



UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE AGRONOMIA
DEPARTAMENTO DE AGRONOMIA

Efecto de *Trichoderma harzianum* y ácido indolbutírico sobre el enraizamiento y brotación de esquejes de *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni

Autor: Br. Freddy Briceño
Tutora: Prof^a Carmen Basso

Maracay, abril 2016



UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE AGRONOMIA

Efecto de *Trichoderma harzianum* y ácido indolbutírico sobre el enraizamiento y brotación de esquejes de *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni

Trabajo presentado como parte de los requisitos para optar al título de Ingeniero Agrónomo que otorga la Universidad Central de Venezuela

Autor: Br. Freddy A. Briceño
Tutora: Prof^a. Carmen Basso

VEREDICTO

Nosotros los abajo firmantes, *miembros del jurado examinador del trabajo de grado titulado “Efecto de Trichoderma harzianum y ácido indolbutírico sobre el enraizamiento y brotación de esquejes de Stevia rebaudiana (Bert.) Bertoni”*, cuyo autor(a) es el Br. **Freddy A. Briceño**, cédula de identidad **17.702.888**, certificamos que lo hemos leído y hemos presenciado su defensa pública y que en nuestra opinión reúne las condiciones necesarias de adecuada presentación y es enteramente satisfactorio en alcance y calidad como trabajo de grado para optar al Título de Ingeniero Agrónomo.

Prof^a. Carmen Basso
C.I. 3.934.787
Tutora

Prof^a. Dinaba Perdomo
C.I.: 7.276.445
Jurado Principal

Ing^a. Francia Fuenmayor
C.I. 5541554
Jurado Principal

DEDICATORIA

A mis Padres Emma Díaz y Fredis Briceño, por su gran apoyo incondicional, ejemplo de lucha y perseverancia.

AGRADECIMIENTO

Primeramente a Dios por darme la capacidad de alcanzar esta meta.

A mis padres Emma Díaz y Fredis Briceño, por haber despertado en mí desde niño el interés por el estudio.

A mi hermana Emdy Briceño, por sus consejos y colaboración durante mi realización como profesional.

A la Universidad Central de Venezuela, por todas las enseñanzas de mi formación académica.

A la profesora Carmen Basso por su enorme colaboración, aporte en la redacción de este trabajo, sus sabios consejos, su valioso tiempo prestado. Muchas gracias.

A la profesora Dinaba Perdomo, por su apoyo, su preciada orientación, su aporte en las recomendaciones y por la enseñanza transmitida. Gracias de todo corazón.

A la ing. Francia Fuenmayor por su aporte, recomendaciones, su tiempo prestado y motivación. Muchas gracias.

Al Ing. Miguel Asdrúbal Arcia, por su gran colaboración para la realización del experimento.

A la compañera Lucia Gutiérrez por su enorme colaboración, en la realización del ensayo.

Al Fondo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación, ente financiador de esta investigación mediante el proyecto INUVI 2013-694.

Y todas aquellas personas que no nombre pero contribuyeron en mi realización como profesional... Muchas gracias.

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE AGRONOMIA
DEPARTAMENTO DE AGRONOMIA

Efecto de *Trichoderma harzianum* y ácido indolbutírico sobre el enraizamiento y brotación de esquejes de *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni

Br: Freddy A. Briceño D.

Tutora: Prof^a. Carmen Basso.

RESUMEN. Con la finalidad de evaluar el efecto de *Trichoderma harzianum* y ácido indolbutírico (AIB) sobre el enraizamiento y brotación de esquejes de *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni, se realizó un experimento en el Departamento de Agronomía de la Facultad de Agronomía de la UCV, bajo un diseño de experimentos de bloques al azar con cinco repeticiones. Los tratamientos consistieron en la aplicación sola o combinada de *T. harzianum* y AIB más un testigo (sin aplicación). Para ello se utilizaron 30 esquejes subapicales por unidad experimental, evaluándose 10 esquejes cada 20 días hasta los 60 días después de plantados. Los análisis de varianza detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para las variables peso fresco y número de raíces por esqueje, pero no en el caso de brotación, enraizamiento, raíz más larga, peso seco y mortalidad de los esquejes. Los resultados indicaron valores porcentuales de enraizamiento y brotación similares entre los tratamientos que oscilaron entre 80 y 85% pero el mayor número de raíces y mayor peso fresco de parte aérea se alcanzó cuando se aplicó con *T. harzianum* más AIB. Esto indica que para la obtención de un alto porcentaje de enraizamiento de esquejes de stevia, no es necesaria la aplicación de un promotor, pero los plantines obtenidos resultarán con un mejor desarrollo si se utiliza una combinación de *T. harzianum* y AIB. Por otra parte, se observó que el AIB promovió la emisión más temprana de las raíces, sin embargo a los 60 ddp el desarrollo de los esquejes fue mejor en los tratamientos con aplicación de *Trichoderma*.

Palabras clave: promotores del enraizamiento, brotación, estacas, *Stevia rebaudiana*,

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS.....	2
REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
MATERIALES Y MÉTODOS.....	9
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	11
CONCLUSIONES.....	24
RECOMENDACIONES.....	25
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	25

ÍNDICE DE FIGURAS

Nº	Título	Pág.
1	Efecto de la aplicación de <i>Trichoderma harzianum</i> y ácido indolbutírico sobre el porcentaje de esquejes de stevia con brotes y raíces, durante los 60 días de desarrollo	12
2	Efecto de la aplicación de <i>Trichoderma harzianum</i> y ácido indolbutírico sobre el número de brotes y raíces de esquejes de stevia, durante los 60 días de desarrollo.	14
3	Efecto de la aplicación de <i>Trichoderma harzianum</i> y ácido indolbutírico sobre la longitud de la raíz más larga de esquejes de stevia, durante los 60 días de desarrollo	16
4	Efecto de la aplicación de <i>Trichoderma harzianum</i> y ácido indolbutírico sobre el peso fresco aéreo, radical y total de esquejes brotados y enraizados de stevia, durante los 60 días de su desarrollo	18
5	Efecto de la aplicación de <i>Trichoderma harzianum</i> y ácido indolbutírico sobre el peso seco de la parte aérea, radical y total de esquejes de stevia durante los 60 días de su desarrollo.	21
6	Efecto de la aplicación de <i>Trichoderma harzianum</i> y ácido indolbutírico sobre el porcentaje de mortalidad de los esquejes de stevia, durante los 60 días de su desarrollo	23

INTRODUCCIÓN

La stevia [*Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertonii] es una planta considerada medicinal, cuando se utiliza en su estado natural, por sus efectos sobre el metabolismo humano, ya que se considera hipoglicemiente (especialmente en el tratamiento de la diabetes Tipo I), controla la hipertensión, regula la digestión y la circulación sanguínea, entre otros (Casaccia y Álvarez, 2006). Esta especie se puede reproducir sexualmente, pero debido a la alta heterogeneidad de las plantas obtenidas a través de semillas, la propagación agámica resulta mejor, ya que se conservan las características de la planta madre. Ésta puede ser por hijuelos, estacas y por cultivo de tejidos, siendo la propagación por estacas el método más conveniente para ser usado a escala comercial y para ello es importante contar con una plantación madre, a fin de obtener el material vegetativo inicial (Landazuri y Tigrero, 2009).

Muchos son los aspectos que deben ser considerados para el éxito del arraigamiento de estacas y entre ellos, se señalan el uso de auxinas que favorecen la formación de raíces adventicias porque modifican la extensibilidad celular al producir factores que ablandan la pared. El ácido indolbutírico (AIB) es un fitorregulador auxínico sintético comúnmente utilizado por su estabilidad, ya que es muy resistente a la oxidación por la luz, enzimas u otros agentes (Azcón-Bieto y Talón, 2000).

Por otro lado, los hongos del género *Trichoderma*, se consideran benéficos y se encuentran naturalmente en todos los suelos, siendo la especie más común *Trichoderma harzianum*, la cual se utiliza en viveros y plantaciones establecidas. Este hongo coloniza las raíces formando una capa a manera de guante protector sobre ellas, dando lugar a una simbiosis entre ambos; el hongo se alimenta y vive del exudado que producen las raíces y le confiere protección a las mismas (Macías *et al.*, 2012). También, *Trichoderma* posee metabolitos, como auxinas y otras fitohormonas, que pueden ayudar a la emisión de raíces (Fernández *et al.*, 2011).

Siendo la stevia una especie nueva para Venezuela y no existiendo reportes sobre la propagación por esquejes de los genotipos introducidos, en este trabajo se evaluaron las bondades de la aplicación de *T. harzianum* y ácido indolbutírico, como agentes promotores del enraizamiento, con la finalidad de obtener plantas de stevia sanas y vigorosas y de esta manera dar recomendaciones a los interesados en obtener plantines para su siembra comercial.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar el efecto de la aplicación de *Trichoderma harzianum* y ácido indolbutírico sobre el enraizamiento y brotación de estacas de stevia.

