

Rizobacterias y fertilización química en crecimiento y producción de *Stevia rebaudiana* Bertoni (Asteraceae) en Tabasco, México

Rhizobacteria and chemical fertilization in *Stevia rebaudiana* Bertoni (Asteraceae) growth and yield in Tabasco, Mexico

Javier Alejandro Palma-Ramos¹ , Salomé Gayosso-Rodríguez^{1*} ,
Maximiano Antonio Estrada-Botello¹ 

¹División Académica de Ciencias Agropecuarias, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Carretera Villahermosa-Teapa Km 25, Ra. La Huasteca 2ª sección, 86280, Centro, Tabasco, México.

*Autor para correspondencia: salome.gayosso@ujat.mx

RESUMEN

La agricultura moderna ha incorporado el uso de microorganismos como biofertilizantes para disminuir los impactos negativos al ambiente y promover el crecimiento y rendimiento de los cultivos. Por ello, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la aplicación de rizobacterias y fertilización convencional sobre el crecimiento y rendimiento de *Stevia rebaudiana* Bertoni (Asteraceae). Se establecieron esquejes enraizados (variedad Morita II), se inocularon con *Azospirillum brasilense* y se aplicó fertilización química a 100 por ciento (T2), 80 por ciento (T3) y 60 por ciento (T4), y 100 por ciento sin inocular como control (T1). El cultivo se evaluó por 100 días: se midió altura, diámetro de tallo, número de brotes, biomasa (fresca y seca) y contenido mineral en hojas. Los resultados indican mayor altura de planta ($p < 0.05$) en el control (T1), sin diferencias en número de brotes, diámetro de tallo y biomasa con T4. Las plantas con rizobacterias tuvieron mayor contenido de P en hojas que T1, sin diferencias estadísticas en N, K, Ca y Mg. La aplicación de rizobacterias puede contribuir a reducir el uso de fertilizantes sin afectar el rendimiento de estevia.

PALABRAS CLAVES:

Azospirillum brasilense, endulzante natural, planta medicinal, biofertilizante.

ABSTRACT

Modern agriculture has incorporated the use of microorganisms as biofertilizers to reduce negative impacts on the environment and promote crop growth and yield. Therefore, the purpose of this research was to evaluate the effect of the application of rhizobacteria and conventional fertilization on *Stevia rebaudiana* Bertoni (Asteraceae) growth and the yield. Rooted cuttings (variety Morita II) were established, inoculated with *Azospirillum brasilense*, and with chemical fertilization applied at 100% (T2), 80% (T3), and 60% (T4). Control (T1) was 100% uninoculated. The crop was evaluated for 100 days measuring height, stem diameter, number of shoots, biomass (fresh and dry), and mineral content in leaves. The results show higher plant height ($p < 0.05$) in the control (T1), with no difference in number of shoots, stem diameter, and biomass with T4. Plants with rhizobacteria had higher P content in leaves than control T1 without statistical differences in N, K, Ca, and Mg. The inoculation of rhizobacteria can help reduce the use of fertilizers without affecting the yield of Stevia.

KEYWORDS:

Azospirillum brasilense, natural sweetener, medicinal herb, biofertilizer.

Fecha de recepción:

29 de abril de 2021

Fecha de aceptación:

27 de abril de 2022

Disponible en línea:

28 de junio de 2022

Este es un artículo en acceso abierto que se distribuye de acuerdo a los términos de la licencia Creative Commons.



Reconocimiento-

NoComercia-

CompartirIgual 4.0

Internacional

INTRODUCCIÓN

La producción de cultivos hortícolas depende en gran medida de la aportación de fertilizantes minerales para garantizar el rendimiento (Sarandón y Flores 2014); sin embargo, la planta no siempre aprovecha eficientemente estos productos. El uso indiscriminado de fertilizantes ha ocasionado impactos negativos al ambiente, como la acumulación de sales, la contaminación de cuerpos de agua por lixiviados y la disminución de la actividad microbiana (Arauzo y Valladolid 2013; Almaguer 2013). En respuesta a esta problemática, la agricultura moderna incorporó microorganismos benéficos como inoculantes microbianos o biofertilizantes, que promueven el crecimiento de las plantas y la productividad del suelo sin problemas de contaminación, por lo que son una alternativa para disminuir o reemplazar el uso de fertilizantes químicos (Aguirre-Medina et al. 2018; Vafadar et al. 2014).

