programa Adobe Photoshop CS5 Extended®. En cada imagen se ajustaron los valores de saturación y luminosidad (+60 y -20 respectivamente) con la finalidad de contrastar los colores correspondientes a las hojas y al suelo. Posteriormente se seleccionaron las áreas de la imagen correspondientes al color verde presentado por las hojas y dicha gama de colores fue sustituida por blanco absoluto (R= 255, G= 255, B= 255) según el sistema de medición de colores RGB., A continuación se seleccionó el área correspondiente al suelo y la gama de colores correspondientes fueron sustituidos por negro absoluto (R= 0, G= 0, B= 0). Una vez obtenido la razón entre los píxeles blancos y negros mediante el software antes mencionado se utilizó la fórmula

$$\%SCTFA = (NPB/255) \times 100$$

donde %SCTFA: porcentaje de suelo cubierto con tejido fotosintéticamente activo y NPB: número promedio de píxeles blancos.

Los resultados obtenidos fueron sometidos a análisis de varianza mediante el programa estadístico SAS V.9 para Windows®.

Altura. La altura se determinó cada semana desde el momento del trasplante y hasta la sexta semana. La altura fue determinada mediante una regla graduada. Con los datos obtenidos se calculó para cada planta el área bajo la curva del crecimiento mediante el método de los polígonos reportado por (Liengme, 2002) y los resultados fueron sometidos a análisis de varianza mediante el programa estadístico SAS V.9 para Windows®.

Rendimiento. Cuando las plantas cumplieron seis semanas en tratamiento fueron cosechadas y sus hojas colocadas en estufa de aire forzado a 70°C por 72h. Posteriormente cada una de las plantas fue pesada empleando una balanza analítica. Los datos obtenidos fueron

sometidos a análisis de regresión y pruebas de separación múltiple de medias mediante el programa estadístico SAS V.9 para Windows®.

Aislamiento y separación de esteviol

De cada una de las repeticiones se tomó un gramo de hoja seca y molida para ser colocada en 25ml de metanol. Después de 24h los residuos de hoja fueron separados por medio de papel filtro poro medio y la solución metanólica concentrada en un rotavapor a presión reducida a 60°C hasta llegar a 2ml. La separación del esteviósido del extracto crudo obtenido se realizó mediante cromatografía en capa fina, cuya fase móvil consistió en una mezcla 30:52:12 v/v de cloroformo-metanol-agua, de acuerdo a la metodología propuesta por (Wagner y Bladt, 1996). Se utilizaron placas sílica gel 60F254 con indicador de fluorescencia (Merck®) recortadas a 50x5 0mm. En cada extremo de la placa se colocaron 10µl de un estándar comercial de esteviol a una concentración de 0,94mg·ml⁻¹. En el espacio entre ambos extremos de la placa se colocaron 10µl de extracto metanólico de las hojas de estevia de cada uno de los tratamientos evaluados y sus repeticiones. Una vez que la placa desarrolló se calculó la posición del estándar en la placa por medio del coeficiente de retención (R_f) mediante la fórmula R_f= Z(x)/Z(f)×(100), donde Z(x): distancia del punto de aplicación a la molécula y Z(f): distancia del punto de aplicación al frente del disolvente. El valor de R_f para el estándar de esteviol fue de 94 y toda la fracción de sílica que obtuvo ese mismo valor de coeficiente de retención se colectó y se resuspendió en 1ml de metanol para ser centrifugado por 2min a 2000rpm. El sobrenadante fue colectado para su posterior análisis.

Determinación de la concentración de esteviolos aislados

En una placa de cromatografía en capa fina se colocaron

diferentes volúmenes del estándar con concentraciones conocidas (0; 0,188; 0,376; 1,128 y 1,504mg·kg⁻¹). Una vez que la placa desarrolló se determinó el R_f del estándar por la fórmula antes descrita y se colectó la fracción de sílica correspondiente. La fracción de sílica de resuspendió en metanol y se centrifugó a 2000rpm por 2min; el sobrenadante se aforó a 3ml y se determinó la longitud de onda a la cual se observó la máxima absorbancia del esteviol, que fue de 204nm. Esta longitud de onda fue utilizada entonces para leer cada una de las concentraciones colocadas sobre las placas y generar una curva de calibración que se ajustó a la forma y= 0,26455031×Abs-0,022411 donde y: concentración de esteviol en mg·ml⁻¹ y Abs: absorbancia de la muestra a 204nm. El coeficiente de determinación (R²) de la curva fue de 0,995.

