



UNIVERSIDADE DE ÉVORA
ESCOLA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA

**Avaliação da Adaptação da Espécie
Stevia rebaudiana (Bert.) Bertoni às
Condições Mediterrânicas**

João Pedro Correia Courelas

Orientação: Professor Doutor José Manuel Godinho Calado

Mestrado em Engenharia Agronómica

Dissertação

Évora, 2013

UNIVERSIDADE DE ÉVORA
ESCOLA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA

DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA

**Avaliação da Adaptação da Espécie
Stevia rebaudiana (Bert.) Bertoni às
Condições Mediterrânicas**

João Pedro Correia Courelas

Orientação: Professor Doutor José Manuel Godinho Calado

Mestrado em Engenharia Agronómica

Dissertação

Évora, 2013

“Alguns homens são bem-sucedidos pelo que sabem, outros pelo que fazem e uns poucos pelo que são”

Elbert Hubbard

AGRADECIMENTOS

A elaboração desta Dissertação de Mestrado não teria sido possível sem o auxílio e apoio de diversas pessoas, por isso, gostaria de agradecer...

Aos meus pais e restante família pelo seu apoio incondicional ao longo de toda a minha formação académica;

À minha namorada, Filipa, pelo apoio, conselhos e companhia ao longo destes anos;

Ao Professor José Manuel Godinho Calado, orientador desta Dissertação, pela dedicação, acompanhamento e paciência demonstrada na orientação deste trabalho, mas também pelos conhecimentos transmitidos;

Aos colegas de Mestrado do ano letivo 2011/2013 pelo apoio e convívio;

E por último, mas não menos importante, aos amigos, aqueles que sempre estiveram do meu lado e nunca me desiludiram.

Muito Obrigado!

ÍNDICE

RESUMO	VI
ABSTRACT	VII
ÍNDICE DE FIGURAS	VIII
ÍNDICE DE QUADROS	X
ÍNDICE DE TABELAS	XI
1. INTRODUÇÃO	1
2. MERCADO DOS EDULCORANTES	4
2.1. Edulcorantes sintéticos	5
2.2. Edulcorantes naturais	6
2.3. Perspetivas futuras	7
3. A ESPÉCIE <i>STEVIA REBAUDIANA</i> (BERT.) BERTONI	10
3.1. Origem e evolução	11
3.2. Caracterização botânica e classificação taxonómica	12
3.3. Morfologia	13
3.4. Exigências ecofisiológicas	14
3.4.1. Condições de solo	15
3.4.2. Condições de clima	16
3.4.3. Água	19
3.4.4. Nutrientes	21
3.5. Problemas sanitários	24
3.6. Potencial da espécie como cultura agrícola	26
3.6.1. Propagação	26
3.6.2. Preparação do solo e instalação da cultura	29
3.6.3. Gestão da cultura	31
4. MATERIAL E MÉTODOS	36

4.1. Localização e caracterização climática	36
4.2. Descrição e instalação dos ensaios	38
4.2.1. Germinação de sementes de <i>Stevia rebaudiana</i> (Bert.) Bertoni	38
4.2.2. Ensaio de campo em condições mediterrânicas	39
4.2.3. Ensaio de gestão da altura de corte das plantas em ambiente controlado	42
4.3. Tratamento estatístico	43
5. ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	45
5.1. Germinação de sementes de <i>Stevia rebaudiana</i> (Bert.) Bertoni	45
5.2. Desenvolvimento e crescimento da stevia em condições mediterrânicas ...	47
5.2.1. Influência das condições de clima	48
5.2.2. Rendimento produtivo	56
5.3. Gestão das plantas ao nível do corte	59
6. CONCLUSÕES	64
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67
ANEXOS	77

RESUMO

O trabalho tem como objetivo avaliar a adaptação da espécie *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni às condições mediterrânicas, que caracterizam o Alentejo Central (Herdade da Mitra, Évora).

Desde Setembro de 2012 a Agosto de 2013 foi observado o desenvolvimento e o crescimento de 25 plantas de stevia selecionadas ao acaso. Em ambiente controlado observou-se a germinação de sementes submetidas a diferentes temperaturas (20, 25 e 30 °C) e a influência da altura de corte das plantas (1, 5 e 10 cm).

As plantas apresentaram um melhor crescimento entre 15 e 30 °C, com reduzida ou nula atividade vegetativa no período mais frio, caracterizado por temperaturas médias inferiores a 8 °C. A produção obtida foi de 46,2 g e 40,2 g de peso seco de folhas e ramos, respetivamente.

A melhor taxa de germinação foi obtida com 25 °C e não existiram diferenças significativas para a altura do corte das plantas.

Assessment the Adaptation of *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni to Mediterranean Conditions

ABSTRACT

The aim of this paper was to evaluate the adaptation of *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni to the Mediterranean conditions that characterize the central Alentejo (Herdade da Mitra, Évora).

The development and growth of 25 randomly chosen stevia specimens were observed from September 2012 to August 2013. The germination of stevia seeds was observed in a controlled environment at the following temperatures (20, 25 and 30 °C), as well as the influence of the height of cut plants (1, 5 e 10 cm).

Stevia plants presented best growth results at temperatures of 15 to 30 °C, and there was reduced to no vegetative activity in the coldest period during which average temperatures were below 8 °C. The yield of dry weight obtained for leaves was 46,2 g and for branches it was 40,2 g.

The best germination rate occurred at 25 °C, and there were no significant differences associated with the height of cut plants.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 3.1 Região onde a stevia se localiza como espécie espontânea	12
Figura 3.2 Diferentes fases de desenvolvimento	14
Figura 3.3 Variação do consumo de água diário ao longo do período de crescimento.....	20
Figura 3.4 Sistema de multiplicação <i>in vitro</i>	28
Figura 4.1 Condições termopluviométricas de Setembro de 2012 a Agosto de 2013 (valores de precipitação e médias das temperaturas mensais)	37
Figura 4.2 Condições termopluviométricas no período de 1971 a 2000 em Évora (valores médios de trinta anos)	37
Figura 4.3 Germinador de sementes.....	39
Figura 4.4 Ensaio de campo da <i>Stevia rebaudiana</i> (Bert.) Bertoni em diferentes fases de desenvolvimento a) Novembro de 2012, b) Julho de 2013 e c) Agosto de 2013	42
Figura 4.5 Vasos de <i>Stevia rebaudiana</i> (Bert.) Bertoni em ambiente controlado (estufa), a) fase inicial, b) fase final de maturação e c) corte das plantas	43
Figura 5.1 Relação entre a média das temperaturas médias do ar (°C) e o número médio de ramos potenciais por planta de stevia com sucesso vegetativo	49
Figura 5.2 Relação entre a média das temperaturas médias do ar (°C) e a média das alturas de plantas de stevia com sucesso vegetativo	50
Figura 5.3 Relação entre a média das temperaturas mínimas do ar (°C) e o número médio de ramos potenciais por planta de stevia com sucesso vegetativo	51
Figura 5.4 Relação entre a média das temperaturas mínimas do ar (°C) e a taxa de sobrevivência de plantas de stevia (valores registados até ao dia 23 de Abril de 2013).....	52
Figura 5.5 Relação entre a média das temperaturas mínimas do ar (°C) e a média das alturas de plantas de stevia com sucesso vegetativo	53
Figura 5.6 Relação entre a média das temperaturas máximas do ar (°C) e o número médio de ramos potenciais por planta de stevia com sucesso vegetativo	54
Figura 5.7 Relação entre a média das temperaturas máximas do ar (°C) e a taxa de sobrevivência de plantas de stevia.....	55
Figura 5.8 Relação entre a média da radiação solar ($W h^{-1}$) e o número médio de ramos potenciais por planta de stevia com sucesso vegetativo	56