Objetivos específicos

- Caracterizar el comportamiento de la brotación y el enraizamiento de estacas de stevia durante los primeros 60 días después de la aplicación del *T. harzianum* y ácido indolbutírico.
- Evaluar el efecto del de la aplicación de *T. harzianum* y ácido indolbutírico sobre la acumulación de biomasa aérea y radical de las estacas enraizadas.
- Determinar el nivel de mortalidad de las estacas a los 60 días después de la aplicación de *T. harzianum* y ácido indolbutírico.

REVISIÓN DE LITERATURA

El cultivo de la stevia.

La stevia [*Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni] pertenece a la familia Asteraceae y es una planta herbácea perenne, de tallo erecto, subleñoso y pubescente. Durante su desarrollo inicial no posee ramificaciones, tornándose multicaule después del primer ciclo vegetativo, llegando a producir hasta 20 tallos en tres o cuatro años. Puede alcanzar hasta 90 cm de altura en su hábitat natural y en los trópicos supera los 100 cm (Landazuri y Tigrero, 2009).

En regiones tropicales, esta planta presenta un amplio rango de adaptación, desde los 0 hasta los 1900 msnm, pero es en los climas cálidos en donde se obtiene la mejor calidad de hojas, siendo óptimo entre 300 y 1200 msnm. Por otro lado, necesita una precipitación de 1000 a 2000 mm anuales bien distribuidos, temperaturas entre 24 y 28 °C y una humedad relativa entre 78 a 85%, con vientos moderados (Padilla, 2013).

La stevia es altamente sensible a la longitud del día; es una planta de días cortos con una longitud del día crítica de 13 h. Ya que la síntesis de glucósidos se reduce a partir de la floración, cuando ésta se retarda por los días largos habrá más tiempo para su acumulación. Así, la producción de stevia es mejor en zonas de días largos donde ocurre un mayor crecimiento vegetativo y mayor rendimiento de steviósidos (Ramesh *et al.*, 2006).

Reproducción de las plantas

Las plantas se reproducen por medio de semillas o a través de tallos u otras partes de su estructura vegetal. La reproducción sexual implica la unión de células sexuales masculinas y femeninas, la formación de la semilla y la creación de individuos con nuevos genotipos. Los descendientes pueden semejar a cualquiera de los

progenitores, a ambos o a ninguno, dependiendo de las similitudes genéticas, pero entre la descendencia de una combinación particular de progenitores puede haber una variación considerable (Hartmann y Kester, 1975). Por ello la variabilidad en la descendencia.

Por otra parte, la multiplicación sexual, esto es, la multiplicación empleando partes vegetativas de la planta original, es posible porque cada célula de la planta contiene la información genética necesaria para generar la planta entera. La multiplicación puede ocurrir mediante la formación de raíces y tallos adventicios o por medio de la unión de partes vegetativas por injerto. Las estacas de tallo y los acodos tienen capacidad para formar raíces adventicias y las estacas de raíz pueden regenerar un nuevo sistema de brote. Las hojas pueden regenerar tanto nuevas raíces como nuevos tallos. Es posible injertar entre sí una raíz y un tallo para formar una sola planta. De una célula individual se pueden iniciar nuevas plantas, ya sea en forma adventicia en plantas intactas o en sistemas de cultivo aséptico. A la propiedad de las células vegetativas vivientes de las plantas de contener toda la información genética necesaria para regenerar el organismo completo se llama totipotencia. (Hartmann y Kester, 1985).

En el caso de la propagación por estacas de tallo y estacas con yemas y hojas, solo es necesario que se forme un nuevo sistema radical, puesto que ya existe un sistema ramal o de tallo en potencia (una yema), mientras que en la estaca de raíz se debe iniciar un nuevo sistema caulinar (a partir de una yema adventicia), así como una extensión de la parte de raíz que ya existe. Por otro lado, en las estacas de hoja, se debe regenerar un nuevo sistema tanto de tallo como de raíz. Muchas células, aun en las partes maduras, tienen la capacidad de retornar a una condición meristemática y de producir nuevos sistemas de raíz, de tallo o de ambos, lo cual hace posible la propagación por estacas. De hecho, una sola célula viviente, vegetativa, aislada, contiene toda la información necesaria para regenerar una nueva planta completa. (Hartmann y Kester, 1975).

Ahora bien, para garantizar un buen enraizamiento de estacas se requiere de un sustrato adecuado, que garantice la disponibilidad de agua y nutrientes, así como un estimulador de crecimiento que favorezca la emisión de raíces (Lugo-Soto *et al.*, 2013), como es el caso de las auxinas. En este sentido, Jordán y Casaretto (2006) indican que las auxinas estimulan el crecimiento de los tallos y coleoptilos, inhiben el crecimiento de la raíz primaria, pero estimulan la formación de raíces secundarias. La concentración óptima para la elongación de tallos es entre 10^{-6} y 10^{-5} M, sin embargo, en raíces esta concentración es muy alta y retarda su crecimiento. Las auxinas además promueven la biosíntesis de la hormona etileno que inhibe el crecimiento radicular. Niveles menores a 10^{-9} M de ácido indolacético (AIA) serían capaces de inducir crecimiento de raíz.

La stevia se puede reproducir por semillas, observándose alta heterogeneidad en las poblaciones resultantes, debido principalmente a la polinización cruzada; estas semillas están dentro de aquenios, los cuales son livianos y de fácil dispersión por el viento y en muchos casos estériles. La producción de plántulas a través de semilla se realiza en almácigos convencionales, similares a los de otras hortalizas, pero con algunas recomendaciones y prácticas especiales, como poner cobertura inmediatamente después de sembrar, con una tela fina, para evitar que las semillas sean arrastradas por el viento. Dado los inconvenientes que se señalan, la propagación por medio de aquenios es útil solo para el mejoramiento genético, pero no para cultivos comerciales (Landazuri y Tigrero, 2009).

La propagación por estacas es la más usada comercialmente a nivel mundial en este cultivo (Shock, 2015). Al respecto, Casaccia y Álvarez, (2006) plantean que al disponer de una variedad con características agronómicas deseadas, las cuales se quieren mantener inalterables en el tiempo, se utiliza la técnica de multiplicación vegetativa para la producción de plantines o mudas. En ningún caso se deberá recurrir a la utilización de la semilla botánica de variedades clonadas para la producción de mudas, pues al sembrar sus semillas, ocurrirá segregación genética y los descendientes diferirán de las plantas madres.

Algunas investigaciones sobre la propagación de stevia por estacas se han realizado usando reguladores de crecimiento. En este sentido, Koppad y Umarbadshah (2006), trabajando en India, evaluó el efecto de los reguladores de crecimiento en la propagación de estacas de tallo de stevia. Ellos utilizaron AIA y cumarina a diferentes concentraciones (100, 300 y 500 mg/L). En los esquejes se evaluó el enraizamiento y la longitud de la raíz a los 15, 25 y 35 días con muestreos destructivos. El número de raíces fue mayor en esquejes de stevia que se sumergieron en 500 ppm de IAA, seguido del tratamiento con 300 ppm de cumarina.

Por su parte, Ingle y Venugopal (2009) evaluaron el efecto de otros reguladores de crecimiento sobre el enraizamiento en stevia. El experimento se realizó bajo niebla intermitente, operado con un temporizador automático ajustado a 60 segundos de nebulización con un espacio de 6 minutos. Se cortaron esquejes apicales de 15 cm de altura con 6 a 8 nudos, luego se sumergieron en concentraciones de 50, 100, 200, 300, 400 y 500 ppm ácido indolbutírico (AIB) solo o combinado con 50 ppm y 100 ppm de ácido naftalenacético (ANA), más un testigo sin aplicación de auxinas. Las evaluaciones se realizaron un mes después de la aplicación mediante muestreos destructivos de los esquejes. Con la concentración de 500 ppm de AIB fue mayor la longitud del vástago (37,82 cm), el número de hojas (37,68), el número de raíces (49,96), la longitud de raíz (14,05 cm), el peso seco de las raíces (0,290 g) y el porcentaje de enraizamiento (92%), seguida de AIB a 400 ppm.

Otras experiencias con especies distintas también demuestran los efectos de los reguladores de crecimiento sobre la propagación por estacas. Así, Hernández *et al.*, (2005) en Colombia, evaluaron la influencia del ácido indolbutírico y el ácido naftalenacético sobre el enraizamiento de esquejes de caña flecha (*Gynerium sagittatum* Aubl.). Los tratamientos evaluados correspondieron a dosis de 0, 400, 800, 1200, 1600 y 2000 mg/L de AIB, ANA y AIB+ANA. Se evaluaron las variables número de raíces, longitud máxima de raíces, masa seca de raíces, porcentaje de enraizamiento, número de brotes, número de hojas y longitud máxima de brotes. El

AIB a 2000 mg/L propició el mayor número de raíces por estaca y cuando se utilizó ANA a 400 mg/L y AIB + ANA a 1200 mg/L se logró obtener un 100% de estacas enraizadas, en tanto que con el testigo se alcanzó 75 % de enraizamiento.