Resultados y Discusión

Altura y porcentaje de cobertura de suelo

Los resultados mostraron que ninguna de las concentraciones de sales ensayadas afectó significativamente la altura total de las plántulas. Por otro lado, en la semana seis el porcentaje de cobertura de suelo fue afectado por algunos de los tratamientos. Las plantas a las que se les irrigó con una

solución nutritiva con 25Meq + Amonio mostraron un mayor porcentaje de cobertura de suelo (17,1%), en contraste las plantas tratadas con 15Meq sin amonio registraron valores de 14,6% de cobertura de suelo (Tabla II).

Los resultados indican que algunos tratamientos afectaron el crecimiento de la lámina foliar sin ocasionar un incremento en la altura, lo cual es posiblemente debido a que el tiempo y la forma en que se desarrollan las hojas es propia de cada especie y está controlada genéticamente (Taiz y Zeiguer, 2010). En el presente trabajo, los tratamientos que incluyeron una mayor cantidad de nutrientes ocasionaron que estos se reflejaran en una mayor formación de hojas (número o tamaño), lo que ocasionó un incremento en el porcentaje de cobertura de suelo. Los resultados anteriores coinciden con lo reportado previamente por Rashid *et al.* (2013), quienes encontraron un incremento en el número de ramas como consecuencia de la aplicación de 60kg·ha⁻¹ de N, mientras que el número de hojas se incrementó de 359 a 429 con la dosis de N antes mencionada. Los hechos anteriores sirven como base para inferir que las plántulas de estevia, en sus primeras etapas de crecimiento, utilizan los nutrientes para la formación de un mayor índice de área foliar y en una menor

TABLA II
EFECTO DE DIFERENTES SOLUCIONES NUTRITIVAS EN EL CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS DE *Stevia rebaudiana* CRECIENDO BAJO CONDICIONES DE HIDROPONIA (SEMANA 6)

Tratamiento	Altura (cm)	Altura (ABC)	Cobertura de suelo (%)	Cobertura de suelo (ABC)
10Meq	39,2 a	267,5 a	18,9 bc	71,7 ab
10Meq + Amonio	41,3 a	291,3 a	20,1 abc	79,1 a
15Meq	40,8 a	280,6 a	14,6 c	73,0 a
15Meq + Amonio	41,1 a	289,9 a	17,1 bc	76,0 a
(20Meq)	35,7 a	243,4 a	18,5 bc	47,3 ab
20Meq + Amónio	37,1 a	255,2 a	21,3 ab	61,8 ab
25Meq	37,6 a	259,0 a	14,6 bc	64,5 ab
25Meq + Amónio	37,8 a	271,2 a	17,1 a	75,1 a
DMS	5,8	48,1	6,4	24,5

DMS: diferencia mínima significativa. Letras iguales indican que no hay diferencias estadística significativa (Tukey, P=0,05). ABC: área bajo la curva.

proporción para un incremento de la altura. El porcentaje de cobertura de suelo es un indicador de la capacidad del cultivo para interceptar la radiación solar que proporciona el flujo de electrones necesarios para la fijación del carbono durante las reacciones dependientes de la luz, por lo que la tasa fotosintética es proporcional a este valor (Taiz y Zeiguer, 2010). Es sabido que la cantidad de nutrientes disponibles para las plantas tienen un efecto importante sobre el porcentaje de cobertura de suelo, por ejemplo Marschner (1995) menciona que cuando las plantas contienen niveles subóptimos de nitrógeno y fósforo la tasa de elongación de las hojas declina como resultado de una disminución del tamaño y número de las células epidermales. En el caso específico del cultivo de estevia, Das *et al.* (2008) mostraron que una mayor disponibilidad de nutrientes en el suelo ocasionó un incremento del 22% en el rendimiento, en comparación con plantas que crecían en suelos con nutrientes con menor biodisponibilidad. En el presente trabajo se observó un incremento en el porcentaje de cobertura de suelo en los tratamientos con mayor contenido de sales fertilizantes.

