

ADRIANA CAROLINA GONZALEZ

UB23271SAG31576

TEMA:

STEVIA SWEETENER MICROPROPAGATED PLANTLETS APPLIED TO
EVALUATE VIGOR, GROWTH, INCREASED PHOTOSYNTHESIS AND
SURVIVAL.

Tesis Final presentada
Al Departamento Académico
De la Escuela de Ciencias e ingeniería
Para el cumplimiento Parcial de los requerimientos Académicos
Para el Programa de Grado de Bachelors in Agronomy Engineering

ATLANTIC INTERNATIONAL UNIVERSITY
HONOLULU, HAWAI
Winter 2013



Atlantic International University
A new Age for Distance Learning

TABLA DE CONTENIDOS

CAPÍTULO I - Introducción	8
1.1 – CONTEXTO.....	8
1.2 – DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA.....	9
1.3 – HIPÓTESIS DE TRABAJO.....	9
CAPITULO II – Objetivos	11
2.1 – OBJETIVO PRINCIPAL.....	11
2.2 – OBJETIVOS SECUNDARIOS.....	11
CAPITULO III – Metodología	12
3.1 – PROCEDIMIENTO.....	14
CAPÍTULO IV – Resultados y Análisis	15
4.1 - TRATAMIENTO POR ASPERSIÓN A LOS 7 DÍAS.....	15
4.1.1 –Ilustraciones Tratamiento I.....	15
4.1.2 – Ilustraciones Tratamiento II.....	16
4.1.3 – Ilustraciones Tratamiento III.....	16
4.2 – TRATAMIENTOS POR INMERSIÓN A LOS 7 DÍAS.....	17

4.2.1 – Ilustraciones Tratamiento IV.....	17
4.2.2 – Ilustraciones Tratamiento V.....	18
4.2.3 – Ilustraciones Tratamiento VI.....	18
4.3 – OBSERVACIÓN VISUAL A LOS 7 DÍAS.....	19
4.4 – TRATAMIENTOS POR ASPERSIÓN A LOS 15 DÍAS.....	19
4.4.1 – Ilustraciones Tratamiento I.....	19
4.4.2 – Ilustraciones Tratamiento II.....	20
4.4.3 – Ilustraciones Tratamiento III.....	21
4.5 –TRATAMIENTOS POR INMERSIÓN A LOS 15 DÍAS.....	21
4.5.1 – Ilustraciones Tratamiento IV.....	21
4.5.2 – Ilustraciones Tratamiento V.....	22
4.5.3 –Ilustraciones Tratamiento VI.....	23
4.6 – OBSERVACION VISUAL A LOS 15 DÍAS.....	23
4.7 – TRATAMIENTO POR ASPERSIÓN A LOS 21 DÍAS.....	24
4.7.1 – Ilustraciones Tratamiento I.....	24
4.7.2 – Ilustraciones Tratamiento II.....	25
4.7.3 – Ilustraciones Tratamiento III.....	25
4.8 – TRATAMIENTO POR INMERSIÓN 21 DÍAS.....	26
4.8.1 – Ilustraciones Tratamiento IV.....	26
4.8.2 – Ilustraciones Tratamiento V.....	27
4.8.3 – Ilustraciones Tratamiento VI.....	27
4.9 – OBSERVACIÓN VISUAL A LOS 21 DÍAS.....	29
4.10 – GRÁFICOS Y TRATAMIENTOS.....	30
4.10.1- Análisis de los Resultados por Aspersión.....	30
4.10.2 – Análisis de los Resultados por Inmersión.....	32
4.11 – GRÁFICOS TRATAMIENTOS Y CONCENTRACIONES.....	34
4.11.1 – Gráficos Comparativos.....	34

4.11.2 – TABLAS DE DATOS PROMEDIO A LOS 21 DÍAS.....	40
CAPÍTULO V – Conclusiones.....	41
CAPITULO VI – Debate General.....	44
BIBLIOGRAFÍA.....	46

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1: Condiciones del ensayo.....	13
Tabla N° 2: Concentraciones de esteviosido utilizado.....	13
Tabla N° 3: Tratamientos realizados a los esquejes.....	14
Tabla N° 4: Datos Finales individuales Aspersión-21 días.....	40
Tabla N° 5: Datos Finales individuales Inmersión- 21 días.....	41

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico N° 1: Entrenudos promedio tratamiento por aspersión.....	30
Gráfico N° 2: Altura promedio tratamiento por aspersión.....	31
Gráfico N° 3: Supervivencia promedio tratamientos por aspersión.....	32
Gráfico N° 4: Entrenudos promedio tratamientos por inmersión.....	32
Gráfico N° 5: Altura promedio tratamientos por inmersión.....	33
Gráfico N° 6: Supervivencia promedio tratamientos por inmersión.....	34
Gráfico N° 7: Entrenudos promedio comparativo tratamientos I y IV.....	35
Gráfico N° 8: Entrenudos promedio comparativo tratamientos II y V.....	35
Gráfico N° 9: Entrenudos promedio comparativo tratamientos III y VI.....	36
Gráfico N° 10: Altura promedio comparativo tratamientos I y IV.....	36
Gráfico N° 11: Altura promedio comparativo tratamientos II y V.....	37
Gráfico N° 12: Altura promedio comparativo tratamientos III y VI.....	37
Gráfico N° 13: Supervivencia promedio comparativo tratamientos I y IV...38	
Gráfico N° 14: Supervivencia promedio comparativo tratamientos II y V...39	
Gráfico N° 15: Supervivencia promedio comparativo tratamientos III y VI.39	

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Plántulas a los 7 días

Ilustración N° 1: Tratamiento I, Testigo.....	15
Ilustración N° 2: Tratamiento I, R.1.....	15
Ilustración N° 3: Tratamiento I, R.2.....	15

Ilustración N° 4: Tratamiento I, R.3.....	15
Ilustración N° 5: Tratamiento II, Testigo.....	16
Ilustración N° 6: Tratamiento II, R.1.....	16
Ilustración N° 7: Tratamiento II, R.2.....	16
Ilustración N° 8: Tratamiento II, R.2.....	16
Ilustración N° 9: Tratamiento III, Testigo.....	16
Ilustración N° 10: Tratamiento III, R.1.....	16
Ilustración N° 11: Tratamiento III, R.2.....	17
Ilustración N° 12: Tratamiento III, R.3.....	17
Ilustración N° 13: Tratamiento IV, Testigo.....	17
Ilustración N° 14: Tratamiento IV, R.1.....	17
Ilustración N° 15: Tratamiento IV, R.2.....	17
Ilustración N° 16: Tratamiento IV, R.3.....	17
Ilustración N° 17: Tratamiento V, Testigo.....	18
Ilustración N° 18: Tratamiento V, R.1.....	18
Ilustración N° 19: Tratamiento V, R.2.....	18
Ilustración N° 20: Tratamiento V, R.3.....	18
Ilustración N° 21: Tratamiento VI, Testigo.....	18
Ilustración N° 22: Tratamiento VI, R.1.....	18
Ilustración N° 23: Tratamiento VI, R.2.....	19
Ilustración N° 24: Tratamiento VI, R.3.....	19

Plántulas a los 15 Días

Ilustración N° 25: Tratamiento I, Testigo.....	19
Ilustración N° 26: Tratamiento I, R.1.....	19
Ilustración N° 27: Tratamiento I, R.2.....	20
Ilustración N° 28: Tratamiento I, R.3.....	20
Ilustración N° 29: Tratamiento II, Testigo.....	20
Ilustración N° 30: Tratamiento II, R.1.....	20
Ilustración N° 31: Tratamiento II, R.2.....	20
Ilustración N° 32: Tratamiento II, R.3.....	20
Ilustración N° 33: Tratamiento III, Testigo.....	21
Ilustración N° 34: Tratamiento III, R.1.....	21

Ilustración N° 35: Tratamiento III, R.2.....	21
Ilustración N° 36: Tratamiento III, R.3.....	21
Ilustración N° 37: Tratamiento IV, Testigo.....	21
Ilustración N° 38: Tratamiento IV, R.1.....	21
Ilustración N° 39: Tratamiento IV, R.2.....	22
Ilustración N° 40: Tratamiento IV, R.3.....	22
Ilustración N° 41: Tratamiento V, Testigo.....	22
Ilustración N° 42: Tratamiento V, R.1.....	22
Ilustración N° 43: Tratamiento V, R.2.....	22
Ilustración N° 44: Tratamiento V, R.3.....	22
Ilustración N° 45: Tratamiento VI, Testigo.....	23
Ilustración N° 46: Tratamiento VI, R.1.....	23
Ilustración N° 47: Tratamiento VI, R.2.....	23
Ilustración N° 48: Tratamiento VI, R.3.....	23