Las rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (RPCV) son microorganismos utilizados como biofertilizantes, e incluyen géneros como *Azospirillum*, *Azotobacter* y *Pseudomonas*. Las RPCV poseen mecanismos para la producción de sustancias que actúan directamente sobre las células vegetales y en el reciclaje de nutrientes como el nitrógeno (N) y el fósforo (P) (Camelo et al. 2011); además, estimulan el crecimiento vegetal (Vafadar et al. 2014), aumentan el rendimiento y la calidad de los frutos (Chawla y Sadawarti 2020; Esitken et al. 2010). Particularmente, las bacterias del género *Azospirillum* promueven el crecimiento de las plantas mediante la biosíntesis y la liberación de aminoácidos y fitohormonas como ácido indolacético y giberelinas (Licea-Herrera et al. 2020; Camelo et al. 2011); asimismo, favorecen la fijación del nitrógeno y la producción de raíces que benefician la absorción de agua y nutrientes (Bashan y De-Bashan 2010); este género ha sido evaluado en pastos (Hungria et al. 2016), maíz (Zeffa et al. 2019) y fresas (Kumar et al. 2019), con una mejora en el crecimiento de la planta y el rendimiento del cultivo.

Por otra parte, *Stevia rebaudiana* Bertoni (Asteraceae) es una hierba perenne de la familia de las asteráceas, originaria de la cordillera de Amambay, ubicada entre el sur de Brasil y el norte de Paraguay (González-Moralejo 2011; Madan et al. 2010). Contiene glucósidos de esteviol en sus hojas, lo que le da

propiedades edulcorantes entre 200 y 300 veces más dulces que la sacarosa (Momtazi-Borojeni et al. 2017; Ljaz et al. 2015); además, posee otros compuestos como el rebaudiósido A y el isosteviol, que ofrecen beneficios terapéuticos: antihiper glucémicos, antihipertensivos, antiinflamatorios, antitumorales y diuréticos (Ferrazzano et al. 2016). Se cultiva desde tiempos ancestrales en China y Paraguay, por su utilidad como planta medicinal (Hossain et al. 2017), pero, actualmente, su consumo se ha extendido a nivel mundial como endulzante natural, por su potencial para reemplazar el azúcar y los edulcorantes artificiales, cuestionados por posibles riesgos a la salud pública (González-Moralejo 2011).

La planta de estevia es sensible a la aplicación de fertilizantes, principalmente de nitrógeno, pues éste forma parte de proteínas, enzimas, coenzimas, vitaminas, reguladores de crecimiento y otros compuestos orgánicos que participan en las reacciones fisiológicas de las células (Jarma et al. 2010). El N en estevia estimula la producción de hojas, probablemente debido a las citoquininas que afectan significativamente el crecimiento, la productividad y el contenido de esteviósidos (Casaccia y Álvarez 2006; Daza et al. 2015a; Mohammed et al. 2019). En relación con el fósforo, una deficiencia de este mineral puede limitar su crecimiento, mientras que la escasez de potasio puede reducir la producción de ramas (Jarma et al. 2010). A su vez, el uso de biofertilizantes en estevia aumenta la biomasa de raíces y brotes, el contenido de esteviósido, clorofila y NPK (Vafadar et al. 2014). Por lo anterior, debido a la importancia del cultivo y las ventajas de los biofertilizantes en su crecimiento y rendimiento, se evaluó el efecto de la aplicación de rizobacterias y fertilización convencional sobre el crecimiento y el rendimiento de *S. rebaudiana*.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se llevó a cabo en el área agrícola de la División Académica de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, ubicada a una altitud de 19.7 msnm (17° 47' 15" N, 92° 57' 15" O), en el municipio de Centro, Tabasco, México. El cultivo se estableció de diciembre de 2019 a marzo de 2020. La temperatura promedio del área de estudio fue de 26 °C con humedad relativa de hasta 90 por ciento. La

precipitación en diciembre (2019) fue de 274 mm, y en enero, febrero y marzo (2020), de 75.3, 137.8 y 18.8 mm, respectivamente (CONAGUA 2021). La composición físico-química del suelo se determinó previo a la siembra del cultivo (Cuadro 1).