Figura 5.9 Relação entre a média da radiação solar ($W h^{-1}$) e a média das alturas de plantas de stevia com sucesso vegetativo (valores registados até ao dia 28 de Junho de 2013)	56
Figura 5.10 Produção de folhas e ramos verificada em quatro plantas de stevia colhidas no fim de Agosto no horto da Herdade Experimental da Mitra (valores de folhas e ramos por planta)	58
Figura 5.11 Valores médios de ramos primários, secundários e totais das plantas de stevia verificados nos diferentes níveis de corte das plantas (1, 5 e 10 cm) na 8 ^a (a) e na 21 ^a (b)) leituras	59
Figura 5.12 Altura média das plantas de stevia verificada nos diferentes de corte das plantas (1, 5 e 10 cm) na 8 ^a (a) e na 21 ^a (b)) leituras	61
Figura 5.13 Relação entre o número de dias após o corte das plantas (1, 5 e 10 cm) e a médias das alturas das plantas de stevia em ambiente controlado (estufa).....	62
Figura 5.14 a) Produção média de folhas, b) Produção média de ramos nos diferentes níveis de corte das plantas	63

ÍNDICE DE QUADROS

Quadro 3.1 Classificação Taxonómica da <i>Stevia rebaudiana</i> (Bert.) Bertoni	13
Quadro 3.2 Valores de temperatura determinantes para a germinação das sementes, crescimento e desenvolvimento das plantas de stevia	18
Quadro 3.3 Composição da <i>Stevia rebaudiana</i> (Bert.) Bertoni	23
Quadro 3.4 Plantas infestantes que competem com a <i>Stevia rebaudiana</i> (Bert.) Bertoni no Equador	25

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 4.1 Características físicas do solo, previamente à implantação da cultura	40
Tabela 5.1 Efeito do nível de temperatura (°C) na faculdade germinativa das sementes de <i>Stevia rebaudiana</i> (Bert.) Bertoni	46
Tabela 5.2 Efeito do tratamento de luz na germinação de sementes de <i>Stevia rebaudiana</i> (Bert.) Bertoni para uma temperatura de 25 °C	46

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos ocorreu um aumento acentuado na incidência da diabetes mellitus do tipo II e obesidade, como resultado do envelhecimento, hábitos alimentares e diminuição de atividades físicas. Estas síndromes metabólicas tornaram-se um dos principais problemas de saúde pública nos países industrializados e em desenvolvimento, consequência do estilo de vida cada vez mais urbano associado à falta de tempo (Chatsudthipong & Muanprasat, 2009).

Estas alterações fazem com que países em desenvolvimento fiquem suscetíveis não só à diabetes que, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) “existe uma aparente epidemia de diabetes, que está fortemente relacionada com o estilo de vida e com a mudança econômica”, onde o aumento do consumo de refrigerantes e/ou outro tipo de alimentos açucarados são das principais causas da alteração metabólica no diabético, mas também a outros problemas de saúde (Arora *et al.*, 2010).

Existem muitos medicamentos sintéticos desenvolvidos para estes pacientes, mas nenhum é totalmente eficaz e capaz de curar a diabetes. Além de que os atuais hipoglicemiantes orais originam efeitos indesejáveis (Seeley, 1997).

Perante isto, é importante que o Homem se associe a um estilo de vida mais saudável, optando pela privação de alimentos açucarados e/ou pelo uso de substitutos do açúcar como a sacarina, sucralose e aspartame que são adoçantes artificiais. Ainda assim, verificou-se que o uso destes adoçantes artificiais podem levar a um aumento de peso quando usados de uma forma contínua, e que existe também uma forte relação entre o consumo de aspartame (um tipo de adoçante artificial) e a frequência de tumores cerebrais em humanos.

Assim, é essencial encontrar alternativas aos produtos sintéticos e dar maior importância às formulações à base de plantas, pois são frequentemente consideradas menos tóxicas e livres de efeitos secundários (Thiyagarajan & Venkatachalam, 2012).

Os substitutos naturais do açúcar podem ser muito eficazes no combate de alguns problemas de saúde a nível mundial (Arora *et al.*, 2010).

Nas espécies vegetais que apresentam potencial para produzir adoçantes naturais é a planta *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni que tem atraído interesses económicos e científicos relativamente às suas características e propriedades terapêuticas das suas folhas (Mondaca *et al.*, 2012). O glicosídeo presente nas folhas de stevia, que se designa esteviosídeo, tem ação hipoglicémica, o que leva a um melhoramento da função pancreática, uma vez que as células β aumentam a produção de insulina que, por sua vez leva a uma redução da glicémia no sangue. É diurético, ajudando na retenção de líquidos e reduz o colesterol e os triglicéridos (Martínez, 2011).

A stevia adapta-se bem a diferentes tipos de solo. Todavia, na adaptabilidade de uma nova espécie à que ter em conta uma série de outras exigências ecofisiológicas. Por exemplo, a temperatura e a luminosidade são fatores que influenciam o potencial de crescimento desta espécie e, por sua vez, potencializam o seu poder adoçante (Cortés, 2012).

Cabe referir que, entre fatores climáticos, o mais limitante do rendimento da cultura é a precipitação no período da estação Primavera/Verão. Assim, devido à sua insuficiência durante essa época e uma vez que a *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni não tolera longos períodos de seca, tem de existir um sistema de rega para suportar o crescimento e desenvolvimento de uma espécie num ambiente ecológico que não é o de origem e permitir alcançar valores elevados de produtividade sem ocorrem perdas económicas (Fronza, 2002).

Para obter informação sobre a propagação sexuada da espécie e obtenção de população, neste trabalho estudou-se, em ambiente controlado, a germinação das sementes de stevia.

Quanto à resposta das plantas de stevia às condições ambientais, procurou-se obter informação sobre a resposta das plantas sujeitas às temperaturas registadas durante o período de observações, sobretudo às temperaturas registadas na região de Évora durante o Inverno, a Primavera e o início do Verão de 2013. O crescimento e desenvolvimento das plantas foi avaliado a partir do aparecimento de ramos primários e secundários, da altura das plantas até ao aparecimento do botão floral, do recrescimento e duração do período de crescimento, da produção de biomassa total, de ramos e de folhas.

O objetivo deste trabalho é iniciar o estudo da capacidade de adaptação da *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni, que é uma espécie originária de regiões subtropicais, às condições mediterrânicas. Pretende-se assim, verificar a influência das condições ambientais mediterrânicas no crescimento e desenvolvimento da planta.

2. MERCADO DOS EDULCORANTES

O Homem sempre utilizou substâncias doces na sua alimentação. O primeiro adoçante registado na história da Humanidade foi o mel, utilizado nas culturas antigas da Grécia e da China. O mel foi, mais tarde, substituído pela sacarose, o açúcar comum que foi originalmente obtido da cana-de-açúcar. Desde então, tem existido uma grande evolução na história dos edulcorantes (Weihrauch & Diehl, 2004).

Os edulcorantes são aditivos alimentares que conferem um sabor doce aos alimentos. Existem alguns fatores que influenciam a escolha do adoçante, nomeadamente o seu gosto e os riscos que têm para a saúde pública. Apesar de em excesso ser prejudicial ao metabolismo humano, o açúcar é um produto de grande interesse devido ao seu elevado teor energético, uma vez que proporciona uma média de 12 % de hidratos de carbono (elementos de produção de energia no corpo humano) (Pérez, 2011).

Os edulcorantes só podem ser introduzidos na indústria alimentar após uma exigente avaliação por instituições científicas competentes, analisando aspetos toxicológicos, microbiológicos e de segurança, uma vez que só assim conseguem detetar possíveis riscos que poderão existir para o consumidor. Quer isto dizer, que antes de um edulcorante ser introduzido na composição de um produto tem de cumprir com todas as disposições estabelecidas (Teixeira *et al.*, 2011).

Os edulcorantes utilizados no mercado alimentar dividem-se em dois grupos: edulcorantes sintéticos e naturais e dentro destes existem os calóricos e os não calóricos (Teixeira *et al.*, 2011).