Plántulas a los 21 días

Ilustración N° 49: Tratamiento I, Testigo.....	24
Ilustración N° 50: Tratamiento I, R.1.....	24
Ilustración N° 51: Tratamiento I, R.2.....	24
Ilustración N° 52: Tratamiento I, R.3.....	24
Ilustración N° 53: Tratamiento II, Testigo.....	25
Ilustración N° 54: Tratamiento II, R.1.....	25
Ilustración N° 55: Tratamiento II, R.2.....	25
Ilustración N° 56: Tratamiento II, R.3.....	25
Ilustración N° 57: Tratamiento III, Testigo.....	25
Ilustración N° 58: Tratamiento III, R.1.....	25
Ilustración N° 59: Tratamiento III, R.2.....	26
Ilustración N° 60: Tratamiento III, R.3.....	26
Ilustración N° 61: Tratamiento IV, Testigo.....	26
Ilustración N° 62: Tratamiento IV, R.1.....	26
Ilustración N° 63: Tratamiento IV, R.3.....	26
Ilustración N° 64: Tratamiento V, Testigo.....	27
Ilustración N° 65: Tratamiento V, R.1.....	27
Ilustración N° 66: Tratamiento V, R.2.....	27

Ilustración N° 67: Tratamiento V, R.3.....	27
Ilustración N° 68: Tratamiento VI, Testigo.....	27
Ilustración N° 69: Tratamiento VI, R.1.....	27
Ilustración N° 70: Tratamiento VI, R.2.....	28
Ilustración N° 71: Tratamiento VI, R.3.....	28

Hojas, Esquejes y Raíces

Ilustración N° 72: Hojas testigos, T.II.....	28
Ilustración N° 73: Hojas, T.II 21 días.....	28
Ilustración N° 74: Esquejes, testigo.....	29
Ilustración N° 75: Esquejes T.III, 21 días.....	29
Ilustración N° 76: Desarrollo radicular de la caja testigo T.I 21 días..	29
Ilustración N° 77: Desarrollo radicular T.I, (R.2)- 21 días.....	29

Plántulas en rusticación

Ilustración N° 78: plántulas de orégano (sin tratamientos) durante la rusticación. Mayo 2013.....	43
Ilustración N° 79, plántulas de orégano que recibieron Tratamientos con esteviosidio. Mayo 2013.....	43

CAPITULO I

INTRODUCCIÓN

1.1 CONTEXTO

La presente investigación se llevó a cabo en la Escuela Agrotécnica Nro. 1 “Nicolás Repetto” de Laguna de los Padres - Mar del Plata - Provincia de Buenos Aires- Argentina. La ciudad está ubicada en el sudeste bonaerense y tiene un clima oceánico, templado, con inviernos fríos.

En la mencionada Escuela se encuentra una Unidad de Propagación Acelerada de especies vegetales con interés alimentario y no alimentario para la población en situación de vulnerabilidad social, en el marco del Convenio de Cooperación entre el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA)-Programa Pro Huerta y la Escuela Agrotécnica.

El INTA (a través del Programa Pro Huerta) provee asistencia técnica formación y transferencia de tecnología a pequeños productores, agricultores familiares, centros comunitarios, escolares y penales, buscando la inserción social y favoreciendo la especialización laboral de jóvenes y trabajadores rurales; promoviendo las huertas familiares agroecológicas, la innovación en los procesos organizativos y el fortalecimiento del capital social para la seguridad alimentaria, como así también fomentar la diversidad predial incluyendo especies aromáticas y medicinales (POA, 2011).

La Escuela recibe la capacitación del alumnado en la Técnica de Multiplicación Acelerada, y dentro del marco de calidad educativa, el desarrollo de actividades pedagógicas que permitan fortalecer los conocimientos allí brindados tanto en lo técnico como en lo organizativo.

1.2 - DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

En la Unidad de Propagación Acelerada, hasta el momento, se está trabajando con las siguientes especies vegetales:

- *Stevia rebaudiana* (yerba dulce o Kaá Heé)
- *Thymus vulgaris* (tomillo),
- *Origanum vulgare* L. (orégano)
- *Artemisia dracunculus* (estragón)
- *Salvia officinalis* (salvia)

Las especies propagadas deben llegar a la población objetivo en óptimas condiciones de vigor, sanidad y adaptación, y que a la vez la Escuela obtenga un excedente de plantas como un recurso económico.

Mediante la Técnica de Multiplicación Acelerada (TMA) se obtienen rápidamente gran cantidad de plántulas en todas las especies, los tiempos difieren según la especie a propagar y en general no hay problemas sanitarios. Ésta técnica lleva mediante un proceso en condiciones controladas, a los esquejes de plantas adultas a un estado de juvenilidad, una vez logrado esto, comienza la propagación hasta obtener la cantidad de plántulas deseadas. Luego se las lleva nuevamente a un estado adulto mediante la rusticación para luego ser distribuidas.

1.3 Hipótesis de Trabajo

Una vez que las plántulas tienen los cortes necesarios o se ven envejecidas, las mismas se trasplantan en bandejas con turba u otro sustrato que se elija. El proceso normal sería llevar las bandejas a un invernáculo con control de temperatura, protegido del viento y con suplemento de luz (en lo posible). Muchas especies soportan lo contrario, pero la *Stevia rebaudiana*, al ser un cultivo subtropical, no lo tolera, y por lo tanto se deben acondicionar espacios cerrados, con luz y temperatura adecuada, para llevar las bandejas y hacer el

seguimiento hasta que estén robustas y aclimatadas para llevarlas al exterior. Aun así, el proceso no es tan rápido y varias de las especies no se desarrollan lo suficiente durante este período generando mortandad y pérdidas por falta de vigor.

Por lo tanto es importante que las plántulas posean tallos gruesos, excelente área foliar, vigor y un buen estado sanitario durante el proceso de rusticación y antes de ser entregadas.

Ante la necesidad de solucionar o mejorar este problema surge la hipótesis de que mediante la aplicación del extracto comercial (edulcorante) de *Stevia* a los esquejes micropropagados se podría aumentar la sobrevivencia, el vigor y estimular la fotosíntesis, obteniendo mejor calidad de plántulas.

El trabajo de investigación realizado por Sorol de Amarilla (1996), sobre el efecto del esteviosido en la germinación de semillas, basado en trabajos de Katsumi et al. (1964) quien mediante pruebas biológicas pudo comprobar el efecto del esteviosido en la estimulación del crecimiento y de Komai et al. (1985) sobre el efecto giberélico del mismo dado que el esteviosido posee una molécula similar a las giberelinas, resultó una base muy interesante para explorar y llevar a cabo este trabajo.

Con anterioridad, se pudo observar, (aunque no medir), mayor vigor, área foliar y mejor crecimiento en plántulas de varias especies que fueron micropropagadas, y, en algunos casos, una recuperación total de plántulas que estaban en malas condiciones (por diversas causas), utilizando edulcorante de *Stevia*, en la solución de riego, ante la imposibilidad de utilizar el extracto natural tal como lo aconseja Alonso (2007).

La *Stevia rebaudiana* es un cultivo de zonas subtropicales y con condiciones climáticas que no son las que existen en Sudeste Bonaerense de Argentina donde se lleva a cabo la investigación. Si bien el clima es templado, los inviernos son muy fríos por lo cual no es zona productora.

Por lo tanto, es dificultoso y costoso el acceso al material vegetal (hojas secas, tallos molidos y otros subproductos del cultivo) para realizar el extracto natural de *Stevia*, razón por lo cual se decide utilizar el edulcorante (extracto acuoso comercial) para realizar el presente trabajo. Éste es fácil de conseguir en el mercado, su costo es (comparativamente) bajo y la concentración de esteviosido alta hace que puedan llevarse a cabo diluciones.

CAPITULO II

OBJETIVOS

2.1- OBJETIVO PRINCIPAL

En el presente trabajo de investigación se llevarán a cabo varios ensayos, con extracto líquido de uso doméstico, (*Stevia*, marca comercial *Dulri*) para observar el efecto en los esquejes micropropagados por el sistema TMA, encontrar la concentración y el tratamiento adecuado y comparar el vigor, crecimiento y cantidad de entrenudos de las plántulas.

Evaluar si el uso de edulcorante *Stevia* comercial puede reemplazar al extracto natural de *Stevia*.

2.2 – OBJETIVOS SECUNDARIOS

Continuar con ensayos utilizando el edulcorante comercial:

- Durante la rusticación, para aumentar vigor y área foliar.
- Para incrementar la geminación de semillas.
- Para el enraizamiento en los estaqueros.

El extracto natural de *Stevia* es utilizado en agricultura como activador de raíces, desinfectante del suelo, mejorador de los cultivos hortícolas y frutícolas, pulverizando con el extracto de *Stevia* la parte aérea se estimula el proceso fotosintético, mejora las propiedades organolépticas, aumenta el

contenido de azúcares y evita la oxidación post cosecha, Real et al. (2012). Todo esto hace de este cultivo un objetivo interesante para investigar y profundizar en otras formas de utilización y a otras escalas. De acuerdo a los resultados que se obtengan, sería una alternativa para los pequeños agricultores y toda la población objetivo de la región el uso, a pequeña escala, del edulcorante comercial.