Rendimiento

El peso seco acumulado por las plantas de estevia fue afectado de manera diferencial por los tratamientos ensayados. En general, los tratamientos que contenían amonio en la solución nutritiva mostraron una mayor cantidad de materia seca acumulada en las hojas (Figura 1). De hecho, este factor (amonio) fue el único que ocasionó cambios en la cantidad de materia seca acumulada en las hojas ($P=0,008$), el resto de los nutrimentos presentes en la solución, no ocasionaron ningún efecto significativo en el incremento del peso seco acumulado en las hojas.

En el presente trabajo se observó que la acumulación de peso seco fue proporcional al contenido de amonio en la

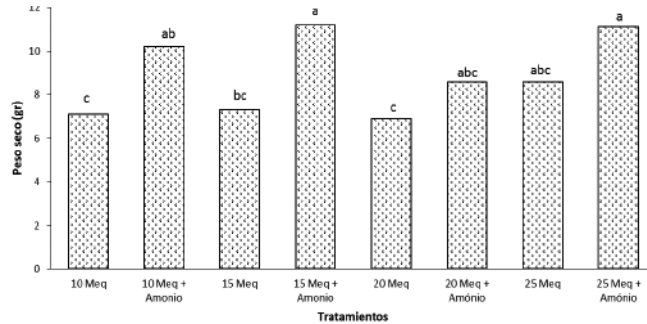


Figura 1. Efecto de las diferentes soluciones nutritivas sobre la acumulación de materia seca en plántulas de *Stevia rebaudiana*, seis semanas después del trasplante.

solución nutritiva. El modelo matemático encontrado mostró un incremento en el peso seco acumulado hasta un máximo de 10,25g con 1,7Meq en la solución nutritiva, mientras que valores superiores ocasionaron una disminución en la acumulación de peso seco (Figura 2). Los resultados coinciden con lo reportado por Rashid *et al.* (2013), quienes reportaron que una aplicación de 60kg/ha de nitrógeno ocasiona un rendimiento de 1080kg·ha⁻¹, en contraste con los 797kg·ha⁻¹ obtenidos en plantas a las cuales no se les aplicó nitrógeno; sin embargo, ese trabajo fue realizado en condiciones de campo.

Contenido de estevoles

La concentración media de estevoles en las hojas fue de 0,142mg·ml⁻¹, la que se vio afectada por la concentración (Meq) de la solución nutritiva ($P=0,004$). Las hojas que mostraron una mayor concentración de estevoles fueron aquellas que fueron irrigadas con 15Meq, con una media en la

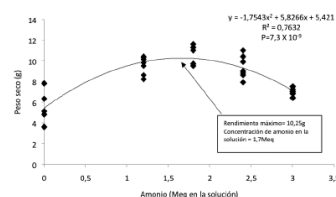


Figura 2. Efecto de la utilización del ion amonio en solución nutritiva sobre la acumulación de materia seca en plantas de *Stevia rebaudiana*, seis semanas después del trasplante.

concentración de estevoles de 0,167mg·ml⁻¹. En contraste, aquellas plantas irrigadas con 10Meq, mostraron una concentración de estevoles inferior (0,107mg·ml⁻¹). Las plantas irrigadas con 20 y 25Meq no mostraron diferencias estadísticas significativas (Figura 3a).

En contraste con lo ocurrido con otras variables, la presencia o ausencia del ion amonio en la solución nutritiva no modificó la concentración de estevoles en las hojas (Figura 3b). Otros reportes indican que la manipulación en los niveles de nitrógeno aplicados a plantas de estevia puede ser una herramienta de utilidad para manipular las concentraciones de glucósidos en plantas de estevia (Tavarini *et al.*, 2015). El

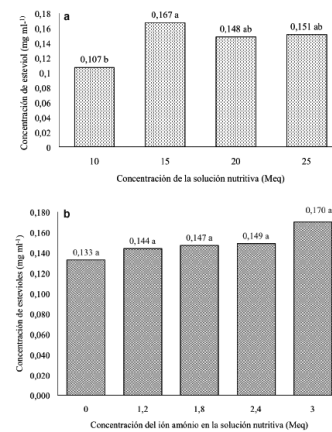


Figura 3. Concentración de esteviol en hojas de *Stevia rebaudiana* creciendo en a: soluciones nutritivas con diferente concentración de nutrientes, y b: concentraciones diferentes de amonio. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas (Tukey, $P=0,05$).

nitrógeno es un elemento esencial para las plantas y juega un papel crítico en el crecimiento de las plantas, debido a que se requiere en la síntesis de muchos compuestos como ácidos nucleicos, aminoácidos y proteínas (Lea and Morot-Gaudry, 2013).