Por otra parte, Latsague *et al.* (2009) evaluaron el efecto del ácido indolbutírico sobre la capacidad rizogénica de estacas de *Eucryphia glutinosa.*, especie endémica de Chile que actualmente se encuentra con problemas de conservación. En consideración a esto, el objetivo del trabajo fue evaluar su capacidad reproductiva mediante rizogénesis de estacas, las cuales fueron tratadas con ácido indolbutírico durante 15 minutos en distintas concentraciones (0, 250, 500, 1.000 y 1.500 mg/L). Se evaluaron los porcentajes de supervivencia, de formación de callo y de enraizamiento. Los mejores resultados se produjeron a la concentración de 500 mg/L de AIB, con un 56,5% de enraizamiento.

Oberschelp y Marcó (2010) evaluaron el efecto del ácido 3-indolbutírico sobre el enraizamiento y la altura de plantines clonales de *Prosopis alba* Grisebach. Las estacas obtenidas permanecieron 40 días bajo condiciones controladas de humedad y temperatura en módulo de propagación y posteriormente fueron trasladadas a vivero; luego se sumergieron 10 minutos en Benomil 0,2% p/v y la base de las estacas (2 cm) se sumergió durante 10 segundos en ácido 3-indolbutírico (sal potásica) disuelto en agua destilada a concentraciones de 0; 2,5; 5 y 10 mg/L. Las distintas dosis de AIB influyeron en forma significativa sobre el enraizamiento de estacas de consistencia herbácea, siendo el testigo y los tratamientos de 2,5 y 5 mg/L los que exhibieron altas tasas de enraizamiento respecto al de 10 mg/L.

Con relación al uso de *Trichoderma* spp. y sus efectos sobre el enraizamiento de esquejes la información es limitada, más aun en el cultivo de stevia, encontrándose un solo trabajo publicado en India por Smitha y Umesha (2012). Estos autores, evaluaron la propagación de stevia usando esquejes de tallos, los cuales fueron colocados en condiciones de sombra natural de cereza de Singapur (*Muntingia calabura* L.) e invernadero con niebla intermitente. Ellos probaron cuatro medios de

enraizamiento (proporciones iguales de tierra y arena; arena, tierra y estiércol de corral; tierra, arena y vermicompost y tierra, arena y aserrín de coco) y seis reguladores de crecimiento y bio-inoculantes (control, IBA 500 ppm, IBA 1000 ppm, IBA 2000 ppm, *Trichoderma viride* y orina de vaca). A los 60 días se realizaron muestreos destructivos y los resultados indicaron que los esquejes tratados con *T. viride* y colocados en tierra, arena y vermicompost, bajo condiciones de invernadero, registraron mejor brotación y parámetros de crecimiento radical, además de un mejor establecimiento en campo (90%), frente a otras combinaciones de tratamientos.

Por otra lado, En *Ixora coccinea var. coccinea*, Fernández *et al.* (2011) en Cuba, evaluaron alternativas para el enraizamiento de estacas. Se realizaron dos ensayos, uno en cámara húmeda y otro en condiciones naturales. Los factores evaluados fueron estacas de distintas secciones de ramas (apicales y subapicales) y formulados de *Trichoderma harzianum* cepa A-34 en estado sólido y líquido en dosis de 0, 30, 125, 250 y 500 g/L y mL/L.. A los 45 días de iniciado el experimento, en condiciones de cámara húmeda se logró un 100 % de supervivencia, así como un nivel de enraizamiento del 92,5% para las estacas apicales y un 40% para las subapicales. La aplicación de *Trichoderma*, en ambas formulaciones, a dosis de 500 g/L y mL/L, incrementó el enraizamiento en estacas apicales en mayor número de raíces por estaca, mayor longitud y grosor de raíces.

En *Gardenia jasminoides* N. W. Ellis, Navarro *et al.* (2010) evaluaron la influencia de *T. harzianum* sobre el enraizamiento de estacas. Para ello se condujo un experimento, donde se evaluó el efecto la cepa Rifai a una concentración de 10 g/L. Se evaluaron ocho tratamientos de 25 estacas cada una, que incluyeron dos testigos de estacas subapicales y apicales y tres formas de aplicación a tales estacas (aplicación al sustrato, a la estaca y tanto a la estaca como el sustrato) a la dosis mencionada. A los 60 días de iniciado el experimento se consideró que las estacas tenían un desarrollo adecuado para pasar a la fase de adaptación obteniéndose los mejores niveles de enraizamiento con este bioproducto para las subapicales con

tratamiento aplicado tanto a la estaca como al sustrato (92%) y al sustrato (76 %); luego les siguió en forma descendente el tratamiento aplicado solo a la estaca.

La antes expuesto demuestra que el uso de reguladores de crecimiento y *T. harzianum* representan una alternativa viable para promover el enraizamiento de estacas de stevia para el logro de plantines vigorosos, aptos para un buen establecimiento y desarrollo en campo.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se realizó en el Departamento de Agronomía de la Facultad de Agronomía de la UCV, Campus Maracay, bajo condiciones protegidas. El diseño experimental utilizado fue de bloques al azar con cuatro tratamientos y cinco repeticiones. Cada unidad experimental estuvo conformada por 30 esquejes subapicales, a los cuales se le aplicaron los siguientes tratamientos:

T1= Testigo (sin *Trichoderma harzianum* y sin ácido indolbutírico).

T2= Con *T. harzianum* (Producto TRICO-PLUS-A, con una concentración de 2×10^{11} UFC en 30 g).

T3= Con ácido indolbutírico (producto comercial en polvo con 0,1% de ácido indol-3-butírico).

T4= con *T. harzianum* y ácido indolbutírico.

Para el enraizamiento se utilizaron bandejas de polipropileno con sustrato a base de turba (Sunshine N° 5) y se usaron esquejes de diámetro similar con seis nudos, obtenidos de plantas madres de un año de edad creciendo en condiciones protegidas (casa de cultivo). Los esquejes luego de cortados, se colocaron en agua para evitar su deshidratación y seguidamente se procedió a eliminar la yema apical, las hojas de los últimos nudos y la mitad de la lámina de las hojas restantes, para de esta manera proceder a aplicar los tratamientos.

Los esquejes del tratamiento testigo (T1) se colocaron directamente en el sustrato. El *T. harzianum* (T2 y T4) fue aplicado sumergiendo los dos últimos nudos del esqueje durante 25 minutos en una suspensión de $3,2 \times 10^8$ UFC/mL, lograda al diluir 19,2 g de TRICO-PLUS-A en 400 mL de agua. Para el caso de los tratamientos con ácido indolbutírico (T3 y T4), el extremo basal húmedo con un nudo, fue impregnado con polvo del producto comercial. Los esquejes fueron enterrados hasta cubrir los dos últimos nudos y se colocaron en una cámara húmeda construida con alambre y plástico transparente, en donde permanecieron 20 días bajo techo de acerolit, regando cada 5 días. Luego de superada esta fase, se eliminó la cámara húmeda y se llevaron a una casa de vidrio donde se procedió a regar diariamente y se realizaron aplicaciones al sustrato, también en frecuencia diaria, de humus líquido de lombriz en concentración de 12,5 mL/L hasta los 40 días después de plantados (ddp); luego se aplicó una solución de 0,45 g/L del fertilizante 18-18-18 en dosis de 20 mL por plantín, cada 2 días.

Las evaluaciones se realizaron mediante tres muestreos de 10 esquejes cada 20 días y se llevó un registro de las siguientes variables:

- Brotación (%): se evaluó el porcentaje de esquejes brotados con y sin raíces, considerándose como yema brotada aquella que presentó 1 o más cm de longitud.
- Enraizamiento (%): Se evaluó el porcentaje de esquejes con y sin brotes, que presentaron emisión de raíces.
- Número de brotes por esqueje: se contaron todos los brotes con 1 o más cm de longitud.
- Numero de raíces por esqueje: Se contaron todas las raíces presentes en cada esqueje.
- Longitud de la raíz más larga (mm) se midió con una cinta milimetrada, la longitud de la raíz más desarrollada.

- Peso fresco y seco de la planta formada (mg/planta). Se determinó el peso fresco de la parte aérea y radical y el peso fresco total y seguidamente se colocó en estufa a 70°C hasta alcanzar peso seco.
- Esquejes muertos (%). Se consideró esqueje muerto cuando se observó necrosis en la mitad inferior, sin emisión de raíces.

Los resultados fueron sometidos a análisis de la varianza y prueba de medias de Waller-Duncan. Cuando no se cumplieron los supuestos correspondientes se realizó la prueba de Friedman, siguiendo las recomendaciones de Santos *et al.* (2005).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación se presentan los resultados para las diferentes variables a los 20, 40 y 60 días después de la aplicación de los tratamientos.