2.1. Edulcorantes sintéticos

Desde o início dos anos 80 que os edulcorantes têm competido com o açúcar natural. Entre o ano de 1980 e 1990, com o acréscimo da utilização dos produtos pouco calóricos, o consumo mundial de açúcar passou de 88% para 82%. Estes edulcorantes baixos em calorias tiveram um crescimento de cerca de 5% nos últimos anos e esta propensão tem origem no facto do ser humano se preocupar cada vez mais com os seus hábitos alimentares (Torres & Guevara, 2004).

Os adoçantes artificiais estão presentes numa grande variedade de bebidas, alimentos, fármacos e produtos de higiene. Contudo, desde a sua introdução nos mercados são constantemente vistos como potenciais fatores de risco para o aparecimento de cancro, o que pôs em causa a sua segurança (Weihrauch & Diehl, 2004).

Existem os edulcorantes de “primeira geração” como a sacarina e o ciclamato e os edulcorantes de “nova geração” como o aspartame, a sucralose, alitame e neotame (Weihrauch & Diehl, 2004).

A sacarina é o edulcorante sintético mais antigo, tendo sido sintetizado em 1879 por Contantin Fahlberg na Universidade Johns Hopkins, enquanto este trabalhava com derivados de alcatrão. Este edulcorante é cerca de 300 vezes mais doce que a sacarose, tem um sabor amargo e era muito utilizado por diabéticos. Além disso, na primeira metade do século XX existia uma constante deficiência de açúcar que incentivou o seu uso pelas mulheres durante a 1ª e 2ª Guerras Mundiais (Yang, 2010).

O ciclamato é outro edulcorante sintético, foi descoberto em 1937 por Michael Sveda na Universidade de Illinois, e foi por várias vezes utilizado conjuntamente com a sacarina para melhorar o seu sabor. Em 1969, o seu uso foi proibido devido aos potenciais fatores de risco para a saúde, nomeadamente cancerígenos, em consequência

de estudos que comprovaram esta ligação e, por isso, foi intensificada a preocupação com a segurança da sacarina.

Mais tarde chegou a nova geração dos edulcorantes artificiais e os testes de segurança tornaram-se muito rigorosos.

Em 1965, durante uma investigação sobre novos medicamentos anti-ulcerosos, James Schlatter em Searle descobriu o aspartame, ainda muito utilizado nos dias de hoje. O aspartame é 200 vezes mais doce que a sacarose e pode ser metabolizado pelo organismo, o que o diferencia dos outros edulcorantes artificiais, que são normalmente excretados sem sofrerem metabolização, conferindo-lhe valor calórico insignificante (Yang, 2010).

O neotame é o edulcorante sintético mais doce, apresentando uma doçura aproximadamente 7000 vezes superior à sacarose. A sua produção foi feita pela empresa NutraSweet (2002), empresa produtora de aspartame, e traz a vantagem de poder ser aquecido e não se estragar com tanta facilidade como o aspartame (Yang, 2010).

Em 1979, Phadnis Shashikant descobriu a sucralose, sintetizada a partir da sacarose e 600 vezes mais doce que esta (Yang, 2010).

Na última década surgiu um aumento explosivo de produtos alimentares que contêm edulcorantes artificiais não calóricos, nomeadamente a sucralose e o aspartame, que são os mais usados, sobretudo em sumos e iogurtes (Yang, 2010).

2.2. Edulcorantes naturais

Os edulcorantes naturais são cada vez mais utilizados nos dias de hoje e, considera-se que, serão os “adoçantes do futuro”, substituindo assim o açúcar e outros edulcorantes sintéticos (Takasaki *et al.*, 2003).

Edulcorantes naturais são, por exemplo, frutose, sorbitol e esteviosídeo.

A frutose é encontrada nas frutas e no mel e possui uma doçura superior à do açúcar.

O sorbitol encontra-se nalgumas frutas e algas marinhas, possuindo valor calórico. É muito utilizado nas pastilhas elásticas e bolachas, tendo ação laxativa. O problema destes e outros adoçantes naturais é o facto de apresentarem valor calórico e não poderem ser utilizados por indivíduos diabéticos.

Por isso, o esteviosídeo, adoçante extraído da stevia, é uma alternativa muito eficaz dentro dos adoçantes naturais uma vez que não detém calorias e não altera os níveis de açúcar no sangue, sendo permitido na diabetes e na prevenção desta. Tem sabor muito próximo ao da sacarose (açúcar) e é cada vez mais utilizado em forma de adoçante, em achocolatados e gelatina (Cate, 2013).

A stevia é uma planta com várias funções terapêuticas: principalmente anti-hiperglicemiante, anti-viral, apresentando também produção de efeitos positivos nos tratamentos de neurologia, anemia, lombalgia, reumatismo, eczema e dermatite. Recentemente observou-se que também apresenta propriedades anti amnésicas e anti bacterianas (Puri *et al.*, 2012).

O esteviosídeo extraído da stevia tem um sabor agradável, sem gosto residual e as suas folhas têm melhores propriedades do que outros adoçantes. O seu consumo cresce exponencialmente em todo o mundo e é provável que, no futuro, se torne no principal edulcorante no mercado dos alimentos (Mondaca *et al.*, 2012).

2.3. Perspectivas futuras

A *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni continua a ser uma planta rara no seu habitat natural, a sua expansão deve-se à produção agrícola na América do Sul e Ásia e ao seu uso na Europa e América do Norte (Mondaca *et al.*, 2012).

Ao longo dos anos, a stevia tem atraído interesses económicos e científicos devido aos seus benefícios medicinais e foi o Japão, o primeiro país do continente asiático, a comercializar stevia como adoçante em diversos alimentos e na indústria farmacêutica

(Abdullateef & Osman, 2011). Foi então que esta planta medicinal se expandiu pela Ásia, concretamente, China, Malásia, Singapura, Coreia do Sul, Taiwan e Tailândia (Chatsudthipong & Muanprasat, 2009).

Depois da cultura de stevia se estabelecer em países asiáticos, seguiram-se uma série de outros países, incluindo os Estados Unidos da América, o Canadá, países do continente Europeu e o Brasil (Abdullateef & Osman, 2011).

Assim, a indústria da stevia é um mercado que tem vindo a crescer mundialmente, onde países desenvolvidos como o Japão e Israel já a utilizam à mais de 40 anos. Por exemplo, no Japão o seu consumo já chega a 60% da população total, o que estimula as grandes empresas como a Coca-Cola a utilizá-la para a sua comercialização, sendo os edulcorantes sintéticos proibidos, no país, desde os anos 70. Países como o Egipto, Grã-Bretanha, Arábia Saudita entre outros entraram na era da stevia com o desenvolvimento de produtos e adotando a cultura do edulcorante natural, que além do seu uso medicinal e nutricional tem outras propriedades de interesse na indústria dos cosméticos. Entre os vários tipos de mercados, estima-se um consumo mensal de cerca de três milhões de porções de 1,0 g de esteviosídeo (Romero *et al.*, 2012).

Os produtos contendo os edulcorantes extraídos da stevia podem encontrar-se em supermercados, lojas de produtos naturais e outros, levando a um consumo crescente e à presença de diferentes produtos obtidos desta planta proveniente do Brasil, Colômbia e Paraguai de formas distintas (Zubiate, 2007).

Nos produtos que possuem as substâncias extraídas da stevia, o código E960 e/ou a designação de glicosídeos de steviol identificam a presença do aditivo. Portugal segue o caminho da França visto que também neste país, o consumo de stevia como edulcorante natural já havia sido autorizado. Contudo, esta utilização tem vindo a ser feita com moderação, pois apesar do esteviosídeo ser considerado seguro não significa que possa

ser utilizado indiscriminadamente (Associação Portuguesa para a Defesa do Consumidor, 2012)

A stevia representa, por isso, uma nova oportunidade para a agricultura e é importante ter em atenção a gestão da cultura e a respetiva produção para que esta seja melhorada e otimizada (Brandle *et al.*, 1998).