Se utilizaron esquejes apicales enraizados de 45 días, variedad Morita II, con una altura promedio de 10 cm, provenientes de plantaciones comerciales de Tekax, Yucatán, México, y se establecieron en charolas en una mezcla de composta/suelo. Los esquejes enraizados se establecieron en camas con 0.30 m de altura, 1 m de ancho y 3 m de largo, a una distancia de 20 cm x 20 cm en marco real. Para la fertilización se utilizó la dosis de extracción para la producción de 2,500 kg de hoja seca, 162 N, 19 P, 140 K, 40 Ca, 9 Mg kg ha⁻¹ (Casaccia y Álvarez 2006). Se consideraron dosis de fertilización de 100, 80 y 60 por ciento, usando como complemento la inoculación de la bacteria *Azospirillum brasilense* a una concentración de 2×10^{12} unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC ml⁻¹) (Cuadro 2). La fertilización se fraccionó en dos aplicaciones en cantidades iguales: la primera a los ocho días después del trasplante (ddt) y la segunda a los 45 ddt. La inoculación de la bacteria se realizó en los esquejes enraizados previos a la siembra, con una inmersión por 15 min en la solución del biofertilizante.

Para el manejo del cultivo, se realizó la poda de formación, al cortar la yema apical de la plántula a los siete ddt, y, posteriormente, se llevó a cabo una

segunda poda a los 20 ddt. Se hicieron dos riegos, en promedio, por semana de forma manual; el control de plagas y enfermedades se efectuó de acuerdo con la población e incidencia. Se presentaron manchas foliares ocasionadas por hongos, y para el control se utilizó metalaxil (Agroquímicos Versa S.A de C.V, Coahuila, México), en una dosis de 2.5 ml L⁻¹, una aplicación en la primera y segunda semana de enero (a los 30 y 37 ddt).

Las plantas se cultivaron por 100 días, y se midieron las siguientes variables al final del cultivo (n=5): altura de la planta (cm), diámetro del tallo (mm), número de brotes, biomasa fresca y seca (g) de hojas y tallos por planta. Para la determinación de la biomasa seca, se colocaron tallos y hojas por separado en bolsas de papel de estraza, en una estufa de aire forzado (Felisa) a 65 °C por 48 h, y, posteriormente, se pesó (ADAM, PW124).

La biomasa seca de hojas se molió y se determinó el contenido mineral (n=5). El nitrógeno, por el método de micro Kjeldahl modificado para incluir nitratos (n=3) (Álvarez-Sánchez y Marín-Campos 2015). Para la solubilización de P, K, Ca y Mg se realizó una segunda digestión; se pesaron 0.50 g de muestra, los cuales se digestaron con una mezcla 1:2 ácido perclórico-ácido nítrico concentrado, y el digestado se aforó a 25 mL. El fósforo se cuantificó utilizando el reactivo vanadomolibdico para el desarrollo del color y se cuantificó la concentración de P por colorimetría, con base en una curva de calibración de dicho elemento.

Cuadro 1. Características físicas y químicas del suelo.

Arena	Limo	Arcilla	Clase textural	CC	PMP	pH	CE $\mu\text{S/cm}$	MO	P-Olsen	Ca	Mg	K
-----%-----				% H				%	ppm	-----Cmol/kg ⁻¹ -----		
71	7	22	Franco arcillo arenoso	21.6	11.7	4.57	96.5	4.35	27.9	3.62	2.32	0.27

Cuadro 2. Combinación de diferentes porcentajes de fertilización química e inoculante en estevia.

Tratamientos	Nomenclatura
T1	Fertilización 100% (F 100 %)
T2	Fertilización 100% + <i>Azospirillum brasilense</i> (F 100% + A)
T3	Fertilización 80% + <i>Azospirillum brasilense</i> (F 80% + A)
T4	Fertilización 60% + <i>Azospirillum brasilense</i> (F 60% + A)

El K, Ca y Mg se determinaron por absorción atómica, utilizando las curvas de calibración correspondiente para cada elemento (Álvarez-Sánchez y Marín-Campos 2015).