En las plantas superiores el nitrógeno puede ser asimilado en formas inorgánicas como nitratos o amonio, o en formas orgánicas como aminoácidos, péptidos pequeños o incluso como proteínas (Näsholm *et al.*, 2009). Sin embargo, el amonio en dosis elevadas puede ser tóxico, debido a que esta forma de nitrógeno puede disipar los gradientes de protones generados en las membranas y que son necesarios para el transporte de electrones durante la fotosíntesis y respiración. Debido a lo anterior, las plantas asimilan el amonio y almacenan los excesos en la vacuola en donde es rápidamente transformado a glutamina por la acción de la enzima glutamina sintetasa (Taiz and Zeiguer, 2010), lo cual explica por un lado su toxicidad y por otro su rápida absorción.

En el presente trabajo la concentración de la solución nutritiva fue la única variable estudiada que ocasionó un incremento en la concentración de estevoles totales en las hojas; sin embargo, las concentraciones más altas de nutrientes en la solución nutritiva no fueron las que mostraron una mayor concentración de estos compuestos. En contraste, otras variables como la altura y porcentaje de cobertura de suelo (afectados por la concentración de la solución nutritiva) y el rendimiento de materia seca (afectado por la concentración del ion amonio) mostraron un comportamiento contrario al observado en la concentración de estevoles, ya que estas variables incrementaron sus valores en proporción a la cantidad de nutrientes o de amonio en la solución.

Después de la concentración de nutrientes en el medio, la etapa fenológica se considera como uno de los factores más

importantes que determinan su absorción y distribución (Azcón-Bieto y Talón, 2008). Por ello es probable que el comportamiento observado en las plántulas de estevia no sea el mismo en otras etapas de crecimiento y desarrollo de la especie.

Los glucósidos característicos de las plantas de estevia son sintetizados a partir del kaureno, por medio de la ruta del mevalonato (Hanson y White, 1968). Actualmente se sabe que el primer paso en la síntesis de los glucósidos es la conversión de piruvato y gliceraldehído 3-P en deoxycelulosa-5-phosphato (Brandle y Telmer 2007), para continuar en una serie de pasos hasta llegar al compuesto precursor (kaureno). El fenómeno anterior implica que parte del piruvato, proveniente de los carbohidratos derivados de la fotosíntesis, sea utilizado para la síntesis de estevioletos. Es posible que ante un incremento en la demanda de piruvato como consecuencia de una mayor acumulación de materia seca, la cantidad de este compuesto disponible para la síntesis de glucósidos disminuya, lo cual se vería reflejado en la concentración de estevioletos en las hojas. Esto explicaría el hecho que un incremento en la materia seca como consecuencia de una mayor concentración de nutrientes en la solución de riego, no necesariamente se traduzca en una mayor concentración de estevioletos en las hojas.

Conclusiones

La utilización del ion amonio en la solución nutritiva en plántulas de estevia representó algunas ventajas agronómicas importantes, como un incremento en el peso seco acumulado; sin embargo, el amonio a las dosis más altas que se ensayaron en este trabajo ocasionó una disminución en el peso seco de las hojas, lo cual podría indicar una intoxicación. Debido a ello, su utilización debe realizarse considerando este factor. Por otro lado, la concentración de estevioletos solo se vio incrementada en las concentraciones bajas de nutrientes en la solución. Debido a que el presente estudio se llevó a cabo en plántulas, es posible que el comportamiento aquí observado sea diferente en otras etapas fenológicas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la empresa Jatzy & Kueponi S.A de C.V. por el apoyo logístico y económico proporcionado para la realización del presente trabajo de investigación.

REFERENCIAS

Azcón-Bieto J, Talón M (2008) *Fundamentos de Fisiología Vegetal*. McGraw Hill. 651 pp.