3. A ESPÉCIE *STEVIA REBAUDIANA* (BERT.) BERTONI

A *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni é um pequeno arbusto perene, em que as suas folhas contêm glicosídeos de steviol, apresentando uma capacidade adoçante 300 vezes superior à da sacarose (Bondarev *et al.*, 2001). A percentagem destes glicosídeos na planta de stevia oscila entre os 7 e 16 % do peso total de folhas secas, em que a variação depende de alguns fatores, como por exemplo os fatores climáticos (Bernardi, 2012).

Esta planta é um dos 154 membros do género stevia e um dos dois únicos que produzem glicosídeos de steviol doces (Brandle *et al.* 1998). Parece ser uma espécie caracterizada por uma gama muito limitada de habitats naturais (Bondarev *et al.*, 2001).

Atualmente há uma forte procura desta planta, uma vez que, como já foi mencionado, existe um aumento acentuado do número de indivíduos diabéticos em todo o mundo. Por outro lado, é necessário encontrar alternativas aos edulcorantes sintéticos pelo fato de serem menos seguros para os consumidores, transportando riscos para a sua saúde (Thiyagarajan & Venkatachalam, 2012).

O isolamento da substância adoçante foi praticado em 1909 e só em 1931 foi purificado o extrato para produzir esteviosídeo, estrutura química estabelecida em 1952 como um glicosídeo diterpeno de massa molecular 804,80. O esteviosídeo é descrito como um glicosídeo que compreende três moléculas de glicose ligadas a uma aglicona, a porção de steviol (Mondaca *et al.*, 2012). Trata-se de uma molécula muito completa, que contem 38 carbonos, 60 hidrogénios e 18 oxigénios, o seu ponto de fusão é de 238°C, o seu nome completo é 13-O-beta-soforosil-19-O-beta-glucosil-steviol e é solúvel em água, etanol e metanol (Martínez, 2011).

Além do esteviosídeo, outros componentes foram isolados da stevia: o rebaudiosídeo (A-E) e dulcosídeo (Abdullateef & Osman, 2011).

O principal componente doce nas folhas de *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni é o esteviosídeo (4-20%) e rebaudiosídeo A (3%), depois temos o dulcosídeo A (0,5%) e o

steviolbiosídeo (vestígios). Segundo Puri *et al.* (2012) a presença de steviolbiosídeo e rebaudiosídeo B pode ser devido a artefactos do processo de extração.

Dos 4 principais glicosídeos diterpenos adoçantes presentes nas folhas de stevia, apenas 2, steviosídeo e rebaudiosídeo A, tiveram as suas propriedades físicas e sensoriais bem caracterizadas.

Apesar de não existirem relatos de efeitos adversos, este tem sido um ponto de controvérsia ao longo dos anos. Conforme Planas & Kruc (1968) descreveram, uma solução de 5% de extrato de folha de stevia teve um forte efeito antifertilidade em ratos. Contudo, estudos posteriores realizados para confirmar este efeito obtiveram um resultado negativo. Em estudos de toxicidade aguda, Xili *et al.* (1992) verificaram que a ingestão diária aceitável de esteviosídeo é de 7,9 mg kg⁻¹. Esteviosídeo e rebaudiosídeo A são ambos não carcinogénicos (Brandle *et al.*, 1998).

3.1. Origem e evolução

A *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni é nativa de Amambai, região fronteiriça entre o Brasil e o Paraguai (Figura 3.1), sendo muitas vezes referida como "a erva-doce do Paraguai". Existe também noutras regiões do Brasil e da Argentina (Chaturvedula & Prakash, 2011).

Desde os anos 70 do século XX que os extratos de stevia têm sido amplamente utilizados em diversos países como uma alternativa ao açúcar (Goettemoelle & Ching, 1999).

O seu cultivo alastrou-se por outras zonas do mundo, tais como o Canadá, Ásia e Europa (Sharma *et al.*, 2012).



Figura 3.1 - Região onde se encontra a stevia como espécie espontânea

O Japão foi o primeiro país do continente asiático a comercializar esteviosídeo como adoçante na indústria dos alimentos e medicamentos. Desde então o cultivo desta planta difundiu-se por outros países da Ásia. A stevia e o esteviosídeo foram usados como substitutos da sacarose para o tratamento da diabetes mellitus e, além da sua doçura, o esteviosídeo juntamente com compostos relacionados (rebaudiosídeo A, steviol e isosteviol) tem um importante papel terapêutico como anti-hiperglicêmico, anti-inflamatório, anti-diarreico, diurético e imunomoduladores (Mondaca *et al.*, 2012)

3.2. Caracterização botânica e classificação taxonômica

A *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni é um dos 950 gêneros da família Asteraceae (Compositae) e o classificador botânico foi Moisés Santiago Bertoni em 1899. Inicialmente foi chamada de *Eupatorium rebaudianum* e só mais tarde, em 1905, obteve o nome de *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni. (Mondaca *et al.*, 2012;Yadav *et al.*, 2011). Apesar de existirem 230 espécies do gênero, apenas a *Stevia rebaudiana* tem a essência da doçura, enquanto outras espécies apresentam outro interesse bioquímico (Yadav *et al.*, 2011). As suas folhas têm propriedades funcionais e sensoriais superiores aos de muitos outros adoçantes (Mondaca *et al.*, 2012).

É uma planta de dias curtos que tem flores de Janeiro a Março no Hemisfério Sul e de Setembro a Dezembro no Hemisfério Norte, onde as sementes férteis são geralmente de cor escura e as sementes estéreis são geralmente de cor mais clara (Pande & Gupta, 2013). A classificação taxonómica da *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni apresenta-se de forma detalhada no Quadro 3.1.

Quadro 3.1 Classificação Taxonómica da *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni
(Adaptado Yadav *et al.*, 2011)

Reino	Vegetal
Subreino	Tracheobionta
Divisão	Magnoliopyta
Classe	Magnoliopsida
Ordem	Asterales
Família	Asteraceae
Género	<i>Stevia</i>
Espécie	<i>Stevia rebaudiana</i>
Nomes comuns	Ka'á He'é = dulce, stevia

3.3. Morfologia

A stevia é uma planta de porte herbáceo com um ciclo perene, e a sua altura tende para um metro. Apresenta um sistema radical desenvolvido, com caules frágeis, que produzem pequenas folhas elípticas (Abdullateef & Osman, 2012; Pande & Gupta, 2013).

A raiz da stevia é fibrosa, apenas se ramifica e não aprofunda, desenvolvendo-se perto da superfície do solo (Vélez & Zapata, 2006).

O caule é erecto, mais ou menos piloso, com tendência a inclinar-se e mais ou menos ramificado. Durante o desenvolvimento inicial, não possui ramificações, mas depois da poda, chega a produzir perto de 25 caules (Vélez & Zapata, 2006).

As suas folhas são opostas, incompletas, simples, forma lanceolada a oblanceolada e serrada. Forma pequenas flores esbranquiçadas (15 a 17 mm), tendo pequenos “cachos” de 2-6 flores que estão dispostas em panículas soltas. As sementes estão contidas em aquénios (fruto) delgados com cerca de 3 mm de comprimento (Abdullateef & Osman, 2012; Pande & Gupta, 2013) A folha é o órgão que tem mais conteúdo em edulcorante (Vélez & Zapata, 2006).

A planta tem aproximadamente 1 mês para atravessar todas as fases de desenvolvimento dos estágios florais e produzir todas as flores (Figura 3.2) (Yadav *et al.*, 2011).



Figura 3.2 - Diferentes fases de desenvolvimento (Yadav *et al.*, 2011).

3.4. Exigências ecofisiológicas

Existem mecanismos de adaptação da fisiologia da planta às condições ambientais que são necessárias considerar durante a instalação, produção e desenvolvimento da cultura de *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni.

Dominar as particularidades do terreno, conhecer a quantidade de precipitação da zona, as temperaturas normais, direção do vento, número de horas de sol e necessidades

de água das plantas de stevia, são extremamente importantes quando se pretende uma produção sustentável (Jaramillo, 2011).

O ciclo de produção da stevia tem um período de aproximadamente 8 meses (Cortés, 2012).