Se usó un diseño experimental completamente al azar con tres repeticiones y cinco unidades experimentales. Los datos se sometieron a un análisis de varianza, y las variables con significancia, a una prueba de comparación de medias (Tukey), con un nivel de confianza de 95 por ciento. Se utilizó el paquete estadístico Statistica Six Sigma, v.7.1 (StatSoft Inc. 2005).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las variables de crecimiento se observaron diferencias significativas en altura de planta en T1, con valores superiores al resto de los tratamientos con *Azospirillum* ($p < 0.05$) (Cuadro 3). La altura de plantas de T3 (30.6 cm) y T4 (31.46 cm) con la aplicación de 129.6 y 97.2 Kg de N ha⁻¹, respectivamente, fue semejante a la reportada por Daza et al. (2015a), con aplicaciones de 100 kg de N ha⁻¹ (32.3 cm), y la señalada por Herrera et al. (2012), con 32.1 cm de altura en plantas de tres meses cultivadas en Nayarit, México; sin embargo, estos valores fueron inferiores al rango indicado por Mohammed et al. (2019) (35.8 y 39.4) con la aplicación de ácidos húmicos. En relación con esto, algunos autores mencionan que la altura de la planta de estevia no depende únicamente de la fertilización nitrogenada; el crecimiento y desarrollo de esta especie dependen también de otros factores, como el fotoperiodo, la temperatura (Jarma et al. 2012) y el pH del suelo (Mohammed et al. 2019). Un fotoperiodo menor a 12 h reduce el crecimiento vegetativo de la planta (Hossain et al. 2017), mientras que el pH del suelo influye en

la disponibilidad de nutrientes. En este sentido, el cultivo se estableció en un periodo de días cortos, en suelo con pH de 4.5; ambos factores pudieron afectar la asimilación del N, el cual disminuye la división y el crecimiento celular, el tamaño de las hojas y el número de yemas axilares, lo que afecta el crecimiento de la planta (Jarma et al. 2010).

En el número total de brotes (primarios y secundarios) por planta, no se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos T1, T2 y T4 (Cuadro 3). El promedio de brotes primarios por planta fue de ocho; este resultado es similar al reportado para el cultivo de estevia en invernadero (de 7 a 9) (Villalba et al. 2018) y a cielo abierto (de 7 a 10) (Mohammed et al. 2019), y superiores a los reportados por Aguirre-Medina et al. (2018) (6) en suelo fluvisol-eútrico en Chiapas, México. No obstante, en Nayarit, México, Herrera et al. (2012) reportan 22.2 brotes por planta, diferencia atribuida a una mayor distancia de siembra, instalación de sistema de riego y acolchado del cultivo. Respecto al diámetro de tallo, los valores registrados fueron superiores a 5 mm en los tratamientos T1 y T4 sin diferencias estadísticas ($p < 0.05$). A pesar de la disminución de la dosis de fertilización, es posible un efecto de la rizobacteria en la absorción de nutrientes reflejados en la altura y diámetro de tallo en T4. En relación con esto, Daza et al. (2015a) mencionan que el incremento en el diámetro de tallo favorece la absorción de nutrientes, que puede ser la causa de mayor crecimiento de la planta, efecto que se observó en este estudio.

En la producción de biomasa fresca y seca por planta no hubo diferencias significativas ($p < 0.05$) entre T1, T2 y T4 (Cuadro 4). Estos resultados coinciden con los reportados por Aguirre-Medina et al. (2018), quienes aplicaron *Azospirillum* en estevia sin encontrar

Cuadro 3. Crecimiento de plantas de *Stevia rebaudiana* con la aplicación de fertilizantes químicos y *Azospirillum brasilense* en Tabasco, México.

Tratamientos	Altura de planta (cm)	Brotes totales por planta	Diámetro de tallo (mm)
T1	39.2 a*	16 a	5.89 a
T2	26.66 b	13 ab	4.09 b
T3	30.6 b	9 b	4.42 b
T4	31.46 b	14 ab	5.33 a

*Letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticas (Tukey $p < 0.05$) (n=5). T1= F 100 %; T2= F 100 % + A; T3= F 80 % + A; T4= F 60 % + A.