CAPITULO III

METODOLOGÍA

Para realizar la experiencia se eligió la especie *Origanum vulgare L.* (orégano) ya que la misma es la que muestra mayores problemas de vigor en la rusticación y durante el proceso de propagación se presenta ahilada, de tallos muy delgados y frágiles y deficiente área foliar. Aunque durante de la propagación se obtienen mucha cantidad de plántulas en poco tiempo, la rusticación es difícil y las pérdidas son muchas durante el proceso, obteniendo además, plántulas muy débiles, altas pero con hojas pequeñas y poco desarrollo radicular.

Los esquejes madres fueron obtenidos del invernáculo de la Escuela a fines de diciembre de 2012. Estos fueron plantados en cajitas de polipropileno que contenían sustrato mezcla 25% turba y 75% vermiculita, fueron regados con solución nutritiva hidropónica concentrada y se ubicaron al azar en estanterías con luces fluorescentes de 40 W, a una temperatura de 24°C/26°C y fotoperiodo de 16 horas luz.

Los mismos se multiplicaron durante dos meses en una primera etapa y en una segunda etapa, cuando los esquejes tenían una condición juvenil, se cortaron y plantaron nuevamente del mismo modo, hasta obtener la cantidad de esquejes necesarios para realizar el trabajo en el mes de abril de 2013.

Los esquejes apicales de estas plántulas fueron los utilizados para los ensayos.

Se realizaron 6 ensayos con 3 repeticiones y 6 controles, utilizando edulcorante de *Stevia* con un concentrado de esteviosido al 7% (como solución madre) y realizando diluciones al 1%, 5%, 10%. Se trataron los esquejes por Aspersión y por Inmersión. En la **Tabla N°1**, muestra los materiales y las condiciones del ensayo.

Tabla N° 1: Condiciones del ensayo

Material Vegetal	360 esquejes apicales de <i>Origanum vulgare</i>
Contenedores	Cajitas plásticas descartables de tapa transparente.
Medio Nutritivo	Soluciones Hidropónicas a base de sales de ferirriego (macro y micro nutrientes). Sin hormonas ni reguladores de crecimiento. Se ajustó el pH a 6
Sustrato	25% Turba – 75% Vermiculita
<i>Stevia Dulci</i> Tratamientos Inmersión/ Aspersión	Solución madre: Concentración de Esteviosido 7% (7mg/100ml)
Condiciones de los ensayos	Temperatura entre 24°C/26°C. Los contenedores se ubicaron al azar en estantería con tubos fluorescentes de 40W y con un foto período de 16 horas de luz

Los esquejes obtenidos fueron tratados antes de la plantación con soluciones diluidas del extracto edulcorante comercial con una concentración de esteviosido del 7% p/v, (7mg/100ml). Las distintas concentraciones utilizadas en los tratamientos se muestran en la **Tabla n°2**.

Tabla N° 2: Concentraciones de esteviosido utilizado para los tratamientos

Concentraciones utilizadas	
T I 1%	0,07 mg/100ml
T II 5%	0,35 mg/100ml
T III 10%	0,7 mg/100ml
T IV 1%	0,07 mg/100ml
T V 5%	0,35 mg/100ml
T VI 10%	0,7 mg/100ml

Los esquejes apicales obtenidos de las plantas madres fueron tratados por Aspersión y por Inmersión, la **Tabla N° 3** muestra los tratamientos.

Tabla N° 3 – *Tratamientos realizados a los esquejes*

Tratamientos Realizados			
Aspersión	Trat. I	Trat. II	Trat. III
Inmersión	Trat. IV	Trat. V	Trat. VI

Se plantaron 20 esquejes por caja y se tomaron datos a los 7 días, 15 días y 21 días de los siguientes parámetros:

- Cantidad Promedio de Entrenudos
- Altura Promedio en Centímetros
- Porcentaje de Supervivencia

3.1 - PROCEDIMIENTO

Se cortaron los esquejes apicales de las plántulas madres:

Para los tratamientos I, II y III fueron asperjados con solución de esteviosidio procedente de la solución madre: al 1% para el tratamiento I, al 5% para tratamiento II y al 10% para el tratamiento III. Se dejaron escurrir unos segundos y se plantaron 20 esquejes por caja totalmente al azar, realizando bloques con tres repeticiones y el testigo.

Para los tratamientos IV, V y VI, se sumergieron unos minutos en las soluciones mencionadas: tratamiento IV al 1%, tratamiento V al 5% y tratamiento VI al 10%., se escurrieron y se plantaron a razón de 20 esquejes por caja, totalmente al azar y en bloques por tratamiento con tres repeticiones y el testigo.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y ANALISIS

4.1 – TRATAMIENTOS POR ASPERSIÓN 7 DÍAS

4.1.1- Ilustraciones Tratamiento I

A los 7 días de plantados los esquejes, se tomaron los primeros datos observando el comportamiento de los que recibieron tratamientos y de los testigos. En las siguientes Ilustraciones se pueden observar las plántulas a los 7 días.



Ilustración N° 1: T I, Testigo



Ilustración N° 2: T I, R.1



Ilustración N° 3: T I, R.2



Ilustración N° 4: T I, R.3

4.1.2–Ilustraciones Tratamiento II



Ilustración N° 5: T II, Testigo



Ilustración N° 6: T II, R 1



Ilustración N° 7: T II, R 2



Ilustración N° 8: T II, R 3

4.1.3 – Ilustraciones Tratamiento III



Ilustración N° 9: T III, Testigo



Ilustración N° 10: T III, R 1



Ilustración N° 11: T III, R 2



Ilustración N° 12: TIII, R3

4.2 – TRATAMIENTO POR INMERSIÓN 7 DÍAS

4.2.1- Ilustraciones Tratamiento IV



Ilustración N° 13: T IV, Testigo



Ilustración N° 14: T IV, R 1



Ilustración N° 15: T IV, R 2



Ilustración N° 16: T IV, R 3

4.2.2 - Ilustraciones Tratamiento V



Ilustración N° 17: T V, Testigo



Ilustración N° 18: T V, R 1



Ilustración N° 19: T V, R2

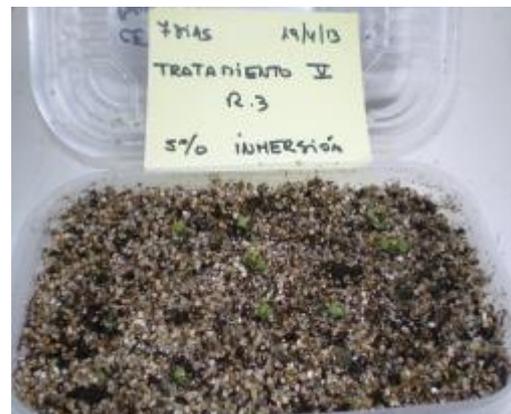


Ilustración N° 20: TV, R3

4.2.3 – Ilustraciones Tratamiento VI



Ilustración N° 21: TVI, Testigo



Ilustración N° 22: T VI, R 1



Ilustración N° 23: T VI, 2



Ilustración N° 24: T VI, R3

4.3 –OBSERVACIÓN VISUAL A LOS 7 DÍAS

A los 7 días desde la plantación se pudo observar que los esquejes tratados por Aspersión: Tratamientos I, II y III, en relación con los tratados por Inmersión: Tratamientos IV, V y VI, presentan: mayor supervivencia, mayor vigor y crecimiento y mayor porcentaje de enraizamiento.

Sin embargo esto parece disminuir a medida que aumenta la concentración de esteviosido (tratamientos al 10%), tratamientos III por aspersión y tratamiento VI por inmersión.

En los tratamientos por inmersión ya se observan pérdidas y pobre enraizamiento, salvo la repetición 3 del tratamiento VI.

4.4 –TRATAMIENTOS POR ASPERSIÓN-15 DÍAS

4.4.1 - Ilustraciones Tratamiento I



Ilustración N° 25: T I, Testigo



Ilustración N° 26: T I, R 1



Ilustración N° 27: T I, R 2



Ilustración N° 28: T I, R 3

4.4.2 –Ilustraciones Tratamiento II



Ilustración N° 29: T II, Testigo



Ilustración N° 30: T II, R 1



Ilustración N° 31: T II, R 2



Ilustración N° 32: T II, R 3

4.4.3– Ilustraciones Tratamiento III



Ilustración N° 33: TIII, Testigo



Ilustración N° 34: T III, R 1



Ilustración N° 35: T III, R 2



Ilustración N° 36: T III, R 3

4.5 – TRATAMIENTOS POR INMERSIÓN 15 DÍAS

4.5.1– Ilustraciones Tratamiento IV



Ilustración N° 37: T IV, Testigo



Ilustración N° 38: T IV, R1



Ilustración N° 39: T IV, R 2



Ilustración N° 40: T IV, R 3

4.5.2 –Ilustraciones Tratamiento V



Ilustración N° 41: T V, Testigo



Ilustración N° 42: T V, R 1



Ilustración N° 43: TV, R 2



Ilustración N° 44: T V, R 3

4.5.3 –Ilustraciones Tratamiento VI



Ilustración N° 45: TVI, Testigo



Ilustración N° 46: T VI, R1



Ilustración N° 47: T VI, R2



Ilustración N° 48: T VI, R3

4.6 – OBSERVACIÓN VISUAL A LOS 15 DÍAS

A los 15 días desde la plantación, todas las plántulas habían enraizado. En los tratamientos I, II, III, hubo en general, un mayor crecimiento, cantidad de entrenudos y supervivencia. En el tratamiento III (10% de esteviosido) se pudo observar entrenudos más largos pero en menor cantidad aunque en altura tal vez superaron a los tratamientos I y II, incluso a los testigos. Pudo observarse también, que a esta concentración de esteviosido, hubo una activación de las yemas axilares, con brotes muy débiles y hojas más

pequeñas. Este efecto no es deseado para la TMA ya que son necesarias una buena área foliar y tallos gruesos.