3.4.1. Condições de solo

A estrutura do solo é determinante para o seu funcionamento e para a sua capacidade de sustentar a vida vegetal. Correlaciona-se com o tamanho, forma e disposição dos sólidos, capacidade de reter e transmitir fluidos, substâncias orgânicas e inorgânicas, capacidade de suportar o crescimento de raízes vigorosas e o seu desenvolvimento. Estrutura do solo favorável e estabilidade dos seus agregados são importantes para a fertilidade do solo, o aumento da porosidade, a diminuição da erodibilidade e, em consequência, o aumento da produtividade agrônômica (Bronick & Lal, 2005).

A stevia é uma planta subtropical que, apesar de ser muito resistente à variação das características e tipos de solo (Shock, 1982; Andrade, 2012), prefere solos húmidos, mas não encharcados, sem grande exigência ao nível da textura (arenosos e argilosos), com teores medianos de matéria orgânica, caracterizados por uma boa permeabilidade e drenagem. Admite uma faixa de pH do solo de 5,5 a 7,5 e também prefere a meia-sombra para o bom desempenho agrônômico (Abdullateef & Osman, 2012; Pande & Gupta, 2013; Cortés, 2012).

Os solos onde a *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni cresce de forma espontânea apresentam, normalmente, baixa fertilidade e um pH de 4 a 5, alcançando uma altura entre os 0,6 e 0,7 metros. Quando cultivada em solos onde as condições são mais convenientes ao seu desenvolvimento e crescimento, como por exemplo um pH de solo

ligeiramente superior e boa drenagem, pode alcançar uma altura de cerca de 1 metro ou até mais (Midmore & Rank, 2002).

Todavia, o solo ideal para cultivo de stevia exige que este não seja nem muito arenoso, nem muito argiloso, uma vez que da condição do solo depende o movimento ideal dos gases como o oxigénio, a resistência do desenvolvimento do sistema radicular, a maior ou menor capacidade de retenção de humidade no solo ou a resistência à lixiviação de nutrientes (Torres & Guevara, 2004).

A stevia requer um terreno, cuja localização permita uma boa luminosidade e que seja o mais plano possível, por isso, é necessário conhecer o estado do solo antes da instalação da cultura para decidir sobre a sua regularização (Jaramillo, 2011). No entanto, se a região destinada à produção das plantas apresentar riscos elevados de precipitação, o terreno deve ter uma ligeira inclinação para evitar o encharcamento, visto que a planta não tolera excesso de humidade no solo, principalmente devido ao aparecimento de problemas fúngicos (Landázuri & Tigrero, 2009; Cassacia, 2006).

É importante que o solo tenha profundidade para desenvolver a distribuição das raízes e para existir um melhor movimento da água da chuva ou rega, requerendo uma boa permeabilidade para evitar a acumulação de água na superfície. Estes requisitos são essenciais devido a algumas características e necessidades da cultura de stevia, em particular a distribuição das suas raízes, requisitos nutricionais, humidade e arejamento, pois só assim se encontrará um equilíbrio ideal para o seu desenvolvimento e crescimento (Torres & Guevara, 2004).

3.4.2. Condições de clima

A stevia pode ser facilmente cultivada como qualquer outra planta, mas o crescimento vegetativo é muito reduzido quando as temperaturas estão abaixo dos 20 °C e a duração do dia é inferior a 12 horas (Midmore & Rank, 2002).

Nas regiões de origem a planta apresenta folhas persistentes, sendo caducas na Europa se não for plantada em ambiente controlado (Shock, 1982). O clima subtropical caracteriza-se por grandes amplitudes térmicas, registando-se temperaturas extremas que podem variar de -6 °C aos 43 °C (Shock, 1982).

As temperaturas devem estar entre 15 °C e 30 °C, mas preferencialmente entre os 24 °C e os 28 °C, apesar das plantas de stevia tolerarem e desenvolverem-se a temperaturas de 43 °C quando acompanhados de chuva ou sistemas de rega (Grassi *et al.*, 2009; Villa & Chifa, 2006). Quando a temperatura excede os 43 °C, verifica-se que a planta se torna mais sensível e os seus gomos terminais murcham, afetando o rendimento da planta (Villa & Chifa, 2006).

Por outro lado, temperaturas baixas provocam inibição ou impedimento do desenvolvimento da folha, ou seja, há uma diminuição significativa do crescimento vegetativo. Normalmente, a stevia não tolera temperaturas abaixo de 9 °C mas, ocasionalmente, pode tolerar temperaturas próximas a zero (Grassi *et al.*, 2009).

O facto da *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni ter alguma resistência à estação mais fria do ano, Inverno, está relacionado, aparentemente, com a temperatura do solo (Andrade, 2012). Porém, apesar das geadas de baixa intensidade e curta duração serem toleradas, podem diminuir o rendimento até menos 25% da produção final (Arellano, 2010).

A humidade relativa deve estar compreendida entre os 75-85% (Landázuri & Tigrero, 2009).

Cresce entre os 500 e 1600 m acima do nível do mar, tem uma grande adaptabilidade ao clima e em ambiente controlado é possível controlar a quantidade de luz (Torres & Guevara, 2004).

No Quadro 3.2 apresentam-se, de acordo com Martínez (2011), os valores de temperatura determinantes para a germinação das sementes, crescimento e desenvolvimento das plantas de stevia.

Quadro 3.2 - Valores de temperatura determinantes para a germinação das sementes, crescimento e desenvolvimento das plantas de stevia (Martínez, 2011).

43°C	Resiste com muita água
18-34°C	Ideal
20°C	Mínimo para a sua germinação
15°C	Crescimento das folhas
10°C	Crescimento da planta
5-7°C	Entra em repouso
-6°C	Morte da planta

No habitat natural, uma vez a fase de germinação bem-sucedida, a stevia exige pouca manutenção e uma rega ligeira a cada dois a três dias (Shock, 1982; Madan *et al.*, 2010), sendo beneficiada a produção de folhas e o conteúdo de esteviosídeo pelo aumento do comprimento do dia (Abdullateef & Osman, 2011).

Em condições mediterrânicas a stevia floresce em Agosto e Setembro e é nesta altura que as suas folhas são mais ricas em esteviosídeo, necessitando sempre de muita luz. Pode por isso dizer-se, que o aumento da intensidade de luz aumenta o crescimento vegetativo e os níveis de esteviosídeo (Midmore & Rank, 2002).

Além do aumento das substâncias adoçantes, a luz tem um efeito determinante na germinação das sementes de stevia. Segundo Martínez (2011), a germinação das

sementes de stevia é promovida com 16 horas de luz por dia e calor, depois de submersas em água fria durante 24 horas.

Relativamente ao desenvolvimento e crescimento das plantas de stevia em condições mediterrâneas, diferem da sua origem tropical, uma vez que em condições mediterrâneas os dias no Outono/Inverno encurtam muito, o que leva a uma paragem do crescimento da planta, ou seja, quanto maior for o dia maior será o aparecimento de folhas, área foliar e, o conseqüente, porte da planta e peso seco da biomassa da parte aérea.

Por isso, a planta que é plurianual, recresce a cada primavera a partir da sua raiz (Martinez, 2011; Yadav *et al.* 2011), podendo obter-se rendimento comercial durante um período de 5 a 6 anos (Cortés, 2012).

3.4.3. Água

Passados 40 anos de cultivo económico de stevia, a sua produção ainda é baixa, porque é necessário conhecer a gestão adequada dos diversos recursos utilizados para maximizar o desenvolvimento da cultura (Fronza & Folegatti, 2003). É uma planta que, de uma forma elevada e contínua, exige humidade, ou seja, a água é um fator agro-ecológico importante e está presente nas diferentes fases de desenvolvimento. Por isso, a instalação desta cultura é observada muitas vezes em regiões onde a precipitação é alta (Cortés, 2012).