Cuadro 4. Rendimiento de biomasa fresca y seca de *Stevia rebaudiana* cultivada con fertilización química y rizobacterias de *Azospirillum brasilense* en Tabasco, México.

Tratamientos	Biomasa fresca (g) planta ⁻¹			Biomasa seca (g) planta ⁻¹		
	Tallo	hoja	Total	Tallo	Hoja	Total
T1	60.23 a*	251.8 a	312.03 a	3.18 a	12.51 a	15.7 a
T2	55.36 ab	226.16 a	281.53 a	2.94 ab	11.06 ab	14 ab
T3	31.4 b	149.1 b	180.5 b	1.66 b	7.35 b	9 b
T4	63.53 a	235.5 a	299.03 a	3.47 a	11.92 a	15.4 a

*Letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticas (Tukey $p < 0.05$) (n=5). T1= F 100%; T2= F 100% + A; T3= F 80% + A; T4= F 60% + A.

diferencias en la producción de área foliar (cm² planta⁻¹) y peso seco (g planta⁻¹) con el tratamiento control; sin embargo, los resultados difieren de los reportados por Das et al. (2007), quienes mencionan mayor producción de biomasa de *S. rebaudiana* con *Azospirillum brasilense*, donde la aplicación de la rizobacteria fue directamente al sustrato y cultivadas en contenedores en invernadero. Por lo tanto, las condiciones de cultivo pudieron influir en los resultados, ya que la fase del inóculo, las UFC y factores como el pH, salinidad, materia orgánica, concentración de calcio y de nitrógeno pueden afectar la efectividad de las rizobacterias sobre la respuesta del cultivo (De-Bashan et al. 2007).

La producción de biomasa seca de hojas por planta registrada en este estudio fue superior a la reportada por Aguirre-Medina et al. (2018) al inocular *Rhizophagus intraradices* y *A. brasilense* (7.3 g planta⁻¹), y al utilizar diferentes rangos de fertilización de NPK de 24-12-18 (7.6 a 9.9 g planta⁻¹) (Mohammed et al. 2019). Los resultados fueron semejantes a los registrados por Mohammed et al. (2019), quienes aplicaron ácidos húmicos (7 a 12.3 g planta⁻¹). Sin embargo, la producción de biomasa de este estudio fue inferior a la alcanzada por Herrera et al. (2012) con 48.1 g planta⁻¹; la diferencia pudo estar determinada por el sistema de cultivo utilizado y por las condiciones climáticas. La discrepancia en la producción y la calidad de biomasa seca en estevia están determinadas por el sistema de producción, el manejo agronómico y las condiciones climáticas en las que se establece el cultivo (Hossain et al. 2017), el riego (Daza et al. 2015b), la duración de horas luz y la temperatura (Jarma et al. 2012), entre otros factores.

De los tratamientos inoculados, T4 —con 60 por ciento de la fertilización química mostró el mayor valor en producción de biomasa seca por planta; al

respecto, De-Bashan et al. (2007) mencionan que los mejores rendimientos con *Azospirillum* se alcanzaron al disminuir a 75 por ciento la cantidad de fertilizante nitrógeno, considerando a *A. brasilense* como un sustituto parcial de este fertilizante.

Sin embargo, la aplicación de *Azospirillum* en moringa (*Moringa oleifera* Lam) no aumentó el peso seco, por lo que se atribuye el resultado a la concentración del inóculo (Hernández-Chontal et al. 2019); en estevia, *Azospirillum* combinado con otros microorganismos benéficos generaron un incremento en la producción de biomasa (Aguirre-Medina et al. 2018; Das et al. 2007); por lo tanto, el efecto de *A. brasilense* en los cultivos está condicionado a la especie vegetal, la concentración del inóculo y las condiciones de cultivo.

En relación con el contenido de N en hojas, no hubo diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos (Cuadro 5); no obstante, T1 produjo mayor biomasa de hojas. El efecto de una deficiencia de N en estevia es la reducción del tamaño de los órganos (principalmente de hojas) y la densidad estomática (Jarma et al. 2010), y el incremento de N aumenta la altura de planta (Aladakatti et al. 2012), además del peso de biomasa fresca y seca (Rashwan y Ferweez 2017). Aunque no se observaron diferencias en el contenido de N en hojas, las diferencias en producción de biomasa en hojas y en altura de plantas indican que los tratamientos con *Azospirillum* solubilizaron nutrientes que ayudaron a suplir la carencia de nutrientes, pero no generaron una mayor producción de hojas y de biomasa foliar; al respecto, De-Bashan et al. (2007) mencionan que *A. brasilense* puede afectar o no el rendimiento de la cosecha.