En los tratamientos por inmersión pudo observarse gran cantidad de pérdidas, el porcentaje de supervivencia fue bajo, la sanidad pobre y la calidad de las plántulas mala, este efecto ya era notorio a los 7 días y se fue incrementando. En algunas repeticiones hubo una pérdida total de plántulas.

4.7 – TRATAMIENTOS POR ASPERSIÓN 21 DÍAS

4.7.1 – Ilustraciones Tratamiento I



Ilustración N° 49: T I, Testigo



Ilustración N° 50: T I, R 1



Ilustración N° 51: T I, R 2



Ilustración N° 52: T I, R 3

4.7.2– Ilustraciones Tratamiento II



Ilustración N° 53: T II, Testigo



Ilustración N° 54: T II, R 1



Ilustración N° 55: T II, R 2



Ilustración N° 56: T II, R 3

4.7.3 –Ilustraciones Tratamiento III



Ilustración N° 57: T III, Testigo



Ilustración N° 58: T III, R1



Ilustración N° 59: T III, R2



Ilustración N° 60: T III, R 3

4.8– TRATAMIENTOS POR INMERSIÓN 21 DÍAS

4.8.1 –Ilustraciones Tratamiento IV



Ilustración N° 61: T IV, Testigo



Ilustración N° 62: T IV, R 1



Ilustración N° 63: T IV, R 3

NOTA: La caja del T.IV, repetición 2, fue descartada por mortandad total de las plántulas.

4.8.2 – Ilustraciones Tratamiento V



Ilustración N° 64: T V, Testigo



Ilustración N° 65: TV, R1



Ilustración N° 66: T V, R2



Ilustración N° 67: T V, R3

4.8.3 – Ilustraciones Tratamiento VI



Ilustración N° 68: T VI, Testigo



Ilustración N° 69: TVI, R1



Ilustración N° 70: T VI, R 2



Ilustración N° 71: T VI, R 3

4.9 – OBSERVACIÓN VISUAL A LOS 21 DÍAS

Una vez concluida la toma de datos a los 21 días de comenzado el ensayo, pudo observarse una mejor respuesta en todos los tratamientos por aspersión. Casi todas las repeticiones del tratamiento I y II, superaron a los testigos en calidad de hojas (Ilustraciones N° 72 y N° 73, N° 74 y N° 75), altura y cantidad de entrenudos, también mayor supervivencia. En el tratamiento III (10% de esteviosidio) hubo más pérdidas de plántulas y se incrementó la activación de las yemas axilares, con brotes muy débiles y ahilados. Los entrenudos en este tratamiento fueron más largos y delgados. Las concentraciones menores incrementaron, visualmente, la calidad de las plántulas, el tamaño de hojas y aunque no se tomaron datos sobre cantidad y calidad de las raíces, se observó un mejor desarrollo radicular en comparación con los testigos. Esto puede verse a modo de ejemplo, en las Ilustraciones N° 76 y N° 77.



Ilustración N° 72: hojas testigos, T.II



Ilustración N° 73: hojas, T.II 21 días



Ilustración N° 74: esquejes testigo



Ilustración N° 75: esquejes T.III, 21 días



Ilustración N° 76: desarrollo radicular de la caja testigo T.I 21 días



Ilustración N° 77: desarrollo radicular T.I, (R.2)- 21 días

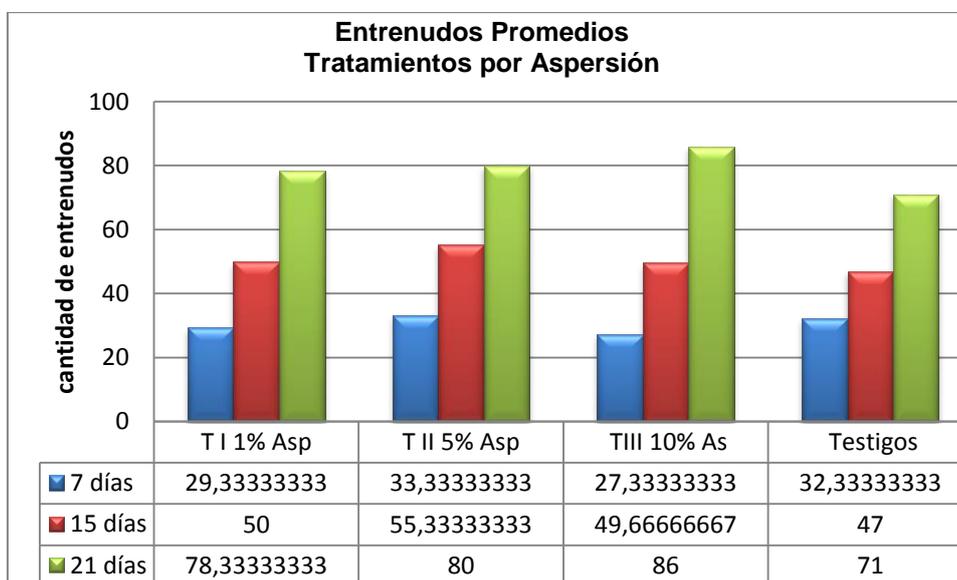
En los tratamientos por inmersión: T.IV, T.V y T.VI, se pudo ver una pobre respuesta a los tratamientos, en todas las concentraciones de esteviosidio, aunque la repetición 3 del tratamiento IV fue la que tuvo mejor respuesta. Se debe mencionar que en todos los tratamientos por inmersión los testigos también tuvieron muchas pérdidas y mala calidad de plántulas.

4.10 - GRAFICOS POR TRATAMIENTOS

4.10.1 – Análisis de los resultados por Aspersión

Los datos obtenidos en las tres fechas fueron graficados por tratamientos y por concentraciones. En el **Gráfico N° 1** pueden verse los datos promedios de cantidad de entrenudos, para los 7, 15, y 21 días en tratamientos por aspersión. Los datos son promedios 60 plántulas por tratamiento.

Gráfico N° 1



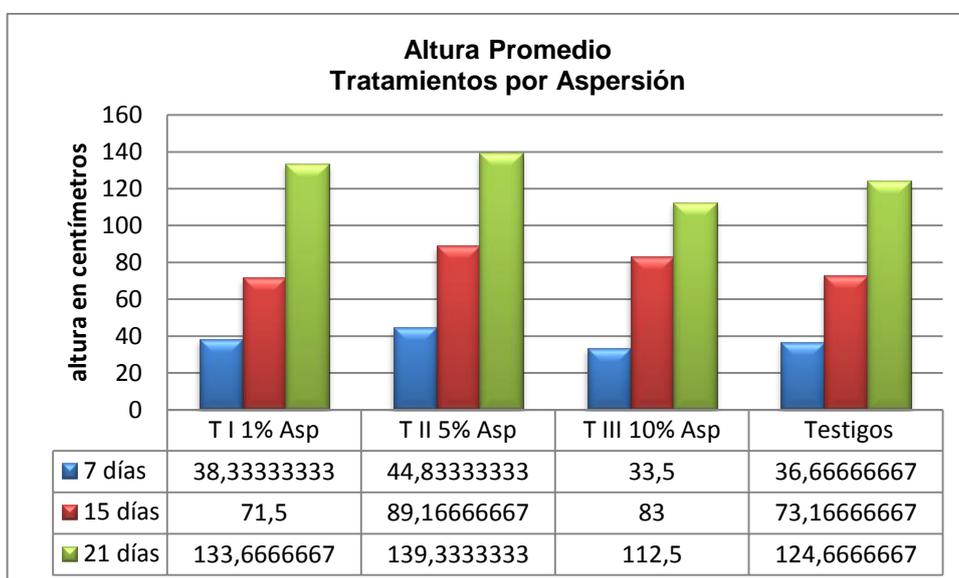
A los 7 días y a los 15 días, el tratamiento II, supera en cantidad de entrenudos a los testigos y a los tratamientos I y III, pero a los 21 días el tratamiento III supera a todos los tratamientos y testigos. Sin embargo, visualmente, como ya se mencionó, la calidad de los entrenudos en el T.III fue pobre, de hojas pequeñas y una activación de las yemas axilares.

Pareciera que a mayores concentraciones de esteviosido se rompiera la dominancia apical y tuviera un efecto hormonal mayor. Esto también fue observado por Sorol de Amarilla, (1996) quien determinó también que una concentración alta de esteviosido tiene un efecto inhibitor.

Al cabo de 21 días, todos los tratamientos por aspersión superaron en cantidad de entrenudos a los testigos.

En el **Gráfico N° 2**, se puede observar el crecimiento promedio en centímetros, sobre 60 plántulas en los tratamientos por aspersión.