A precipitação média anual da região de origem da stevia varia entre 1400 mm a 1600 mm por ano, sendo uma planta pouco resistente à seca. Por outro lado, em regiões onde a precipitação é muito inferior à mencionada, a água terá de ser assegurada através de sistemas de rega. A falta de água prejudica a aparência das folhas, o que significa que investir num sistema de rega é fundamental para permitir um bom desenvolvimento das plantas (Cortés, 2012).

Fronza & Folegatti (2003) realizaram um estudo sobre o consumo de água da cultura de *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni estimado por 2 microlisímetros, em San Piero a Grado, no centro oeste de Itália. O clima da região é mediterrânico com uma temperatura de verão que varia entre 20 °C e 30 °C, com alguns dias acima de 35 °C, onde as características da área do ensaio possuíam 510 g kg⁻¹ de areia, 390 g kg⁻¹ de limo e 100 g kg⁻¹ de argila. Verificaram que nos primeiros dias de crescimento, o consumo de água era mais elevado, com um consumo médio de 7,87 mm de água por dia (Figura 3.3). Normalmente, na primeira fase, a evaporação e transpiração mínima ocorre devido à pequena área foliar das plantas. No entanto, o consumo elevado ocorreu devido ao preenchimento dos poros. Na fase final de maturação da planta, após 80 dias, os dois microlisímetros obtiveram resultados semelhantes, onde o consumo total de água foi de 475 mm no microlisímetro 1 e 454 mm no microlisímetro 2, com uma média de consumo de 464,5 mm de água.

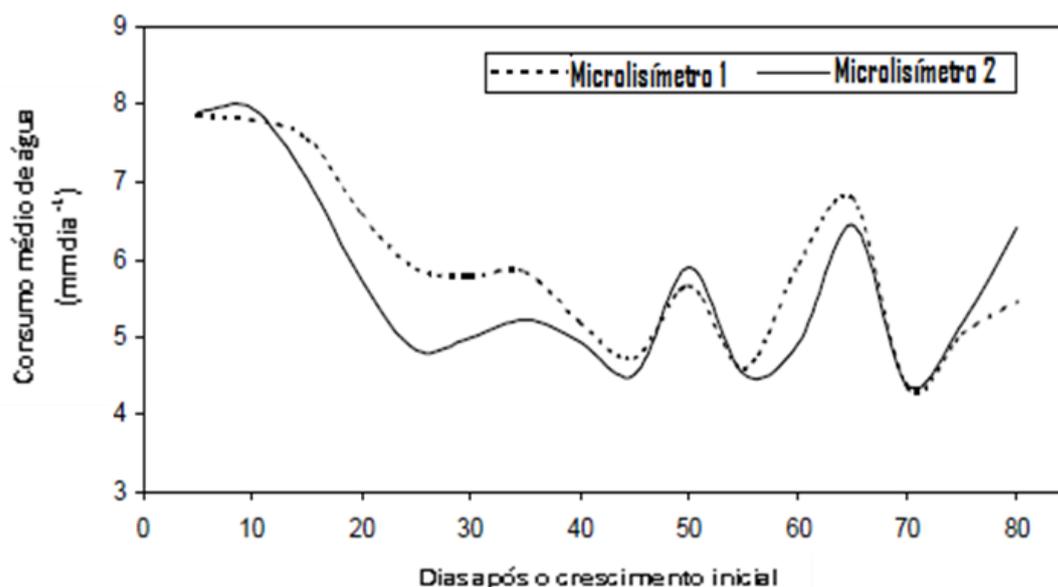


Figura 3.3 - Variação do consumo de água diário ao longo do período de crescimento (Fronza & Folegatti, 2003).

No final do ensaio, após um período de 80 dias a produção de folhas secas apresentou um valor de 4.369 kg ha⁻¹ o que pode ser justificado pelos longos dias com cerca de 16 horas de luminosidade e localização do ensaio (Fronza & Folegatti, 2003).

3.4.4. Nutrientes

Macronutrientes

O azoto é essencial para as plantas de stevia, uma vez que está presente na maioria das reações fisiológicas da célula e da planta. A falta deste nutriente diminui o tamanho das células e aumenta a espessura das suas paredes, a divisão e expansão celular diminuem, reduzindo o tamanho de todas as partes morfológicas da planta, especialmente as folhas, havendo ainda diminuição na ramificação. O azoto é igualmente essencial para muitos glucofosfatos, como a molécula doadora de glucose na síntese de glicósidos de diterpeno. Existe um efeito positivo de bactérias solubilizadoras de fósforo (BSF) no aumento da biomassa da stevia, indicando que plantas com deficiência em fósforo apresentam um crescimento limitado uma vez que a energia química produzida nos cloroplastos também é limitada.

O fósforo tem um papel essencial na vida das plantas e é, dos três elementos primários (N, P e K), o que é requisitado em menores quantidades, sendo a sua disponibilidade em solos agrícolas bastante limitado. Entre outras funções, o fósforo é um constituinte dos ácidos nucleicos, fosfolípidos, coenzimas NAD, NADP e faz parte do ATP, importante transportador de energia na planta. Tem outras funções importantes como estimular o desenvolvimento da raiz, intervindo no processo de formação dos órgãos de reprodução das plantas e na maturação dos frutos (Vélez & Zapata, 2006).

O potássio é um ativador de muitas enzimas essenciais à fotossíntese e respiração, ativando também enzimas que são necessárias para formar amido e proteínas. É um

contribuinte fundamental para o potencial osmótico das células e sua turgência (Jarma *et al.*, 2010).

Quanto ao cálcio, este é indispensável na manutenção da integridade celular, permeabilidade das membranas e divisão e expansão das células (Filho & Malavolta, 1996).

O magnésio é outro nutriente essencial, visto ser o átomo central da molécula de clorofila e a sua combinação com o ATP participa em inúmeras reacções, entre as quais a fosforilação do ácido mavalónico (MVA) para formar o isopentenil pirofosfato (IPP), primeiro composto isoprenoide na síntese dos glicosídeos de steviol (Jarma *et al.*, 2010). Com a deficiência de magnésio pode ocorrer clorose nalgumas folhas envelhecidas ou seja, diminuição do seu pigmento (Filho & Malavolta, 1996).

O enxofre é um nutriente que não se redistribui desde os tecidos maduros. Logo, pode existir a sua deficiência nas folhas mais jovens, podendo estas tornarem-se cloróticas (Filho & Malavolta, 1996).

Micronutrientes

As concentrações de Boro nos tecidos vegetais podem ter uma grande variação, com base na sua secura. A sua deficiência provoca em primeira instância o pouco crescimento e alongamento anormal da ponta da raiz, inibição da síntese de DNA e RNA. A verdade é que a deficiência em Boro pode arrastar uma série de outros sintomas que variam muito com a espécie e idade da planta, como uma menor produção de hidratos de carbono e aminoácidos livres. Não existe uma função específica para este micronutriente, mas há evidências de que tem uma participação especial na síntese dos ácidos nucleicos, essencial à divisão dos meristemas apicais (Jarma *et al.*, 2010).

A deficiência em zinco tem como consequência a diminuição do crescimento das folhas jovens. A bordadura das folhas tem muitas vezes distorções e dobras. Com regularidade ocorre clorose o que sugere que este micronutriente está envolvido na

formação de clorofila ou impede a sua destruição. Existem mais de 80 enzimas contendo zinco, o que o torna essencial ao bom funcionamento da planta.

Na ausência de cobre, as folhas jovens têm uma tonalidade verde escura e estão enrugadas ou deformadas, apresentando muitas vezes manchas necróticas. No entanto, em concentrações muito elevadas, este elemento é altamente tóxico.

O zinco e o ferro são encontrados em alimentos de origem vegetal e animal e estão presentes nas folhas de stevia. O zinco atua como antioxidante não enzimático e o consumo deste nutriente ajuda na prevenção de danos oxidativos da célula. Relativamente ao ferro, a sua principal função biológica é o transporte de oxigénio, onde a sua ausência na dieta humana conduziria à anemia. A presença de ferro nas folhas de stevia é um dos muitos benefícios para a planta, uma vez que ajudaria a repor a hemoglobina no organismo (Mondaca *et al.*, 2012).