1. Comportamiento de la brotación y enraizamiento de los esquejes durante los primeros 60 días de desarrollo.

Porcentaje de esquejes con brotes y raíces. Los análisis de la varianza indicaron que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para las variables brotación y enraizamiento en ninguno de los días evaluados. Estos resultados coinciden con los conseguidos por Smitha y Umesha (2012), quienes no encontraron diferencias significativas al evaluar el efecto *T. viride* y AIB sobre el porcentaje de enraizamiento y brotación de los esquejes de stevia, comportándose de manera similar los esquejes tratados con *T. viride* y los tratados con AIB.

En la Figura 1 se presentan los resultados de esquejes (a) brotados y enraizados, (b) no brotados-ni enraizados, (c) brotados-no enraizados y (d) enraizados-no brotados, a los 20, 40 y 60 días después de iniciados los tratamientos.

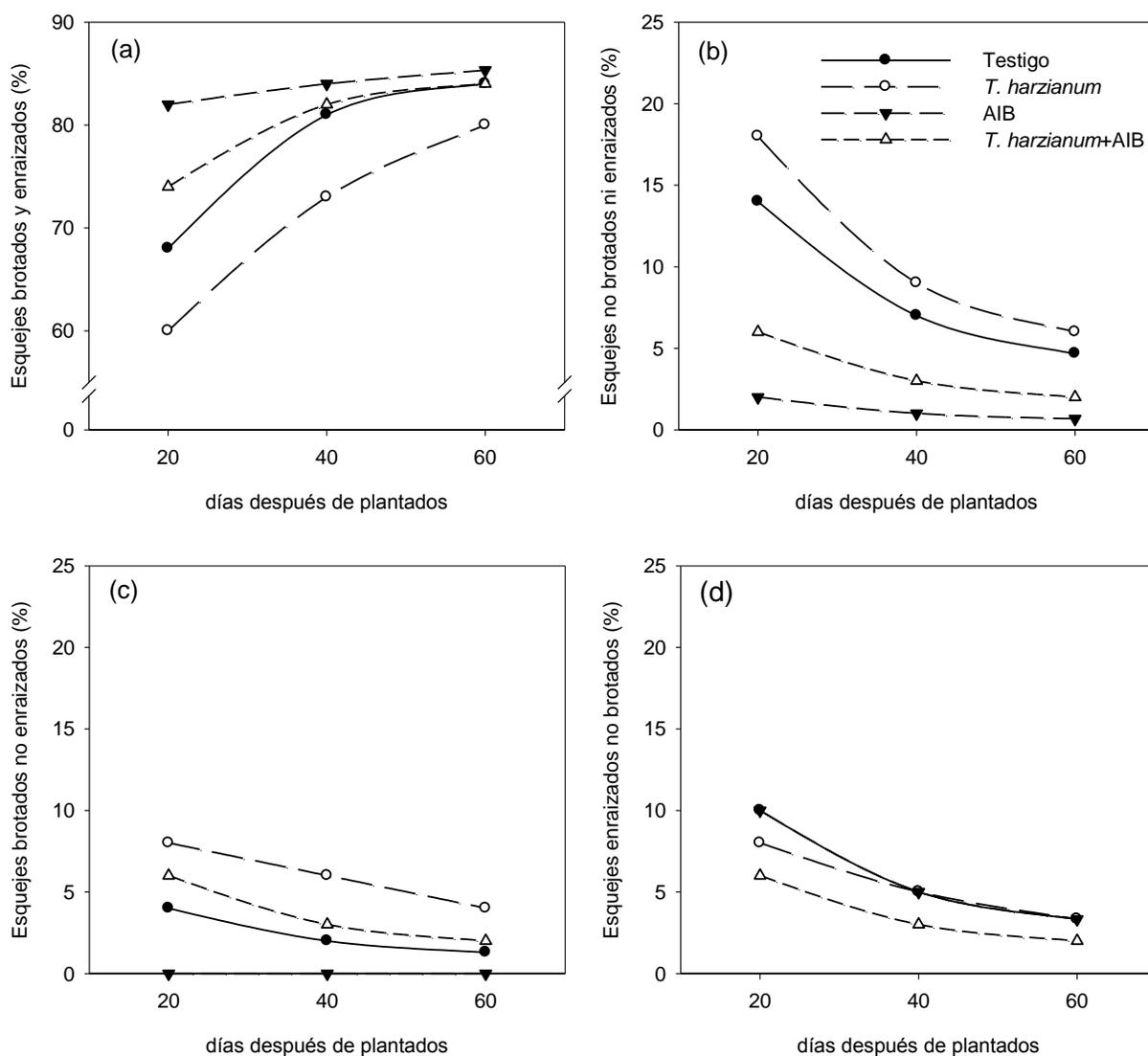


Figura 1. Efecto de la aplicación de *Trichoderma harzianum* y ácido indolbutírico sobre el porcentaje de esquejes de stevia (a) brotados y enraizados, (b) no brotados ni enraizados, (c) brotados no enraizados y (d) enraizados no brotados, durante los 60 días de desarrollo.

Como se puede observar, el mayor porcentaje dentro de las variables de brotación y enraizamiento, fue de esquejes brotados y enraizados, seguido en proporción muy inferior el porcentaje de esquejes no brotados-ni enraizados y en un nivel más bajo, los esquejes enraizados-no brotados y brotados-no enraizados.

Con relación al comportamiento en el tiempo, se observó que a los 20 días después de plantados (ddp) los porcentajes de esquejes con brotes y raíces variaron entre 60 y 82%, siendo el valor más alto el correspondiente al tratamiento con aplicación de AIB, mientras que el tratamiento con *T. harzianum*, presentó el menor valor. Con el tiempo el porcentaje de brotación y enraizamiento de los esquejes tratados con *T. harzianum* y el testigo fueron incrementándose, razón por la cual a los 60 días del ensayo, se presentaron valores muy similares, entre 80 y 85%.

Tal como puede observarse, el AIB estimulo la emisión de brotes y raíces de manera más temprana, ya que a los 20 días hubo un mayor porcentaje de esquejes no brotados ni enraizados cuando se aplicó *Trichoderma harzianum* solamente y el testigo (sin AIB, ni *Trichoderma harzianum*), mientras que los esquejes que fueron tratados con AIB presentaron los menores porcentajes en esta variable; el porcentaje disminuyó con el tiempo en los esquejes tratados con *Trichoderma harzianum* solamente y el testigo, cuando los esquejes emitieron brotes o raíces. Al respecto, Hartman y Kester (1975) indican que la mayoría de las estacas de las plantas herbáceas, muestran un definitivo aumento en su enraizamiento al ser tratadas con reguladores de crecimiento; su efecto principal es aumentar la velocidad del enraizamiento y la producción de mayor número de raíces.

Respecto a las demás variables cabe destacar que, en líneas generales, hubo un porcentaje ligeramente mayor de esquejes enraizados sin brotes, que aquellos con brotes pero sin raíces; estos últimos esquejes no se observaron cuando se aplicó AIB.

Número de brotes y raíces. En el caso de estas variables, los análisis de la varianza indicaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos solo para el número de raíces por esqueje a los 20 y 60 ddp ($p \leq 0,05$), pero no para número de brotes por esqueje en ninguna de las evaluaciones realizadas. En la Figura 2 se presentan los valores promedio alcanzados por ambas variables en todos los tratamientos.

Como se observa, con el tiempo, tanto el número de brotes como de raíces por esqueje fue incrementándose. En el caso de los brotes, el mayor incremento se observó entre los 40 y 60 ddp, mientras que en el caso de las raíces emitidas, esto ocurrió entre los 20 y 40 ddp.