Brandle JE, Telmer PJ (2007) Steviol glycoside biosynthesis. *Phytochemistry* 68: 1855-1863.

Ceunen S, Werbrouck S, Geuns JM (2012) Stimulation of steviol glycoside accumulation in *Stevia rebaudiana* by red LED light. *J. Plant Physiol.* 169: 749-752.

Das K, Dang R, Shivananda TN (2008) Influence of bio-fertilizers on the availability of nutrients (N, P and K) in soil in relation to growth and yield of *Stevia rebaudiana* grown in South India. *Int. J. Appl. Res. Nat. Prod.* 1: 20-24.

de Lima Filho OF, Malavolta E, de Sena JO, Carneiro J (1997) Absorção e acumulação de nutrientes em *Stevia rebaudiana* (Bert) Bertoni. II. Micronutrientes. *Sci. Agric.* 54: 1-10.

European Food Safety Authority (2010) Scientific opinion on the safety of steviol glycosides for the proposed uses as a food additive. *EFSA Journal* 8(4): 1-84.

Gonzales-Moralejo A (2011) Aproximación a la comprensión de un endulzante natural alternativo. *La stevia rebaudiana* Bertoni. *Agroalimentari.* 17(32): 57-69.

Hanson JR, White AF (1968) Studies in terpenoid biosynthesis-II: the biosynthesis of steviol. *Phytochemistry* 7: 595-597.

Jarma AJ, Combatt EM, Cleves JA (2010) Aspectos nutricionales y metabolismo de *Stevia rebaudiana* (Bertoni). Una revisión. *Agron. Col.* 28: 199-208.

Karimi M, Ahmadi A, Hashemi J, Abbasi A, Tavarini S, Guglielminetti L, Angelini LG (2015) The effect of soil moisture depletion on *Stevia (Stevia rebaudiana* Bertoni) grown in greenhouse conditions: Growth, steviol glycosides content, soluble sugars and total antioxidant capacity. *Sci. Hort.* 183: 93-99.

Lara-Herrera A (1999) Manejo de la solución nutritiva en el cultivo de tomate en hidroponía. *Terra Latinoam.* 17: 221-229.

Lea PJ, Morot-Gaudry JF (2013) *Plant Nitrogen*. Springer. Berlín, Alemania. 407 pp.

Liengme BV (2002) *A Guide to Microsoft Excel for Scientists and Engineers*. Butterworth. Oxfordshire, RU. 271 pp.

Marschner H (1995) *Mineral Nutrition of Higher Plants*. Academic Press. San Diego, CA, EEUU. 889 pp.

Mullan D, Barceló-García M (2012) Crop ground cover. Cap. 10 en Pask A, Pietragalla J, Mullan D, Reynolds M (Eds.) *Physiological Breeding II: A Field Guide To Wheat Phenotyping*. CIMMYT. México. 132 pp.

Näsholm T, Kielland K, Ganeteg U (2009) Uptake of organic nitrogen by plants. *New Phytol.* 182: 31-48.

Ramesh K, Virendra S, Megeji NW (2006) Cultivation of stevia [*Stevia rebaudiana* (Bert.)]: A comprehensive review. *Adv. Agron.* 89: 137-177.

Rashid Z, Rashid M, Inamullah S, Rasool S, Bahar FA (2013) Effect of different levels of farmyard manure and nitrogen on the yield and nitrogen uptake by stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni). *Afr. J. Agric. Res.* 8: 3941-3945.

Smill V (1997) Global population and the nitrogen cycle. *Scient. Amer.* (July): 76-81.

Steiner AA (1961) A universal Method for preparing nutrient solution of a certain desired composition. *PlantSoil* 15: 134-154.

Taiz L, Zeiguer E (2010) *Plant Physiology* (5ª ed.). Sinauer. Sunderland, MA, EEUU. 782 pp.

Tavarini S, Sgherri S, Ranieri AM, Angelini LG (2015) Effect of nitrogen fertilization and harvest time on steviol glycosides, flavonoid composition, and antioxidant properties in *Stevia rebaudiana* Bertoni. *J. Agric. Food Chem.* 63(31): 7041-7050.

Wagner H, Bladt S (1996) *Plant Drug Analysis* (2ª ed.). Springer. Munich, Alemania. 384 pp.