Segundo Goyal & Samaher (2010) apresenta-se no Quadro 3.3 a composição aproximada em nutrientes da *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni.

Quadro 3.3 - Composição da *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni (Goyal & Samaher, 2010)

Constituinte	Valor (%)
Alumínio	0.0072
Manganês	0.0147
Cinza	6.3000
Fósforo	0.3180
B-Caroteno	0.0075
Potássio	1.7800
Cálcio	0.5440
Proteína	11.200
Crómio	0.0039
Selénio	0.0025
Cobalto	0.0025
Silício	0.0132
Gordura	1.9000
Sódio	0.0892
Fibra	15.200
Estanho	0.0015
Ferro	0.0039
Vitamina	0.0110
Magnésio	0.3490
Água	82.300

3.5. Problemas Sanitários

Com o objetivo de evitar problemas sanitários é importante a supervisão frequente da plantação de stevia, para detetar e eliminar rapidamente plantas suspeitas e modificações na morfologia da planta. Nas grandes plantações comerciais do Paraguai e Brasil detetaram-se doenças produzidas por fungos e nematóides (Zubiate, 2007).

Segundo Landázuri & Tigrero (2009) os fungos que afetam a *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni são o *Colletotrichum* sp., *Nigrospora* sp., *Fusarium* sp. (Fusariosis), *Penicillium* sp., *Septoria* sp. (Septoriosis), *Cercospora* sp. (Cercosporiosis). Regra geral, estes fungos surgem devido às altas temperaturas e humidade, desenvolvendo lesões cloróticas, em que a pigmentação das folhas sofre alteração e necrose dos tecidos.

Por outro lado, os fatores exigidos para o crescimento das plantas infestantes são semelhantes aos exigidos pela stevia, originando por isso um processo de competição quando as duas se desenvolvem em conjunto. As infestantes impedem o correto desenvolvimento da planta e a colheita das folhas e podem influenciar a obtenção de boa produtividade (Filho *et al.*, 2004).

No Equador, as principais infestantes que competem com a stevia apresentam-se no Quadro 3.4. A stevia é uma planta pouco competitiva com plantas infestantes e isso deve-se, sobretudo, ao porte baixo que apresenta devido aos constantes cortes, favorecendo a disseminação e o crescimento de infestantes nas culturas, principalmente em períodos de regeneração depois de cada colheita e o aparecimento mais rápido na presença de chuvas (Jaramillo, 2011).

Quadro 3.4 Plantas infestantes que competem com a *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni no Equador (Landázuri & Tigrero, 2009)

Plantas infestantes
<i>Oxalis corniculata</i> L.
<i>Drymaria ovata</i> Humb. & Bomp. Ex Schult.
<i>Peperomia</i> aff. <i>pellucida</i> (L.) H.B.K
<i>Cardamine hirsuta</i>
<i>Pilea microphylla</i> (L.) Liebm.
<i>Browallia americana</i> L.
<i>Hydrocotyle leucocéfala</i>
<i>Kyllinga pumila</i> Michx.
<i>Eleusine indica</i> (L.),
<i>Ageratum conyzoides</i> L.

Existem métodos que ajudam no tratamento e controlo de infestantes, nomeadamente o controlo químico e o corte manual. Muitos produtos químicos são eficazes se implementados antes da sementeira da cultura, herbicidas de pré-sementeira, e durante o ciclo de produção, herbicidas de pré-emergência e pós-emergência. A utilização de herbicidas e a sua gestão é limitada, pois podem causar perdas económicas severas na cultura e no ambiente.

O método do corte manual de infestantes é uma prática mais tradicional, mas o manuseamento de tesouras e enxadas deve ser praticado com muito cuidado para que não exista perigo de danificar a cultura (Jaramillo, 2011).

A stevia é conhecida por ser livre de ataques de insectos, uma vez que a sua doçura inerente age como um repelente. Portanto, os inseticidas não são essencialmente usados como acontece com outras culturas. Ainda assim, Landázuri & Tigrero (2009) observaram algumas pragas de insectos, como *Trialeurodes vaporariorum* West.,

cochonilhas (nome vulgar dos insectos da família Pseudococcidae), Chrysomelidae e insectos homópteros da família Psyllidae que atacaram levemente a stevia.

3.6. Potencial da espécie como cultura agrícola

A cultura de *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni vem demonstrando crescimento significativo na área cultivada, pois tem um potencial relevante, na medida em que possui inúmeros benefícios para a saúde com as suas propriedades medicinais, sendo também aprovada como suplemento dietético pelo “Food and Drug Administration” (FDA). A sua utilização vai muito além da diabetes e obesidade. Possui propriedades hipoglicemiantes, hipotensivas, vaso dilatadores, anti-fúngicas, anti-virais, anti-inflamatórias, anti-bacterianas, sabor, doçura e aumento da função urinária. Tem ainda a vantagem de não ser viciante, tóxico, carcinogénico, mutagénico, tetrogénico e possuir efeitos genotóxicos.

Apresenta um potencial de rendimento anual, por hectare, de cerca de três ou quatro toneladas de folhas secas em três ou quatro colheitas por ano, com uma concentração de esteviosídeo de 100 mg/g (Torres & Guevara, 2004).

Para utilizar a produção de stevia em contexto comercial é necessária a sua produção em larga escala, sendo a cultura de tecidos um caminho rápido para a propagação desta cultura (Pande & Gupta, 2013).

A stevia pode ser uma cultura inovadora e muito rentável, apresentando condições de mercado promissoras. No futuro, prevê-se que venha a ser um substituto em larga escala do açúcar convencional (Zubiate, 2007).

3.6.1. Propagação

A stevia pode ser propagada por sementes (propagação sexuada), por cultura de tecidos (“in vitro”) e por estacas vegetativas (propagação assexuada) (Midmore & Rank,

2002). Segundo Midmore & Rank (2002), não há diferenças significativas entre estes três métodos relativamente ao crescimento e ao conteúdo em esteviosídeo.

Em climas tropicais, não existem restrições climáticas na altura de crescimento da planta e a propagação sexuada é o método de propagação mais bem-sucedido (Midmore & Rank, 2002). Nesta situação, a stevia reproduz-se a partir dos aquénios, podendo observar-se alta heterogeneidade das populações resultantes, devido à polinização cruzada. Os aquénios são, na sua maioria, estéreis, leves e de fácil dispersão pelo vento (Landázuri & Tigrero, 2009). A taxa de germinação varia muito e requer uma temperatura superior a 20 °C, onde a luminosidade influencia o seu sucesso. Este processo pode ser acelerado em ambiente controlado (estufa) utilizando substrato húmido (Midmore & Rank, 2002). Midmore & Rank (2002) verificaram que apenas 34% das sementes germinaram, comparativamente com 90% de sementes germinadas em ambiente controlado (estufa).

A germinação das sementes de stevia caracterizadas por um pequeno calibre é, geralmente, muito baixa devido a uma elevada proporção de sementes inférteis (Midmore & Rank, 2002).

Na propagação assexuada (propagação por estacas), devido à grande heterogeneidade das plantas obtidas através das sementes (um tipo de propagação agâmica), apresenta algumas vantagens, porque retém as características da planta de origem, sendo o mais conveniente para utilização em escala comercial. O método por estacas tem a vantagem de enraizar facilmente, ainda assim requer alguma atenção e trabalho (Landázuri & Tigrero, 2009). As plantas de algumas variedades produzem-se sem sementes viáveis, sendo a propagação vegetativa o método utilizado para multiplicar as plantas (Yadav *et al.*, 2011). A germinação das sementes, quando em baixa percentagem, torna-se num factor limitante para o cultivo em larga escala de stevia, de forma a tornar o seu uso comercial (Thiyagarajan & Venkatachalam, 2012).

A propagação de stevia é feita, normalmente, por corte executado no caule, mas o principal problema é a heterozigotia e a sua auto-incompatibilidade. Assim, com o objetivo de superar todos os obstáculos, a micropropagação ou técnica de cultura “in vitro” (Figura 3.4) é fundamental quando se pretende produção em massa e a produção de plantas geneticamente idênticas à *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni (Anbazhagan *et al.*, 2010).