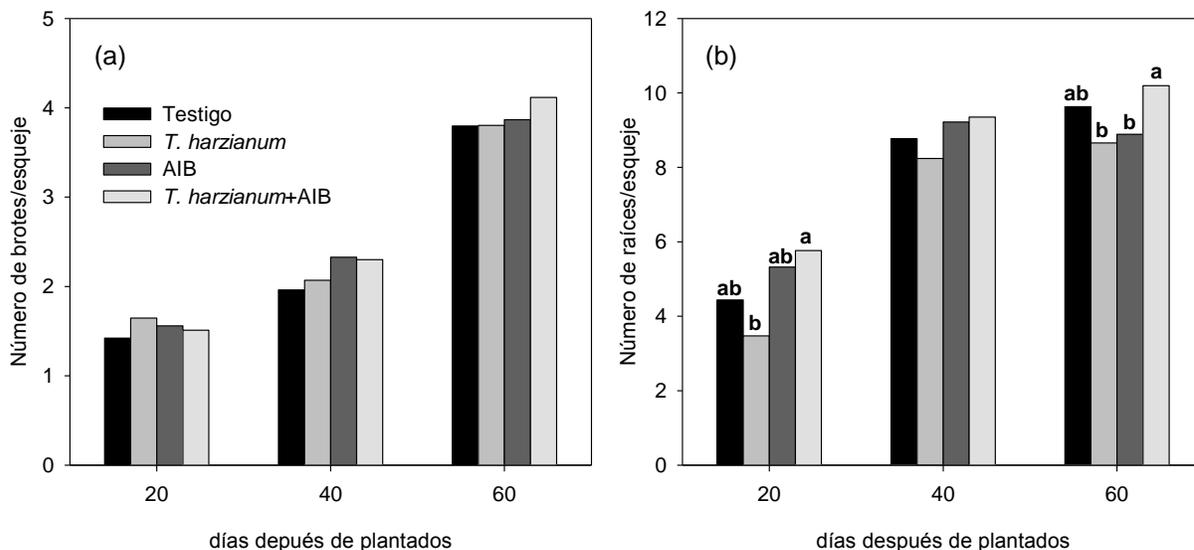


Figura 2. Efecto de la aplicación de *Trichoderma harzianum* y ácido indolbutírico sobre (a) el número de brotes y (b) raíces emitidos por los esquejes de stevia, durante los 60 días de desarrollo.

Con respecto al número de brotes, a los 20 días se observaron entre 1 y 2 por esquejes, pasando a valores ligeramente superiores a 2 a los 40 ddp, pero a los 60 días se contaron cerca de 4 brotes/esquejes; los valores en cada evaluación fueron muy similares entre los tratamientos.

En el caso del número de raíces por esqueje, a los 20 días se observó un valor estadísticamente superior en el tratamiento donde se aplicó AIB junto con *T. harzianum* (5,76 raíces), seguido por los esquejes de los tratamientos con AIB solamente (5,32 raíces) y el testigo (4,44 raíces) con número similar de raíces por

esqueje; el valor más bajo lo presentaron los esquejes tratados solo con *T. harzianum* (3,47 raíces).

Posteriormente, a los 40 días, no hubo diferencias estadísticamente significativas, alcanzado un número similar de raíces en todos los tratamientos; en ese momento el número de raíces varió entre 8,24 cuando se aplicó *T. harzianum* hasta 9,35 cuando se aplicó AIB con *T. harzianum*. Al finalizar el ensayo (60 ddp), el valor más alto se observó en los esquejes tratados tanto con *T. harzianum* más AIB (10,19 raíces) el cual resultó estadísticamente diferente a los esquejes los tratados con AIB (8,89 raíces) y *T. harzianum* (8,65 raíces). El testigo presentó valores intermedios (9,63 raíces), ligeramente diferentes de los demás tratamientos. Estos resultados indican por una parte, que hubo un efecto ligeramente potenciador sobre la emisión de raíces, al aplicar *T. harzianum* junto con AIB y por otra, que la stevia es capaz de emitir raíces sin la utilización de algún producto como enraizante.

Esto coincide con lo reportado por Solano *et al.* (2015), quienes encontraron en *Gmelina arborea*, un mayor número de raíces por estaca al utilizar metabolitos de dos aislados nativos de *Trichoderma spp.* en combinación con ácido indolbutírico. Sin embargo, Clouston *et al.* (2010), trabajando con *Impatiens walleriana*, obtuvieron valores similares tanto en esquejes tratados con AIB, como con *Trichoderma spp.* para los parámetros de crecimiento radical. Por su parte, Alvarado y Álvarez (2014) al estudiar la propagación asexual de la uchuva (*Physalis peruviana* L.), encontraron que el AIB favoreció el crecimiento de raíces más que la aplicación de *Trichoderma*, pero a concentraciones menores a 800 mg/L esto no fue observado a concentraciones superiores.

Con relación a esta misma variable, la respuesta del testigo fue diferente a lo reportado por Khalil *et al.* (2014), quienes encontraron el mayor número de raíces (24,0) a los 90 ddp, al sumergir estacas de stevia en una solución AIB a 500 ppm; esto en comparación con el control, sin ninguna aplicación (12,35). De igual forma, los resultados de Navarro *et al.* (2010), trabajando con estacas de *Gardenia*

jasminoides, indicaron el desarrollo de un mayor número de raíces por esqueje al utilizar *T. harzianum* en comparación a un testigo sin aplicación, contrario a lo encontrado en esta investigación.

2. Comportamiento de la longitud de la raíz más larga de los esquejes durante los primeros 60 días.

Los análisis de la varianza indicaron que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para la variable longitud de la raíz más larga durante los primeros 60 días de iniciados los tratamientos. En la Figura 3 se presentan los resultados para los 20, 40 y 60 días después de iniciados los tratamientos.

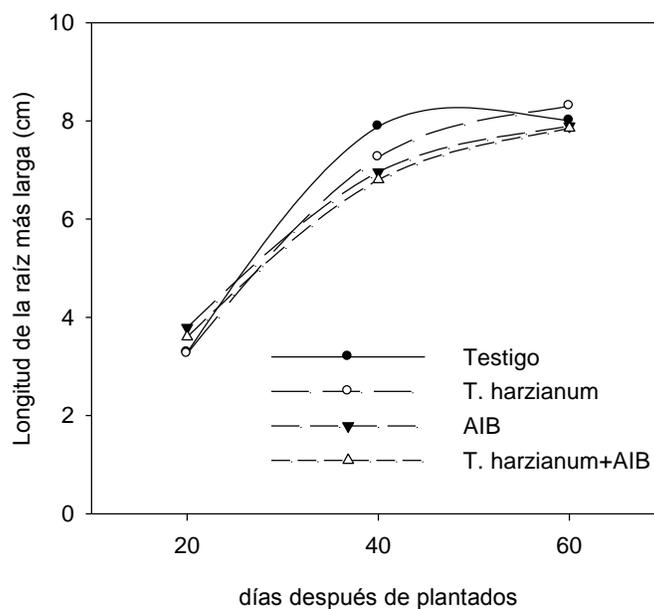


Figura 3. Efecto de la aplicación de *Trichoderma harzianum* y ácido indolbutírico sobre la longitud de la raíz más larga de esquejes de stevia, durante los 60 días de desarrollo.

Estos resultados indicaron que el crecimiento de la raíz más larga ocurrió más rápido entre los 20 y 40 días; a los 20 días la longitud osciló entre 3,26 cm y 3,79 cm, pasando a los 40 días a valores comprendidos entre 7,26 cm y 8,30 cm, con el mayor valor en el caso del testigo. Entre los 40 y 60 ddp el crecimiento fue más lento, sin observarse cambios en la longitud de la raíz de los esquejes del tratamiento testigo. Al final del ensayo, los valores fueron muy similares, con medias entre 7,85 y 8,30 cm.

Los resultados de Smitha y Umesha (2012) coinciden en el caso de esta variable, al determinar que las aplicaciones de *T. viride* y AIB no afectaron la longitud de la raíz más larga en esquejes de stevia.

2. Efecto de los tratamientos sobre la acumulación de biomasa aérea y radical de las estacas enraizadas durante los primeros 60 días de desarrollo

Materia fresca de parte aérea, parte radical y total. Los análisis de la varianza indicaron que hubo diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para las variables peso fresco aéreo ($p \leq 0,01$), radical ($p \leq 0,05$) y total ($p \leq 0,01$) a los 20 y 60 días de iniciados los tratamientos. En la Figura 4 se presentan los resultados, y como se observa, el crecimiento de la parte aérea fue más lento entre los 20 y 40 días, mientras que para ese mismo período, se observó una mayor tasa de crecimiento en el caso de las raíces. Por el contrario, entre los 40 y 60 días hubo un mayor crecimiento de los brotes disminuyendo la tasa de acumulación de la biomasa radical.

Con relación a las diferencias encontradas, a los 20 días los esquejes de los tratamientos con aplicación de *T. harzianum* junto con AIB y AIB solamente presentaron los mayores valores de peso fresco de la parte aérea (373,4 mg y 365,0 mg respectivamente), los cuales fueron estadísticamente diferentes de los alcanzados en el testigo (301,0 mg) y en el tratamiento con *T. harzianum* (297,4 mg

mg), lo que sugiere que el AIB al inicio tuvo un efecto promotor sobre la acumulación de materia fresca de la parte aérea en los esquejes. A los 40 días no fueron observadas diferencias significativas, sin embargo, al final del ensayo (60 ddp) resultó superior la aplicación de *T. harzianum* más AIB alcanzando un peso de 1255,20 mg, seguido por los demás tratamientos con valores estadísticamente similares que variaron entre 1000,40 y 1104,8 mg.