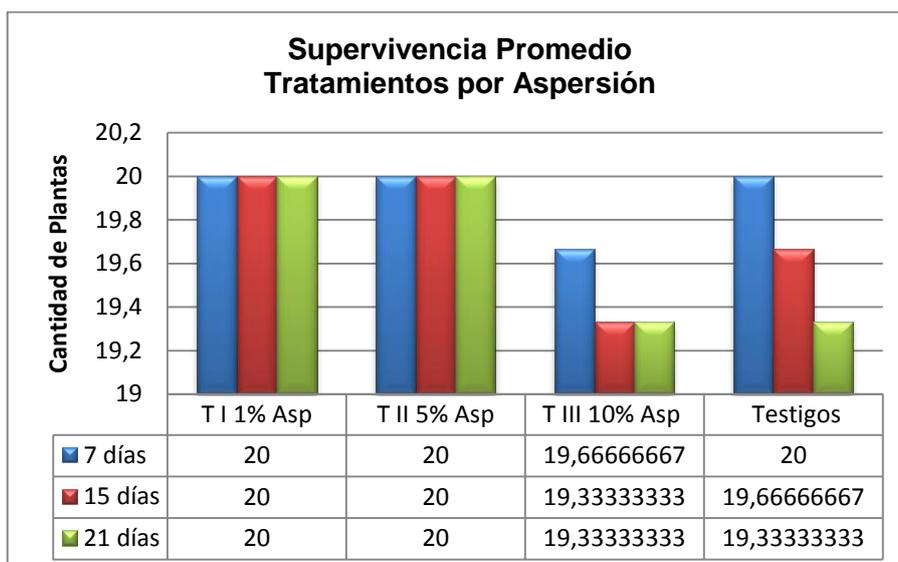
Gráfico N° 2



Los tratamientos I y II, superan en altura a los testigos al cabo de 7 días, a los 15 días es más variable pero al finalizar el ensayo a los 21 días estos tratamientos superaron en crecimiento promedio a los testigos. El tratamiento III, fue el que tuvo menor crecimiento promedio.

En el **Gráfico N° 3**, se puede observar el porcentaje de supervivencia promedio sobre 60 plántulas iniciales por tratamientos.

Gráfico N° 3

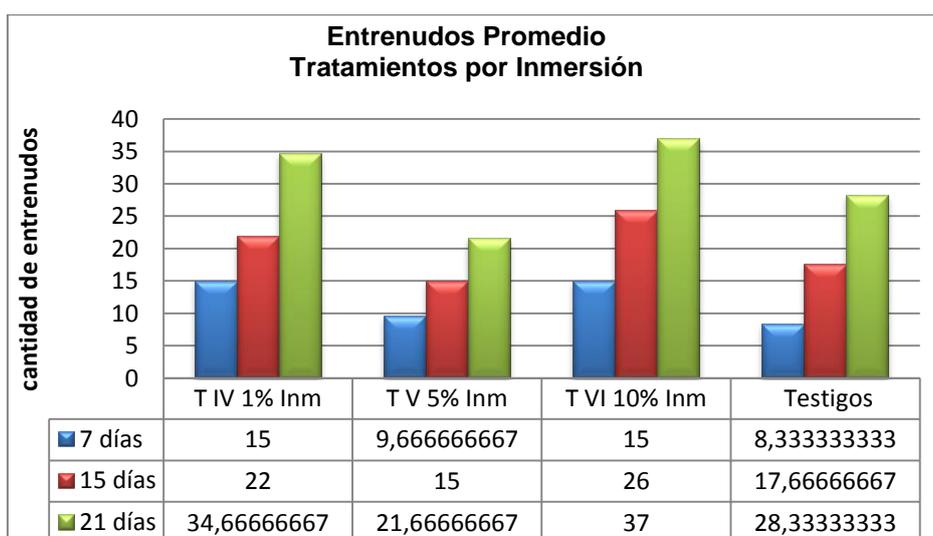


Los tratamientos I y II, superan al tratamiento III y a los testigos con una tasa de supervivencia del 100%.

4.10.2 – Análisis de los resultados por Inmersión

En el **Gráfico N° 4**, se puede ver la cantidad de entrenudos promedio en los tratamientos por inmersión.

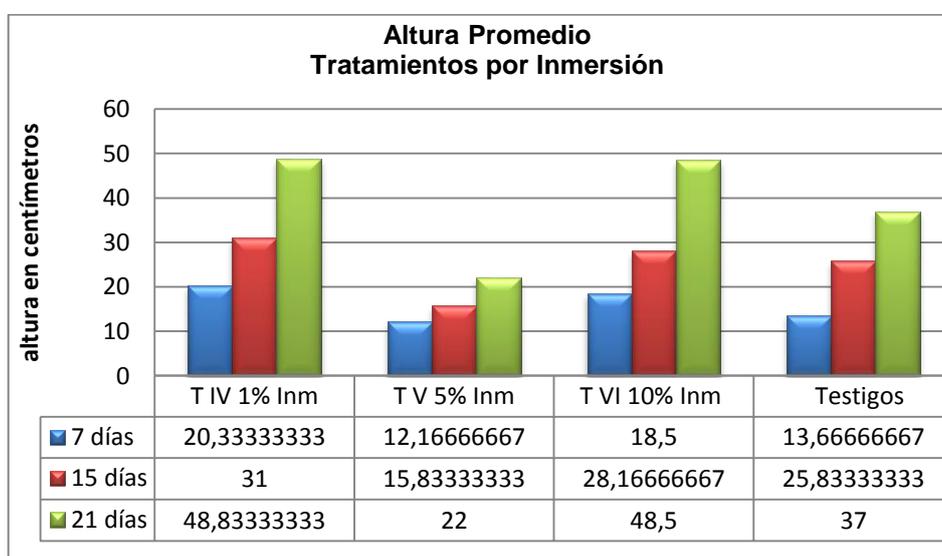
Gráfico N°4



Aunque, como se mencionó, visualmente los tratamientos por inmersión no dieron buenos resultados, los tres tratamientos, IV, V y VI, superaron en cantidad promedio de entrenudos a los testigos. Al cabo de 21 días, el T.VI obtuvo mayor cantidad.

En el **Gráfico N° 5**, se muestra el crecimiento promedio en centímetros, de 60 plántulas, en los tratamientos por inmersión.

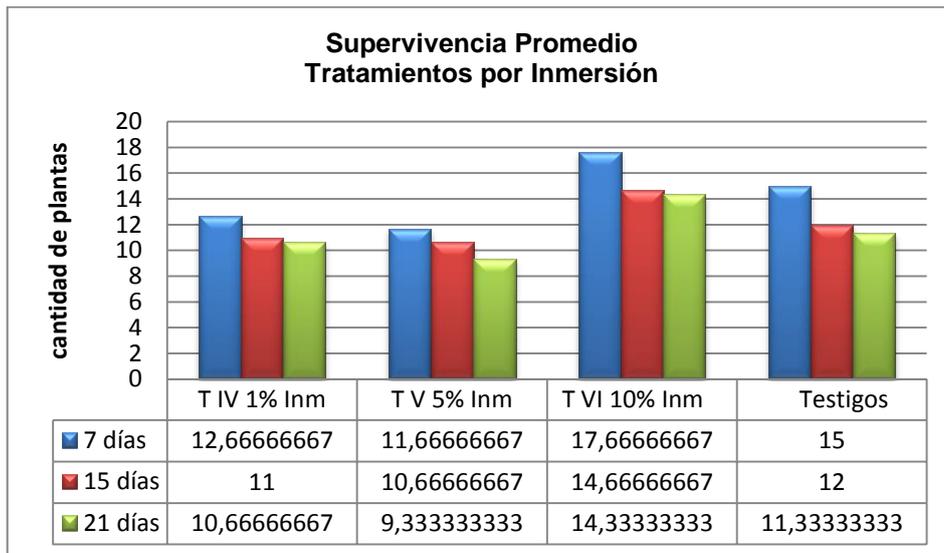
Gráfico N°5



Los tratamientos IV y VI son los que mostraron mayor crecimiento con relación a los testigos. Estos son datos promedio sobre las plántulas que sobrevivieron.

En el **Gráfico N° 6**, se observa la tasa de supervivencia en todos los tratamientos por inmersión sobre 60 plántulas iniciales.