En relación con el contenido de fósforo, fue mayor en los tratamientos donde se inoculó *A. brasilense* respecto al testigo sin inocular, pero no aumentó el

Cuadro 5. Contenido mineral en hojas de *Stevia rebaudiana* cultivadas con fertilización convencional y *Azospirillum brasilense* en Tabasco, México.

Tratamientos	Contenido (%)				
	N	P	K	Ca	Mg
T1	2.03 ^{NS}	0.206 b*	1.83 ^{NS}	0.49 ^{NS}	0.33 ^{NS}
T2	2.18 ^{NS}	0.210 ab	1.87 ^{NS}	0.53 ^{NS}	0.36 ^{NS}
T3	2.18 ^{NS}	0.223 a	1.88 ^{NS}	0.58 ^{NS}	0.36 ^{NS}
T4	2.02 ^{NS}	0.220 ab	1.84 ^{NS}	0.48 ^{NS}	0.36 ^{NS}

^{NS}= No significativo. *Letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticas (Tukey $p < 0.05$) (n=3). T1= F 100 %; T2= F 100 % + A; T3= F 80 % + A; T4= F 60 % + A.

rendimiento de las plantas ($p < 0.05$) (Cuadro 5); esta respuesta se observó en moringa, donde la aplicación de la rizobacteria aumentó el contenido de K en hojas, sin aumentar la biomasa seca (Hernández-Chontal et al. 2019). Considerando que las plantas inoculadas con *A. brasilense* (T2, T3 y T4) superaron el contenido de P al tratamiento testigo, es probable que la rizobacteria haya favorecido el incremento de la movilización y absorción de iones como el fósforo, además de sustancias promotoras de crecimiento que alteran la morfología, el número y el diámetro de las raíces (Domingues et al. 2020). En el contenido de K, Ca y Mg en hojas no se presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos.

CONCLUSIONES

En cuanto al crecimiento de las plantas de *Stevia rebaudiana* inoculadas con *Azospirillum brasilense*, la variable altura fue inferior estadísticamente a la fertilización convencional (100%) sin inocular (T1); sin embargo, en número de brotes, diámetro de tallo y producción de biomasa fresca y seca, no se encontraron diferencias significativas entre T4 (60% fertilización química + *A. brasilense*) y T1. Por lo tanto, la aplicación de la rizobacteria *Azospirillum brasilense* en el cultivo de *Stevia rebaudiana* Bertoni puede contribuir a reducir el uso de fertilizantes convencionales sin afectar el rendimiento.

AGRADECIMIENTOS

Al fondo PRODEP por el financiamiento del proyecto de investigación "Producción y manejo agronómico de *Stevia rebaudiana* en Tabasco, México" con clave UJAT-EXB-241.