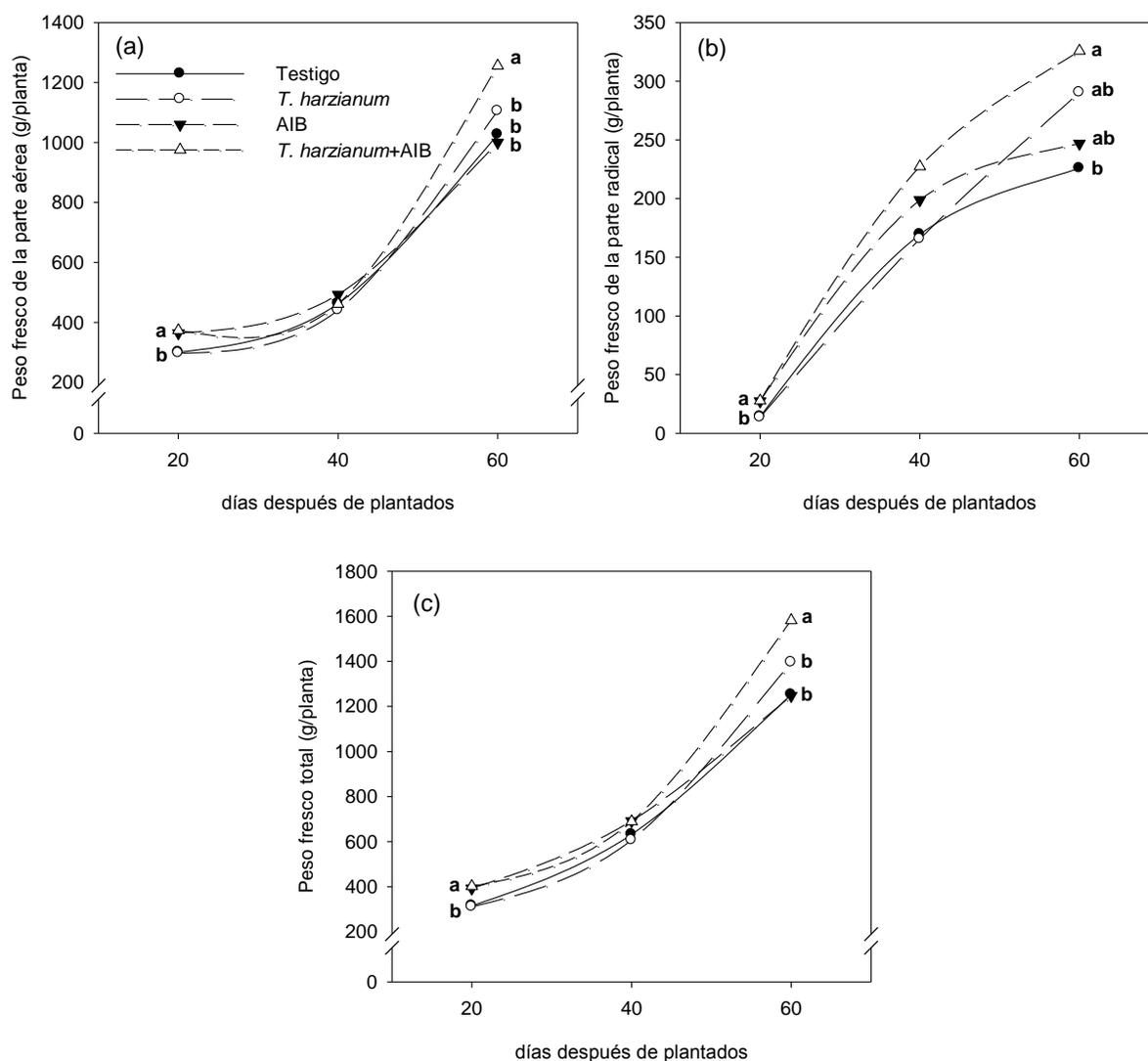


Figura 4. Efecto de la aplicación de *Trichoderma harzianum* y ácido indolbutírico sobre (a) el peso fresco aéreo, (b) radical y (c) total de esquejes brotados y enraizados de stevia, durante los 60 días de su desarrollo.

Respecto al peso fresco radical, en la primera evaluación (20 ddp) se observaron diferencias estadísticas significativas, con un comportamiento similar al peso fresco de la parte aérea. Los mayores valores se observaron con las aplicaciones de *T. harzianum* junto con AIB (27,6 mg) y AIB (27,4 mg), los cuales estuvieron por encima del testigo (14,20 mg) y del tratamiento con *T. harzianum* (13,4 mg) solamente. En la segunda evaluación (40 ddp), los análisis indicaron que no hubo diferencias entre los tratamientos, sin embargo, se observó que la aplicación *T. harzianum* con AIB también arrojó valores por encima de los demás tratamientos (227,2 mg). Al final del ensayo (60 ddp), el peso fresco de las raíces fue estadísticamente superior en este mismo tratamiento (325,8 mg), seguido por aquellos donde se aplicó solamente *T. harzianum* (290,4 mg) o AIB (247,0 mg) y finalmente por el testigo (225,8 mg).

Por otra parte, los resultados para el peso fresco total indicaron que a los 20 ddp se presentaron valores estadísticamente superiores en los tratamientos con aplicación de *T. harzianum* más AIB (401,0 mg) y AIB solamente (392,0 mg), seguido del testigo (315,00 mg) y el tratamiento con *T. harzianum* (311,00 mg) solamente. A los 40 ddp no se detectaron diferencias, sin embargo, a los 60 ddp, la aplicación de *T. harzianum* con AIB permitió obtener el mayor valor (1581,00 mg), diferente estadísticamente del resto que alcanzaron valores promedios entre 1247 y 1395 mg.

Lo antes mencionado, corrobora nuevamente que la combinación de *T. harzianum* con AIB causó un efecto potenciador al promover mayor biomasa fresca, tanto aérea como radical, tal como fue indicado por Solano *et al.* (2015). Por otra parte, Mackenzie y Starman (1995) demostraron las bondades de *Trichoderma harzianum* sobre el peso fresco y seco de las raíces en crisantemo (*Dendranthema x grandiflorum*) y de igual manera, Santos *et al.* (2010) encontraron que el uso de *Trichoderma* spp. aumentó el peso fresco y seco de las plantas desarrolladas a partir de esquejes en parchita maracuyá (*Passiflora edulis* Sims.). Esta respuesta también fue reportada por Ortuño *et al.* (2013), al observar un mayor peso de las hojas y de las raíces en lechuga (*Lactuca sativa*) y rábano (*Raphanus sativus*) cuando se aplicaron diferentes cepas de *Trichoderma*. Respecto al AIB, Khalil *et al.* (2014),

encontraron un mayor peso fresco de las raíces cuando aplicaron reguladores de crecimiento para el enraizamiento de estacas de stevia (AIB y ANA) en comparación con el control, similar a lo observado en esta investigación.

Materia seca de parte aérea, radical y total. Los análisis de la varianza indicaron que hubo diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos solo para el peso seco de raíces a los 20 ddp ($p \leq 0,05$). En la Figura 5 se presentan los valores promedios de peso seco de la parte aérea, radical y total para todas las evaluaciones. Como puede observarse, el peso seco de la parte aérea presentó un mayor incremento entre los 40 y 60 ddp y en el caso de las raíces, el incremento fue mayor entre los 20 y 40 ddp. Este comportamiento fue similar el observado para el peso fresco, pero no en el caso de la acumulación de biomasa entre los 40 y 60 días que para el peso seco fue poco marcada, lo que sugiere que en ese período hubo una mayor acumulación de agua en los tejidos radicales.

Con relación al peso seco de las raíces, a los 20 ddp el mayor valor se observó cuando se aplicó AIB solamente (5,6 mg), seguido por el tratamiento de *T. harzianum* más AIB (3,8 mg). Los dos tratamientos restantes presentaron los menores pesos (2,4 mg con *T. harzianum* y 1,5 para el testigo). A pesar de que el AIB en la primera evaluación demostró estimular el enraizamiento, este efecto no fue notable en las siguientes evaluaciones al no detectarse diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para ninguna de las variables; sin embargo, a los 60 días, los tratamientos con mayores pesos de parte aérea, radical y total se observaron en los esquejes tratados con *T. harzianum* más AIB y con *T. harzianum* solamente, observándose los menores valores de peso seco el tratamiento con AIB.

Los resultados obtenidos en este trabajo indican que si bien las estacas de stevia pueden emitir fácilmente raíces sin necesidad de utilizar algún enraizante, alcanzando altos porcentajes de enraizamiento, las bondades del uso de *Trichoderma* y AIB se ven reflejadas en el logro de un mayor número de raíces y

mayor peso de los plantines, lo cual sería un indicativo de un mejor desarrollo de los mismos.