Gráfico N° 6



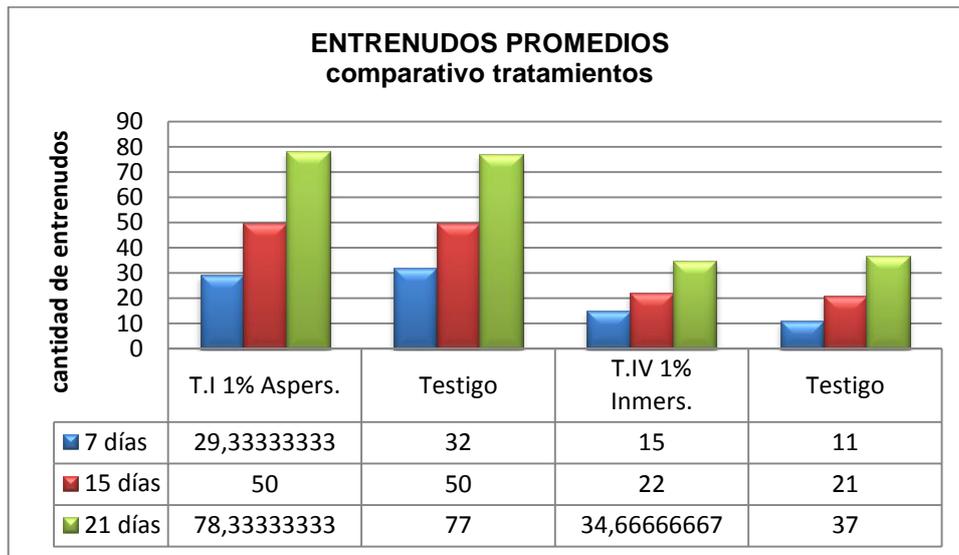
Al cabo de 21 días, al finalizar el ensayo, ninguno de los tratamientos por inmersión sobrevivió el 100%. El tratamiento VI, obtuvo en promedio un 71,65% del total de las plántulas. Los tratamientos IV, V y los testigos llegan al 50%, menor en el T.V y apenas un poco más en los testigos.

4.11 - GRAFICOS TRATAMIENTOS Y CONCENTRACIONES

4.11.1 – Gráficos comparativos

En el **Gráfico N° 7**, se cruzan datos de cantidad de entrenudos promedios entre los tratamientos: aspersión (T.I) e inmersión (T.IV), con las mismas concentraciones de esteviosido, 1%.

Gráfico N° 7

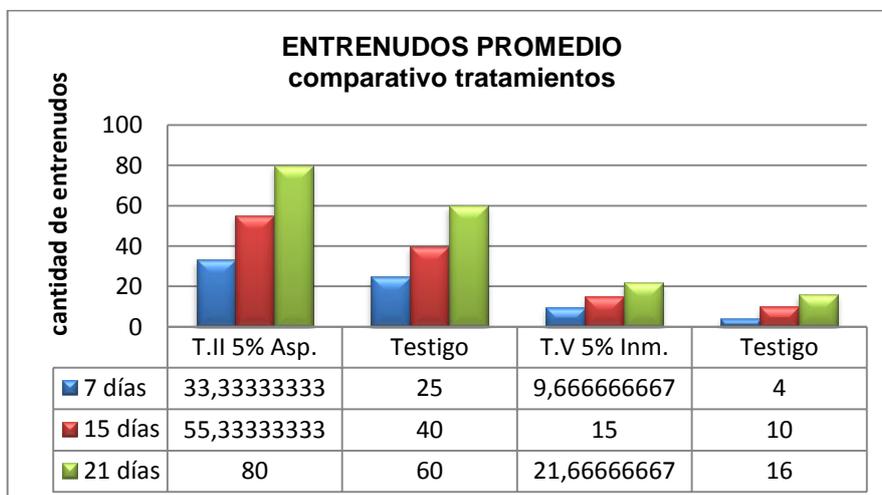


En este gráfico se puede observar que a iguales concentraciones de estevósido, los mejores resultados se dan en el tratamiento por aspersión (T.I), pero no supera significativamente, en cuanto a la cantidad de entrenados, al testigo, sólo levemente al cabo de 21 días.

En el tratamiento por inmersión (T.IV), supera levemente al testigo en cantidad de entrenados.

En el **Gráfico N° 8**, se cruzan datos de cantidad de entrenados promedios entre los tratamientos: aspersión (T.II) e inmersión (T.V), con las mismas concentraciones de estevósido (5%).

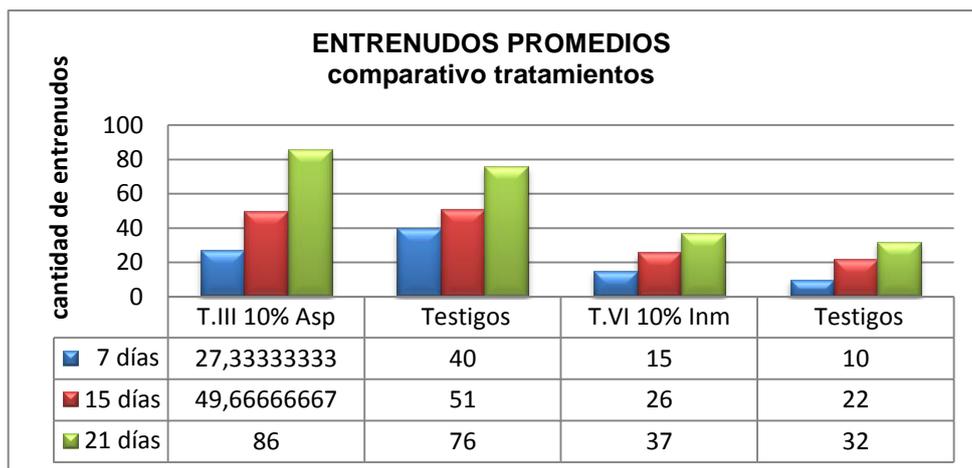
Gráfico N° 8



En el gráfico se observa que el tratamiento II, al 5% de esteviosidio, da los mejores resultados en las tres fechas de toma de datos superando a los tratamientos por inmersión y a los testigos.

En el **Gráfico N° 9**, se cruzan datos de entrenudos promedio entre los tratamientos III (aspersión) y VI (inmersión), concentración de esteviosidio al 10%.

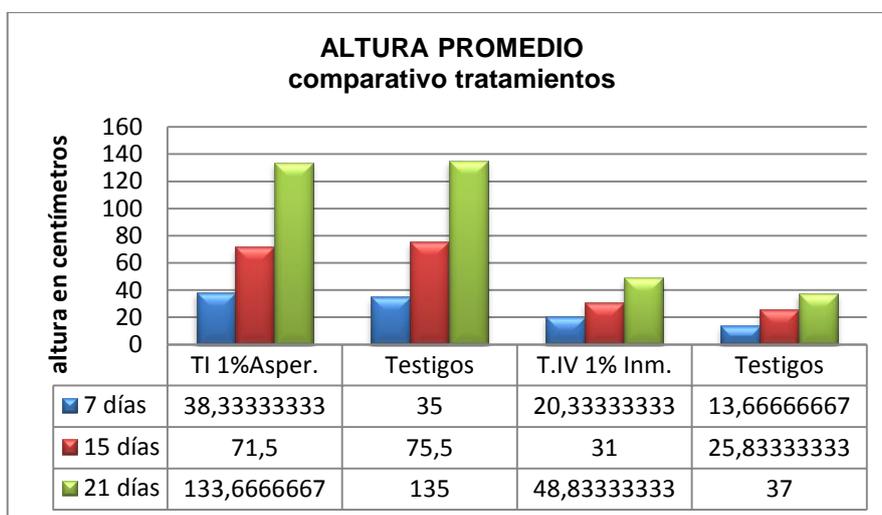
Gráfico 9



El tratamiento III con una concentración de esteviosidio al 10% aplicado por aspersión, superó comparativamente al tratamiento por inmersión con la misma concentración y a los testigos al cabo de 21 días.

En el **Gráfico N° 10**, se cruzan datos de cantidad de crecimiento promedio entre los tratamientos: aspersión (T.I) e inmersión (T.IV), con las mismas concentraciones de esteviosidio, 1%.

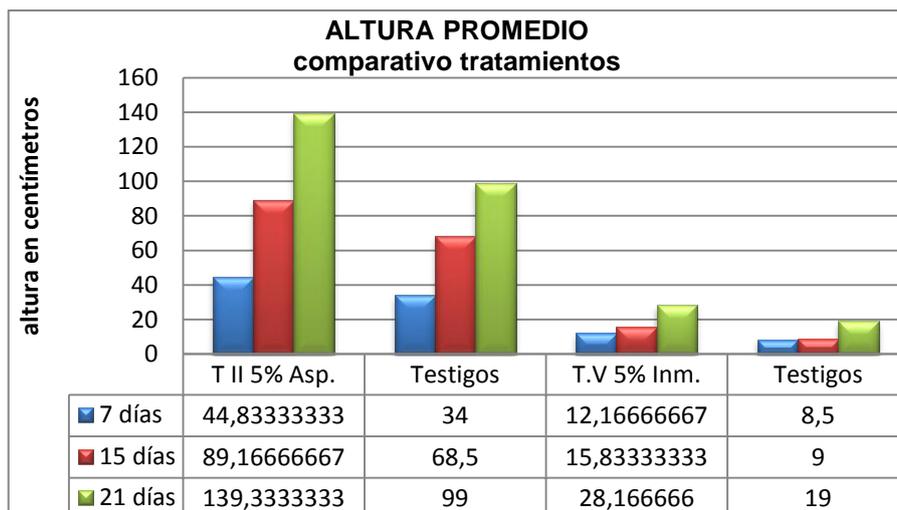
Gráfico N° 10



Si bien en el gráfico se puede observar un mayor crecimiento de las plántulas del T.I 1% en relación a la misma concentración del tratamiento IV 1% por inmersión, este no supera al testigo.