LITERATURA CITADA

- Aguirre-Medina JF, Mina-Briones FO, Cadena-Iñiguez J, Soto-Hernández RM. 2018. Efectividad de biofertilizantes y brasinoesteroide en *Stevia rebaudiana* Bert. *Agrociencia* 52: 609-621.
- Aladakatti YR, Palled YB, Chetti MB, Halikatti SI, Alagundagi SC, Patil PL, Janawade AD. 2012. Effect of nitrogen, phosphorus and potassium levels on growth and yield of stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni). *Karnataka Journal of Agricultural Sciences* 25: 25-29.
- Almaguer J. 2013. Fertilización nitrogenada, impactos sobre los rendimientos y el medio ambiente. *Revista Desarrollo Local Sostenible* 6: 1-8.
- Álvarez-Sánchez ME, Marín-Campos A. 2015. Manual de procedimientos analíticos de suelo y planta del Laboratorio de Química, Departamento de Suelos. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México.
- Arauzo M, Valladolid M. 2013. Drainage and N-leaching in alluvial soils under agricultural land uses: Implications for the implementation of the EU Nitrates Directive. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 179: 94-107. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2013.07.013>
- Bashan Y, De-Bashan LE. 2010. How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth-a critical assessment. En: Sparks DL, editor. *Advances in Agronomy*. Estados Unidos, Academic Press. P. 77-136. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(10\)08002-8](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(10)08002-8)
- Camelo M, Vera SP, Bonilla RR. 2011. Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. *Ciencia & Tecnología Agropecuaria* 12: 159-166.
- Casaccia J, Álvarez E. 2006. Recomendaciones técnicas para una producción sustentable del ka'a he'e (*Stevia rebaudiana* Bertoni) en el Paraguay. Manual Técnico 8. Instituto Agronómico Nacional Agrícola. Asunción, Paraguay.
- Chawla R, Sadawarti RK. 2020. Effect of bio-fertilizers and organic manures on growth, yield and fruit quality of fruit crops. *Plant Archives* 20: 3767-3774.
- [CONAGUA] Comisión Nacional del Agua. [internet]. 2021. Resúmenes mensuales de temperatura y lluvia. Gobierno de México. [citado 2021 enero 30]. Disponible en: <https://smn.conagua.gob.mx>
- Das K, Dang R, Shivan TN, Sekeroglu N. 2007. Influence of bio-fertilizers on the biomass yield and nutrient content in *Stevia rebaudiana* Bert. grown in Indian subtropics. *Journal of Medicinal Plants Research* 1: 5-8.
- Daza MC, Díaz J, Aguirre E, Urrutia N. 2015a. Efecto de abonos de liberación lenta en la lixiviación de nitratos y nutrición nitrogenada en estevia. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas* 9: 112-123. <https://doi.org/10.17584/rcch.2015v9i1.3750>
- Daza MC, Jurado JA, Torres VM. 2015b. Efecto de la aplicación de diferentes láminas de riego en estevia (*Stevia rebaudiana* Bert.) bajo invernadero. *Temas Agrarios* 20: 81-90.
- De-Bashan LE, Holguin G, Glick BR, Bashan Y. 2007. Bacterias promotoras de crecimiento en plantas para propósitos agrícolas y ambientales. En: Ferrea-Cerrato R, Alarcon A, editores. *Microbiología agrícola. Hongos, bacterias, micro y macrofauna, control biológico, planta-microorganismo*. Ciudad de México, Trillas. P. 170-224.
- Domingues DCF, Cecato U, Trento BT, Mamédio D, Galbeiro S. 2020. *Azospirillum* spp. in grasses and forages. Review. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 11: 223-240. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v11i1.4951>
- Esitken A, Yildiz HE, Ercisli S, Donmez MF, Turan M, Gunes A. 2010. Effects of plant growth promoting bacteria (PGPB) on yield, growth and nutrient contents of organically grown strawberry. *Scientia Horticulturae* 124: 62-66. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2009.12.012>
- Ferrazzano GF, Cantile T, Alcidi B, Coda M, Ingenito A, Zarrelli A, Di Fabio G, Pollio A. 2016. Is *Stevia rebaudiana* Bertoni a non cariogenic sweetener? A review. *Molecules* 21: 38. <https://doi.org/10.3390/molecules21010038>
- González-Moralejo SA. 2011. Aproximación a la comprensión de un endulzante natural alternativo, la *Stevia rebaudiana* Bertoni: producción, consumo y demanda potencial. *Agroalimentaria* 17: 57-69.
- Hernández-Chontal MA, Vázquez-Luna D, Linares-Gabriel A, De Dios-León GE, Guerrero-Peña A, Rodríguez-Orozco N. 2019. Efecto de la inoculación de *Azospirillum* spp. sobre el contenido nutrimental de moringa (*Moringa oleifera* Lam.). *Terra Latinoamericana* 38: 29-38. <https://doi.org/10.28940/terra.v38i1.542>
- Herrera CF, Gómez JR, González RC. 2012. El cultivo de *Stevia (Stevia rebaudiana)* Bertoni en condiciones agroambientales de Nayarit, México. INIFAP. Nayarit, México.
- Hossain MF, Islam MT, Islam MA, Akhtar S. 2017. Cultivation and uses of stevia (*Stevia rebaudiana*