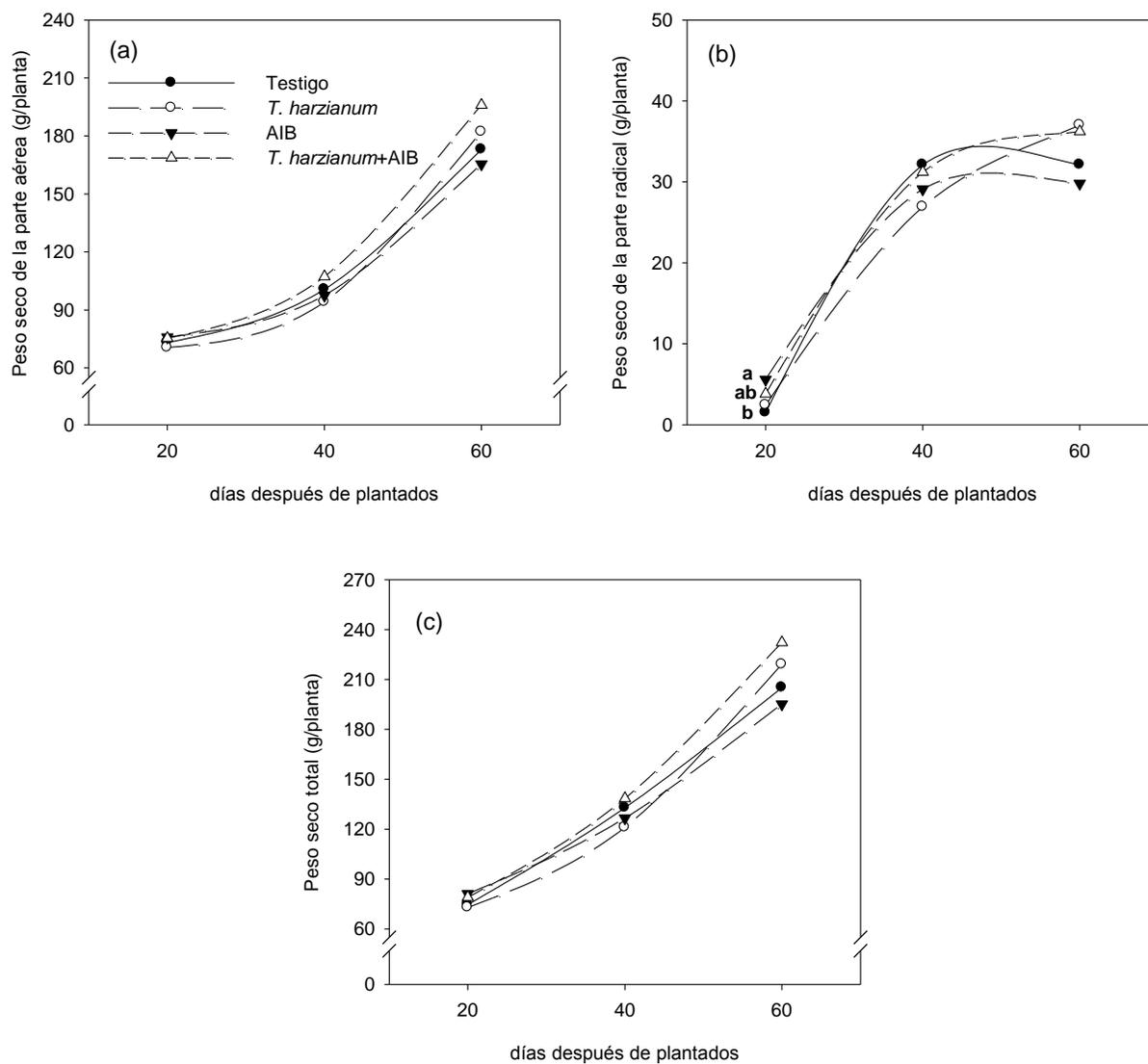


Figura 5. Efecto de la aplicación de *Trichoderma harzianum* y ácido indolbutírico sobre (a) el peso seco de la parte aérea, (b) radical y (c) total de esquejes de stevia durante los 60 días de su desarrollo.

El AIB, así como de otros reguladores, ha sido ampliamente usado como promotor del enraizamiento, y en los últimos años ha cobrado interés la aplicación de cepas de *Trichoderma*, no solo por ser un antagonista para el control de enfermedades en plantas producidas por hongos en el mundo (Kubicek y Harman, 2002), sino por ser promotor del crecimiento (Harman, 2006). En este sentido, se ha señalado que algunos aislamientos tienen la capacidad de producir ácido indolacético (Gravel *et al.*, 2007; Contreras-Cornejo *et al.*, 2009), una hormona inductora del crecimiento, lo que explicaría sus efecto sobre el enraizamiento y desarrollo de los plantines de stevia.

3. Efecto de los tratamientos sobre el nivel de mortalidad de las estacas.

El análisis de la varianza indicó que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para el porcentaje de mortalidad a los 20, 40 y 60 días de iniciados los tratamientos.

En la Figura 6 se presentan los resultados y como puede observarse la mortalidad de esquejes ocurrió hasta los 40 ddp. Los valores resultaron relativamente bajos, indicando un alto nivel de supervivencia de los plantines de stevia obtenidos a partir de esquejes. Los mayores niveles de mortalidad se observaron en el tratamientos de *T. harzianum* con AIB y AIB solamente, alcanzándose al final del ensayo 13,3 y 12,0 % respectivamente. En el caso del testigo se determinó 8 % de mortalidad y para el tratamiento en donde se aplicó *T. harzianum* solamente, un 6,7%. Llama la atención que con la aplicación de AIB en la presentación utilizada, la mortalidad fue del 50% más al compararlo con el tratamiento de solo *Trichoderma*.

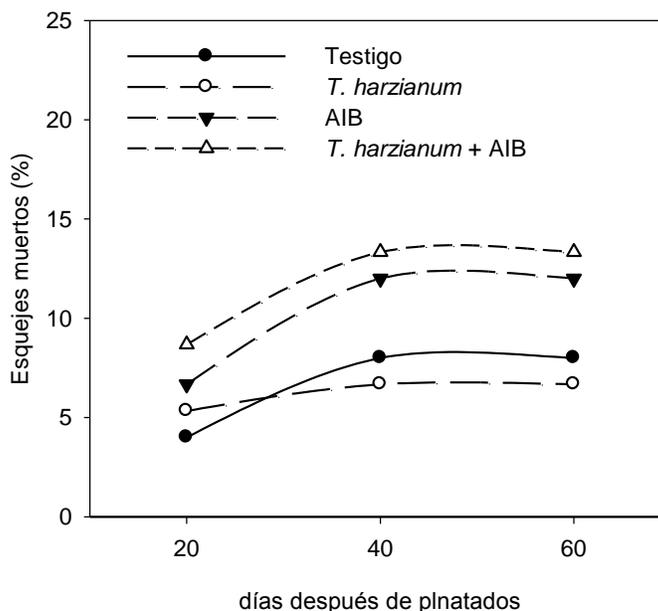


Figura 6. Efecto de la aplicación de *Trichoderma harzianum* y ácido indolbutírico (AIB) sobre el porcentaje de mortalidad de esquejes de stevia, durante 60 días de su desarrollo.

Los resultados obtenidos coinciden con los reportados por Solano *et al.* (2015), quienes no encontraron diferencias estadísticas significativas en el porcentaje de mortalidad de brotes de melina cuando se aplicaron metabolitos de dos aislados nativos de *Trichoderma* spp. y ácido indolbutírico, solos o combinados. Por otra parte, Kassahun y Mekonnen (2012) encontraron altos y similares porcentajes de supervivencia (mayores de 80%) en esquejes de stevia, tratados con AIB al 0,2% y el tratamiento control (sin aplicación). De igual forma, Khalil *et al.* (2014) reportaron iguales valores de mortalidad (11,11%) en estacas de stevia, al utilizar AIB en dosis de 500 ppm y un testigo sin aplicación de este regulador de crecimiento.

CONCLUSIONES

Con respecto a los resultados obtenidos en la presente investigación se llegaron a las siguientes conclusiones:

- El porcentaje de esquejes brotados y enraizados, así como el número de brotes y la longitud de la raíz más larga, no fueron afectados por la aplicación de *Trichoderma harzianum* ni AIB.
- El número de raíces emitidas varió entre los tratamientos evaluados, alcanzándose el mayor valor con la aplicación *T. harzianum* combinado con AIB.
- El mayor peso fresco de parte aérea, radical y también se alcanzó en el tratamiento con *T. harzianum* más AIB.
- Se obtuvieron altos porcentajes de enraizamiento de esquejes de stevia sin necesidad de aplicar algún promotor, sin embargo los plantines obtenidos resultaron con menor desarrollo en comparación con los tratados con *T. harzianum* o AIB.
- El AIB promovió la emisión más temprana de las raíces, sin embargo a los 60 ddp el desarrollo de los esquejes fue mejor en los tratamientos con aplicación de *Trichoderma*.
- El mayor porcentaje de mortalidad de las estacas de stevia se observó en los primeros 40 ddp pero no fue significativamente afectada por la aplicación de *Trichoderma* ni AIB.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda la aplicación de *Trichoderma harzianum* más AIB a las concentraciones evaluadas para la propagación comercial de este cultivo.
- Evaluar la respuesta al establecimiento en campo de los esquejes enraizados bajo los tratamientos evaluados.
- A fin de obtener resultados más precisos, que contribuyan a mejorar la propagación comercial de la stevia a partir de esquejes, se recomienda evaluar otras dosis y formas de aplicación de *Trichoderma harzianum*, incluyendo la adición de otros reguladores de crecimiento; igualmente, realizar muestreos más frecuentes durante los primeros 20 ddp a fin de determinar el inicio de emisión de raíces y de esta manera el período dentro de la cámara húmeda para prevenir la deshidratación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alvarado, O.; J. Álvarez. 2014. Efecto del ácido indol-3-butírico y *Trichoderma harzianum* Rifai en la propagación asexual de uchuva (*Physalis peruviana* L.). *Agronomía Colombiana* 32(3): 326-333.