En el **Gráfico N° 11** se cruzan los datos de crecimiento en centímetros de los tratamientos II y V, ambos con una concentración del 5% de esteviosido.

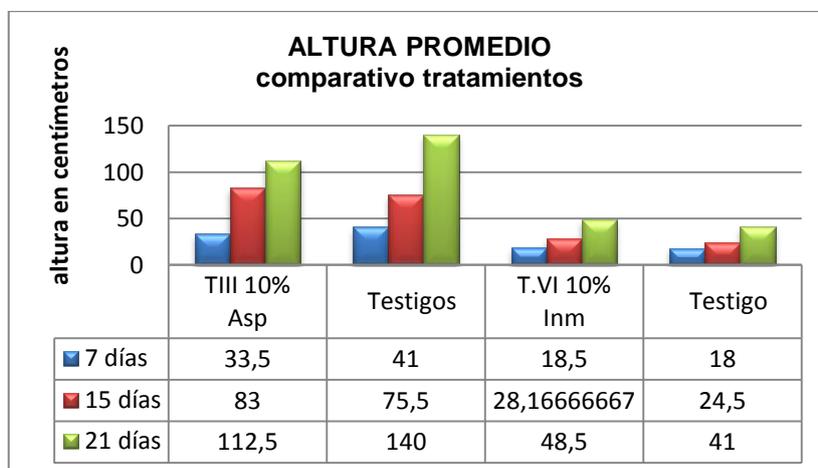
Gráfico N° 11



El tratamiento II, 5% de esteviosido aplicado por aspersión, mostró el mayor crecimiento promedio en todas las fechas de toma de datos. Supera al testigo y al tratamiento V por inmersión y con la misma concentración de esteviosido.

En el **Gráfico N° 12**. Se cruzan los datos de crecimiento en centímetros de los tratamientos III y VI, ambos con una concentración del 10% de esteviosido.

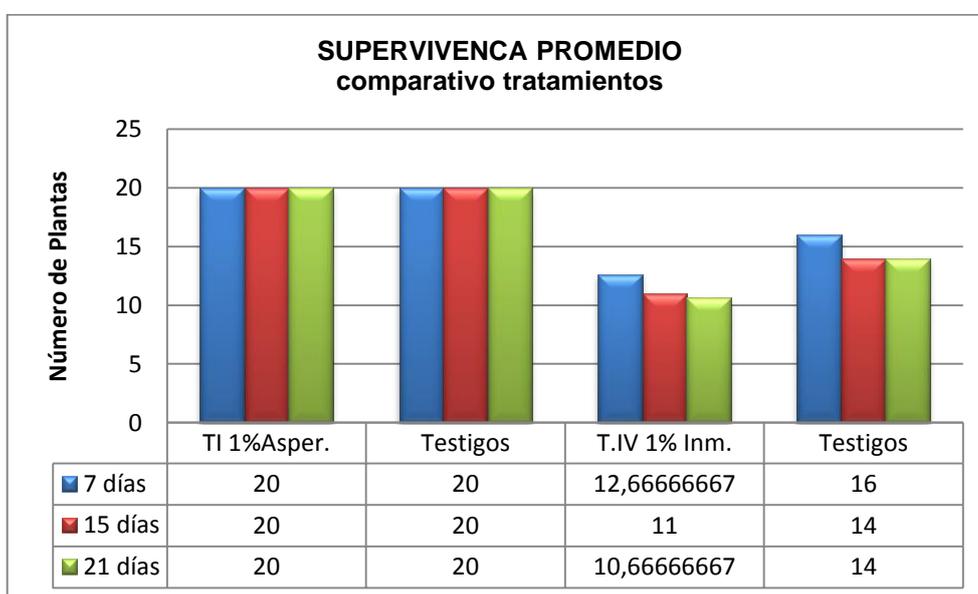
Gráfico N° 12



En el gráfico puede observarse que un aumento de concentración de esteviosido disminuye el crecimiento. En este caso si bien el tratamiento III, 10% por aspersión, supera al tratamiento VI, 10% por inmersión, el testigo mostró mayor crecimiento al finalizar el ensayo a los 21 días.

En el **Gráfico N° 13**, se comparan los porcentajes de supervivencia de los tratamientos I y IV, aspersión e inmersión respectivamente y con las mismas concentraciones.

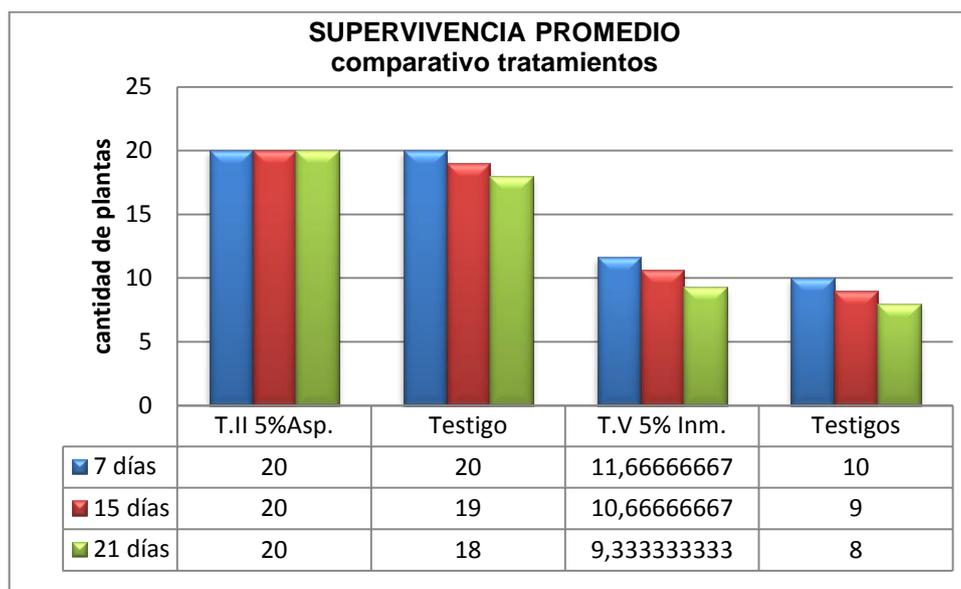
Gráfico N° 13



El tratamiento I por aspersión tuvo una supervivencia del 100% al finalizar el ensayo a los 21 días. El testigo también, pero el tratamiento por inmersión tuvo muy baja supervivencia.

En el **Gráfico N° 14** se comparan los tratamientos II y V, aspersión e inmersión respectivamente, para los datos de supervivencia para las tres fechas de toma de datos y las mismas concentraciones de esteviosido (5%).

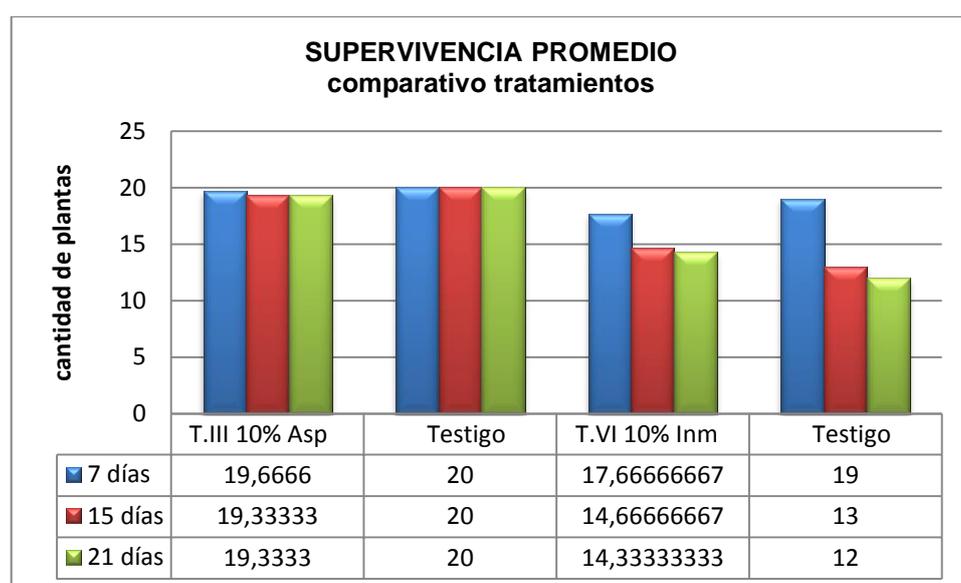
Gráfico N° 14



En este caso, el tratamiento II, supero a los testigos y el tratamiento V, con una tasa de supervivencia del 100%. Si bien al cabo de 7 días no superaba al testigo, al finalizar el ensayo no hubo pérdidas de plántulas.

En el **Gráfico N° 15**, se comparan los tratamientos III (aspersión) y VI (inmersión) con una concentración al 10% de esteviosido en ambos casos.

Gráfico N° 15



En el gráfico puede verse que los tratamientos con mayor concentración de esteviosidio (10%) no superan en supervivencia al testigo en caso del T III (aspersión) y ni en el T VI (inmersión). Sólo a los 21 días el tratamiento VI supera levemente al testigo.