- Bertoni): A review. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development* 17: 12745-12757.
- Hungria M, Nogueira MA, Araujo RS. 2016. Inoculation of *Brachiaria* spp. with the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*: An environment-friendly component in the reclamation of degraded pastures in the tropics. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 221: 125-131. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.01.024>
- Jarma AdeJ, Combatt EM, Cleves JA. 2010. Aspectos nutricionales y metabolismo de *Stevia rebaudiana* (Bertoni). Una revisión. *Agronomía Colombiana* 38: 199-208.
- Jarma A, Cardona C, Fernández C. 2012. Efecto de la temperatura y radiación en la producción de glucósidos de esteviol en *Stevia rebaudiana* en el Caribe húmedo colombiano. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica* 15: 339-347.
- Kumar S, Kundu M, Das A, Rakshit R, Siddiqui MW, Rani R. 2019. Substitution of mineral fertilizers with bio-fertilizer: An alternate to improve the growth, yield and functional biochemical properties of strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) cv. Camarosa. *Journal of Plant Nutrition* 42: 1818-1837. <https://doi.org/10.1080/01904167.2019.1643363>
- Licea-Herrera JI, Quiroz-Velásquez JDC, Hernández-Mendoza JL. 2020. Impacto de *Azospirillum Brasilense*, una rizobacteria que estimula la producción del Ácido Indol-3-Acético como el mecanismo de mejora del crecimiento de las plantas en los cultivos agrícolas. *Revista Boliviana de Química* 37: 34-39.
- Ljaz M, Pirzada AM, Saqib M, Latif M. 2015. *Stevia rebaudiana*: An alternative sugar crop in Pakistan-a review. *Zeitschrift für Arznei- und Gewürzpflanzen* 20: 88-96.
- Madan S, Ahmad S, Singh GN, Kohli K, Kumar Y, Singh R, Garg M. 2010. *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni-a review. *Indian Journal of Natural Products and Resources* 1: 267-286.
- Mohammed MH, Meawad AAA, El-Mogy EEAM, Abdelkader M. 2019. Growth, yield components and chemical constituents of *Stevia rebaudiana* Bert. as affected by humic acid and NPK fertilization rates. *Zagazig Journal of Agricultural Research* 46: 13-26. <https://doi.org/10.21608/zjar.2019.40172>
- Momtazi-Borojeni AA, Esmaeili S-A, Abdollahi E, Sahebkar A. 2017. A review on the pharmacology and toxicology of steviol glycosides extracted from *Stevia rebaudiana*. *Current Pharmaceutical Design* 23: 1616-1622. <https://doi.org/10.2174/1381612822666161021142835>
- Rashwan B, Ferweez H. 2017. Effect of mineral nitrogen fertilization and compost on stevia yield and its profitability. *Journal of Soil Sciences and Agricultural Engineering* 8: 215-222. <https://doi.org/10.21608/JSSAE.2017.37379>
- Sarandón SJ, Flores CC. 2014. Agroecología: bases teóricas para el diseño y manejo de agroecosistemas sustentables. Universidad Nacional de La Plata. La Plata, Argentina.
- StatSoft Inc. 2005. Statistica data analysis software system. Versión 7.1. Disponible en: <http://www.statsoft.com>
- Vafadar F, Amooaghaie R, Otrushy M. 2014. Effects of plant-growth-promoting rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungus on plant growth, stevioside, NPK, and chlorophyll content of *Stevia rebaudiana*. *Journal of Plant Interactions* 9: 128-136. <https://doi.org/10.1080/17429145.2013.779035>
- Villalba CJ, López RM, Trinidad A, Quevedo A, Muratalla A. 2018. Glucósidos en respuesta a dos fuentes de nutrición en *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Terra Latinoamericana* 36: 411-421. <https://doi.org/10.28940/terra.v36i4.318>
- Zeffa DM, Perini LJ, Silva MB, De Sousa NV, Scapim CA, De Oliveira ALM, Do Amaral AT, Goncalves LSA. 2019. *Azospirillum brasilense* promotes increases in growth and nitrogen use efficiency of maize genotypes. *PloS ONE* 14: e0215332. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215332>