Azcón-Bieto, J.; M. Talón. 2000. *Fundamentos de Fisiología Vegetal*. Ediciones McGraw-Hill Interamericana. Barcelona, España. 522 p.

Casaccia, J.; E. Álvarez. 2006. Recomendaciones técnicas para una producción sustentable del ka'a he'e (*Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni) en el Paraguay. Manual Técnico N° 8. Ministerio de Agricultura y Ganadería, Dirección de Investigación Agrícola. Disponible en: http://www.steviaparaguaya.com.py/recomendaciones-tecnicas_kaahee.pdf. (Consultado: 10/10/2014).

Clouston, A. ; R. Hill; R. Minchin; M. Braithwaite; A. Stewart. 2010. A bioassay screening *Trichoderma* isolates for enhancement of root development in *Impatiens walleriana* cuttings. New Zealand Plant Protection. (Nueva Zelandia) 63: 33-38.

Contreras-Cornejo, H. A.; L. Macías-Rodríguez; E. Beltrán-Peña; C. Cortés-Penagos; J. López-Bucio. 2009. *Trichoderma virens*, a plant beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral root growth through an auxin-dependent mechanism in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 149: 1579-1592

Fernández, J.; F. Sosa; L. Castellanos; E. Casanovas; O. Aloma. 2011. Alternativas para el enraizamiento de estacas de *Ixora coccinea* L. var. *coccinea*. *Centro Agrícola (Cuba)* 38(2): 45-50.

Gravel V.; H. Antoun; R.J. Tweddell. 2007. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: Possible role of indole acetic acid (IAA). *Soil Biol Biochem.* 39: 1968-1977.

Harman, G.E. 2006. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology* 96(2): 190-194.

Hartmann, H.; D. Kester. 1975. Propagación de plantas. Principios y Prácticas. Cuarta impresión. Ed. Continental. México. 760 p.

Hartmann, H.; D. Kester. 1985. Propagación de plantas. Principios y Prácticas. Quinta impresión. Ed. Continental. México. 795 p.

Hernández, J.; H. Aramendiz, C. Cardona. 2005. Influencia del ácido indolbutírico y ácido naftalenoacético sobre el enraizamiento de esquejes de caña flecha (*Gynerium*

sagittatum Aubl). Revista temas agrarios. Universidad de Córdoba (Colombia) 10(1): 5-14.

Ingle, M.; C. Venugopal. 2009. Effect of different growth regulators on rooting of stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) cuttings. Journal of Agricultural Sciences. (India). 22(2): 460-461.

Jordán, M.; J. Casaretto, 2006. Hormonas y Reguladores del Crecimiento: Auxinas, Giberelinas y Citocininas. Ediciones Universidad de La Serena, Chile 28 p. Disponible en: <http://www.exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/Auxinasgiberelinasycitocinas.pdf> [Consultado: 20/03/2015].

Kassahun, B.M; S.A. Mekonnen. 2012. Effect of cutting position and rooting hormone on propagation ability of stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni). African J. Pant Sci. & Biotechnol. 6(Special Issue 1): 5-8.

Khalil, S.; R. Zamir; N. Ahmad. 2014. Selection of suitable propagation method for consistent plantlets production in *Stevia rebaudiana* (Bertoni). Saudi Journal of Biological Sciences, Peshawar, (Pakistan) 21: 566-573.

Koppad, A.; N. Umarbadshah. 2006. Effect of growth regulators on propagation of stem cuttings in *Stevia rebaudiana*. J. Agric. Sci. (India). 19(3): 740-742.

Kubicek C.; G. Harman. 2002. *Trichoderma* and *Gliocladium*. Volume 1: Basic biology, taxonomy and genetics. Copyright Taylor & Francis Ltd.. 278 p..

Landazuri, P.; J. Tigrero, 2009. *Stevia rebaudiana* Bertoni, una planta medicinal. Boletín técnico. Edición especial. Escuela Politécnica del Ejército, Vicerrectorado de Investigación y Vinculación con la Colectividad. Departamento de Ciencias de la

Vida. Ecuador 42 p. Disponible en: <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/3521/1/B-ESPE-000801.pdf> [Consultado: 15/10/2014].

Latsague, M.; P. Sáez; J. Yáñez D. 2009. Efecto del ácido indolbutírico en la capacidad rizogénica de estacas de *Eucryphia glutinosa*. Bosque (Valdivia) 30(2): 102-105.

Lugo-Soto, M.; C. Jiménez; F. Molina; J. González. 2013. Efecto de *Trichoderma harzianum* y humus líquido en el establecimiento vegetativo de *Tithonia diversifolia* (Hemsl). Zootecnia Trop. 31(1): 50-56.

Macías, H.; A. Muñoz; M. Villa; M. Velásquez; M. Potisek. 2012. Utilización de *Trichoderma* para el enraizamiento de estacas de higueras de higo blanco en contenedores cerrados. Producción Agrícola-Agrofaz (México) 12(3): 17-23.

Mackenzie, A.; T. Starman. 1995. Enhanced root and shoot growth of *Chrysanthemum* cuttings propagated with the fungus *Trichoderma harzianum*. Hortscience 30(3):496–498.

Navarro, B.; F. Sosa; L. Castellanos; E. Casanovas; R. Soto; R. Hernández. 2010. Influencia de *Trichoderma harzianum* en el enraizamiento de *Gardenia jasminoides* N. W. Ellis. Centro Agrícola (Cuba) 37(3): 23-28.

Ortuño, N.; C. Miranda; M. Claros. 2013. Selección de cepas de *Trichoderma* spp. generadoras de metabolitos secundarios de interés para su uso como promotor de crecimiento en plantas cultivadas. J. Selva Andina Biosph. (Bolivia) 1(1): 16-24.

Oberschelp, G.; M. Marcó. 2010. Efecto del ácido 3-indolbutírico sobre el enraizamiento adventicio y la altura de plantines clonales de *Prosopis alba* Grisebach. Quebracho 18(1,2): 112-119.

Padilla, J. 2013. Cultivos de Clima Cálido. Módulos de estudio. Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente. Universidad Nacional Abierta y a Distancia. Colombia. 304 p. Disponible en: [http://datateca.unad.edu.co/contenidos/303021/ %20 CALIDO_ 2013.pdf](http://datateca.unad.edu.co/contenidos/303021/%20CALIDO_2013.pdf) [Consultado: 22/03/23015].

Ramesh, K; V. Singh; N. Mageji. 2006. Cultivation on Stevia (*Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni): A Comprehensive Review. *Advances in Agronomy*. 89: 137-177.

Santos, B.M.; J.P. Gilreath; R. Arbona; A.R. Pimentel. 2005. La estadística no paramétrica para el análisis e interpretación de estudios de plagas: alternativas al análisis de varianza. Hoja Técnica N° 51. Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (Costa Rica) 75: 83-89.

Santos, H.A.; S.C. Marques; J.R. Peixoto. 2010. Associação de isolados de *Trichoderma* spp. e ácido indol-3-butírico (aib) na promoção de enraizamento de estacas e crescimento de maracujazeiro. *Biosci. J., Uberlândia* 26(6): 966-972.

Shock, C.C. 2015. Propagation of *Stevia rebaudiana* by rooted cuttings. Oregon State University. Sustainable Agriculture Techniques Ext/CrS 154. 3 p.

Smitha, G.; K. Umesha. 2012. Vegetative propagation of stevia [*Stevia rebaudiana* (Bertoni) Hemsl.] through stem cuttings. *Journal of Tropical Agriculture* 50(1-2): 72-75.

Solano, L.; X. Mata; O. Murillo. 2015. Efecto de extractos de metabolitos de dos aislados nativos *Trichoderma* sp. sobre el crecimiento y desarrollo de brotes juveniles de melina (*Gmelina arborea* Roxb. ex Sm.) bajo condiciones de minitúnel. *Revista Forestal Mesoamericana Kurú (Costa Rica)* 12(29): 53-68.