4.11.2 -TABLAS DE DATOS PROMEDIO POR PLANTA A LOS 21 DÍAS

Al finalizar el ensayo, se tomaron los datos individuales promedio por planta para: entrenudos, crecimiento (altura en cm.) y supervivencia, a efectos de comparar tratamientos y concentraciones luego de 21 días.

En la **Tabla N° 4**, se comparan los tratamientos por Aspersión en todas sus concentraciones para los tres parámetros medidos.

Tabla N° 4 - Tratamientos por Aspersión

Datos Finales individuales tratamiento por Aspersión a los 21 días			
	N° Entrenudos	Altura en cm.	% Supervivencia
TI 1%	3,91	6,66	100
Testigo	3,85	6,75	100
TII 5%	4	6,96	96,65
Testigo	3,33	5,5	90
TIII 10%	4,44	5,81	96,66
Testigo	3,8	7	100

Analizando la **Tabla N° 4** los tratamientos por Aspersión en las concentraciones más bajas (T.II 1% y T.II 5%) superan al testigo en todos los parámetros. El tratamiento III, supera en cantidad de entrenudos al testigo pero no en crecimiento y supervivencia.

Tabla N° 5 – Tratamientos por inmersión

Datos Finales individuales Tratamiento por Inmersión a los 21 días			
	N° Entrenudos	Altura cm.	% Supervivencia
TIV 1%	3,25	4,58	53,3
testigo	2,64	3,64	70
TV 5%	2,32	2,35	46
testigo	2	2,37	40
TVI 10%	2,58	3,38	71,65
testigo	2,66	3,41	60

En la **Tabla N° 5**, podemos observar que en los tratamientos por inmersión, en todas las concentraciones, los datos individuales por planta en los parámetros medidos, superan a los testigos levemente pero con una supervivencia mucho menor con respecto a los tratamientos por aspersión.

CAPITULO V

Conclusiones

En cuanto a tratamientos:

- El de Aspersión es el que presenta los mejores resultados para los parámetros medidos: Entrenudos, Crecimiento y Supervivencia.
- El tratamiento por Inmersión produjo pérdidas de plántulas y una pobre respuesta en todos los parámetros. Estos no superan a los testigos ni a los obtenidos en los tratamientos por Aspersión.

En cuanto a las concentraciones de esteviosido:

- La del 1% (0,07 mg/100 ml) y la del 5% (0,35 mg/100 ml) para los tratamientos por aspersión (T.I y T.II), dieron diferencias un poco mayores

con respecto a los testigos en los datos cuantitativos, pero cualitativamente, mostraron mayor vigor, grosor de los tallos, mayor área foliar y mayor enraizamiento. Estos últimos datos no fueron medidos, surgen de la observación detallada e ilustrada.

El porcentaje de supervivencia, tanto en los datos promedio generales, como en los individuales (Tabla N° 4 y Tabla N°5), fue del 100% o cercano (96,6% T.II) en ambas concentraciones para estos tratamientos (T.I y T.II).

Una mayor concentración de esteviosido, 10% (0,7 mg/100ml) produce un efecto no deseado para la propagación por la TMA, las plántulas tienen en el T.III, un mayor crecimiento, entrenudos largos y delgados y una activación de las yemas axilares con brotes muy débiles y hojas amarillentas, pequeñas y menor tasa de supervivencia.

El esteviosido pareciera tener un efecto exponencial a lo largo del tiempo por cuanto todas las plántulas de *Origanum vulgare* que recibieron tratamientos y que se conservaron más allá de los 21 días, presentaron un aspecto robusto, mayor vigor y área foliar.

Este efecto se prolonga durante la rusticación en comparación con las plántulas de *Origanum vulgare* que no recibieron tratamiento, esto puede observarse en las Ilustraciones N° 78 y N° 79.

En cuanto al uso del edulcorante comercial de *Stevia*, que puede reemplazar al extracto natural para ser utilizado en pequeña escala y en los casos en que sea dificultoso la obtención o preparación del mismo.



*Ilustración N°78: plántulas de orégano (sin tratamientos) durante la rusticación.
Mayo 2013*



*Ilustración N° 79, plántulas de orégano que recibieron tratamientos con estevisidio
(Mayo 2013)*

De acuerdo a lo que se observó durante la rusticación del orégano el efecto del estevisidio mejoró el vigor y la rusticidad de las plántulas, aumentó la supervivencia y el área foliar, lo cual deja la inquietud de seguir desarrollando, ensayando y cuantificando el efecto del estevisidio,

concentrado en el edulcorante de uso comercial, durante la rusticación de otras especies. Para un mejoramiento de raíces y del estado general de las plántulas, siendo este un objetivo secundario al realizar este ensayo.

Se sugiere:

- Realizar ensayos con concentraciones menores de esteviosidio, en la misma especie y en otras, por ejemplo el tomillo (*Thymus vulgaris*).
- Que los parámetros a medir sean área foliar y sistema radicular, además de los ya cuantificados en el presente trabajo.
- Realizar ensayos durante la rusticación incorporando diferentes dosis de esteviosidio en el agua de riego.
- Repetir este trabajo utilizando como tratamientos: Aspersión y Riego, en concentraciones de esteviosidio de 0,5%, 1,5%, 2%, y 3%.

CAPITULO VI

Debate General

Trabajos anteriores realizados para evaluar la actividad del esteviosidio como estimulador del crecimiento internodal en plantas de maíz enano, Ruddat et al. (1963), demuestran la efectividad del esteviosidio en el alargamiento de los entrenudos debido a su semejanza estructural con las giberelinas, este efecto se pudo comprobar en el Tratamiento III (10% de esteviosidio), sin embargo, aún se debe continuar trabajando hasta encontrar la concentración adecuada para lograr un mejor resultado que sirva a la TMA.

El extracto natural de *Stevia* es activador de raíces, desinfectante del suelo, mejorador de los cultivos, estimula el proceso fotosintético, mejora las propiedades organolépticas, aumenta el contenido de azúcares y evita la oxidación post cosecha, Real et al. (2012).

Los rastrojos, tallos, ramas y raíces, que quedan en las parcelas del cultivo de *Stevia rebaudiana*, se utilizan como mejorador de suelo. Este se aplica

directamente, o se tritura, y el polvo se usa para otros cultivos, al aplicarlo al suelo disminuyen los microorganismos patógenos y aumentan los antagonistas lo cual mejora la fertilidad, Tigrero y Landázur, (2009). También puede utilizarse en el agua de riego, tallos pulverizados lo cual estimula la actividad de los microorganismos benéficos.

Es interesante continuar con el uso del edulcorante de *Stevia* para comprobar si tiene el mismo efecto que el extracto natural y que pueda ser utilizado en condiciones de cultivo no controladas totalmente, como almacigueras, estaqueros, y otras formas de producción de plantas a pequeña escala, y que serían de gran utilidad para los horticultores, pequeños productores y agricultores familiares.

Resulta muy interesante el uso de extracto de *Stevia* en animales, según investigaciones llevadas a cabo por la compañía japonesa JBB, en conjunto con Universidades e Institutos de Japón, que trabajan activamente en este campo, han demostrado que el uso del extracto de *Stevia* mejora el apetito, el crecimiento, previene enfermedades y mejora el sabor de la carne en animales de granja, también, previene la fatiga estival debida al calor, y mejora la fertilidad, JBB *Stevia* Laboratory –(2004). Queda el interrogante sobre si el extracto natural puede ser reemplazado por el edulcorante de *Stevia* concentrado.

Se espera que el presente trabajo haga un aporte diferente a todos estos campos y que pueda ser utilizado, por la población más vulnerable, agricultores de subsistencia, y pequeños productores, en otras condiciones que no sean controladas como en el laboratorio.

BIBLIOGRAFÍA

Claudia B. Sorol de Amarilla – (1996) Efecto del Steviosido y del Steviol en la Germinación de Semillas de *Petunia hybrida* Vilm. (*Solanaceae*) Rev. Asoc. Cienc. Nat. Litoral 27 (1): 49 – 53

Francisco Real; Gustavo Florio; Jazmín Florio “*Stevia o Hierba Dulce (Stevia rebaudiana) II PARTE*” - 2012
<http://www.sunshineflorio.blogspot.com.ar/2012>

Juan Tigrero y Pablo Landázur – “*Aplicaciones de la Stevia rebaudiana*” - Escuela Politécnica del Ejército (ESPE) (2009)
<http://biblioteca.espe.edu.ec>

JBB Stevia Laboratory - 2004
<http://www.jbb-stevia.com>

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

M. Katsumi; B.O. Phinney; P.R. Jefferies y C. A. Henrick – 1964 – Mutants of maiz to some Kaurene Derivatives. *Science* 144: 849-850

Miguel Alonso – “*Favorece al Desarrollo de las Plantas - Uso del Ka'a He'e en la agricultura*” - ABC digital (2007)
<http://archivo.abc.com.py/suplementos/rural/articulos.php?pid=367007>

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

<http://anterior.inta.gov.ar/extension/prohuerta/institucional/poa2011.pdf>