Num sistema de multiplicação “in vitro” é importante a seleção do explante, em que o sucesso da propagação dependerá dessa escolha. Depois da excisão, para a esterilização da superfície, os explantes são enxaguados com água, depois com etanol a 70%, seguido de hipoclorito de sódio a 5%. Após cada etapa de esterilização os explantes são lavados com água destilada e outras rotinas de esterilização são realizadas na CFL (câmara de fluxo laminar), sendo posteriormente lavados com água destilada.

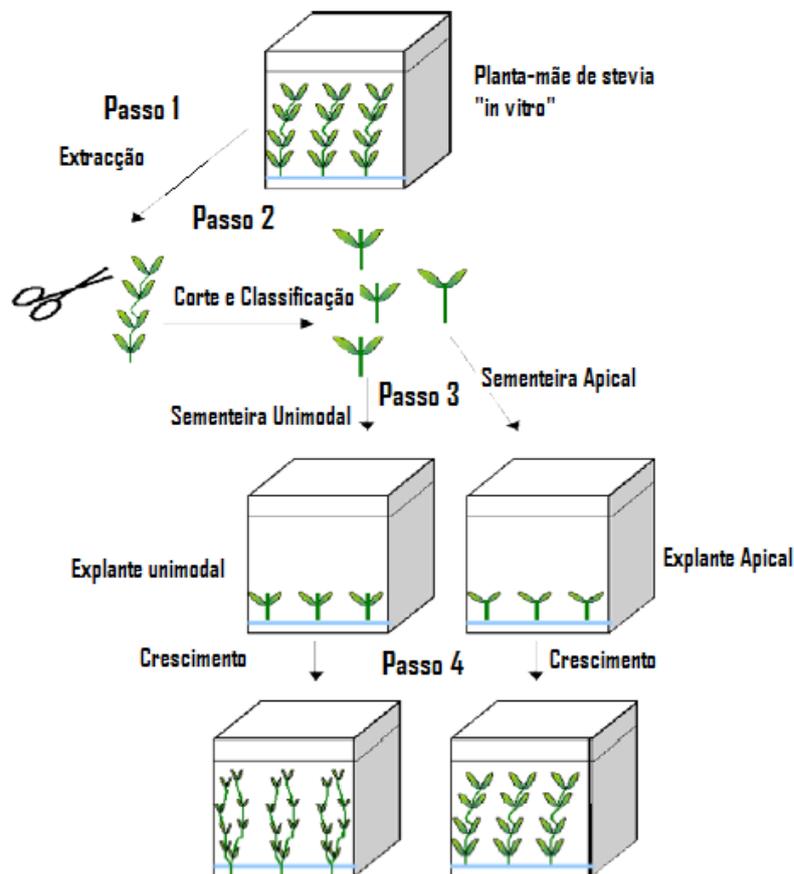


Figura 3.4 - Sistema de multiplicação *in vitro* (Landázuri & Tigrero, 2009)

Finalmente, e ainda na CFL os explantes são cortados em pequenos fragmentos que variam de 0,5 a 1,0 cm de comprimento (Anbazhagan *et al.*, 2010).

Após o corte e a esterilização completa, os explantes são inoculados em meios de cultura MS (Murashige e Skoog: meio de cultura com elevada concentração em sais minerais, utilizado para regeneração de plantas e não só) suplementada com citocininas e auxinas, usadas individualmente ou em combinação.

Após inoculação, as culturas são mantidas a uma temperatura de 25 ± 2 °C, com um fotoperíodo de 16 horas por dia (Anbazhagan *et al.*, 2010).

Porém, para a propagação “in vitro” são necessárias altas infra-estruturas e apoio técnico especializado, o que torna a propagação assexuada mais vantajosa (Ingle, 2008).

3.6.2. Preparação do solo e instalação da cultura

A preparação do solo deve ser efetuada três meses antes de se estabelecer a cultura e não existe uniformidade relativamente aos critérios de exigência do solo. Contudo, a stevia no seu estado selvagem, cresce em solos de baixa fertilidade, ácidos (tolera um pH de solo entre 4 a 5, mas o crescimento é melhorado com um pH de solo entre 6,5 a 7,5, desde que não seja salino), arenosos e com algum teor de humidade. A água do subsolo está a cerca de 50 cm de profundidade, sendo a planta rústica e pouco exigente. O solo ideal para cultivo de *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni é do tipo franco-arenoso e com adequado teor de água. Como já foi referido, adapta-se bem a solos argilosos com boa drenagem, mas não em locais com humidade excessiva (Taiariol & Molina, 2010).

Assim, a stevia é uma planta que prefere solos bem drenados, não salinos e ao efetuar-se uma correcta adubação vai haver melhoramento da estrutura do solo e capacidade de fornecer nutrientes (Shock, 1982).

Previamente à instalação da cultura e com o intuito de criar condições que facilitem o normal desenvolvimento das plantas, são realizadas mobilizações de solo, que segundo Torres & Guevara (2004) podem possibilitar, ainda, a decomposição de alguma matéria orgânica, se existente no solo, e conseqüentemente a libertação de nutrientes, em proveito da cultura.

Taiariol & Molina (2010), sugerem a mobilização de solo convencional ou tradicional, como o tipo de mobilização a ser efetuado para a instalação desta cultura.

Após eliminar as infestantes e os resíduos da superfície do solo, o terreno é nivelado, marcam-se as linhas de plantação com uma largura entre linhas a tender para 40 cm, dando origem aos camalhões que têm uma altura entre 10 cm e 15 cm. O uso de plástico preto nas linhas de plantação é generalizado na horticultura, uma vez que oferece algumas vantagens importantes, como controlar as plantas infestantes e prolongar a humidade no solo (Taiariol & Molina, 2010).

Assim, a densidade de plantação calcula-se com o espaçamento de 30 cm entre as plantas na linha de plantação, e 40 cm entre as linhas de plantação, obtendo-se uma densidade de cerca de 83.250 plantas por hectare. Quando existe necessidade de rega, esta deve ser gota-a-gota para evitar excesso de humidade, o que irá permitir uma maior densidade, cerca de 100.000 a 150.000 plantas por hectare, uma vez que não existe competição entre as plantas pela água (Torres & Guevara, 2004).

Relativamente à instalação da cultura a partir de plantas desenvolvidas em estufa, regra geral, um ramo vigoroso é cortado na base e plantado no campo, mantendo 2 a 3 nós acima do solo e a zona do corte pode ser mergulhada numa calda fungicida, como por exemplo em óleo de nim. Cortes de caules e rebentos novos podem ser propagados com êxito. Cerca de 98-100% do enraizamento pode ser obtido quando os cortes são feitos a partir das axilas das folhas. Além disso, o local da planta onde são

feitos os cortes podem também afetar o crescimento e enraizamento da planta. (Yadav *et al.*, 2011)

3.6.3. Gestão da Cultura

Na forma como deve ser executada a gestão da cultura, existem inúmeros fatores a ter em conta, nomeadamente, as práticas culturais como a fertilização, rega e poda, controlo de pragas, controlo de infestantes, prevenção e controlo de doenças e a colheita. Previamente ao processo de plantação é necessário que o solo esteja preparado e que apresente as características químicas e orgânicas favoráveis a uma boa gestão da cultura.

Fertilização

Após verificar se o terreno apresenta as condições ecológicas para o estabelecimento da cultura de *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni, deve realizar-se um estudo de solo de modo a conhecer as suas deficiências e necessidades, estabelecendo o plano de adubação química e orgânica mais adequado. É fundamental realizar a fertilização com azoto (N), fósforo (P), potássio (K) e outros macro e micro nutrientes importantes para que a cultura não acumule deficiências nutricionais que irão afetar o aspeto e a qualidade das folhas e a planta em geral. No estabelecimento da stevia devem avaliar-se as análises de solo e os planos de fertilização, pois uma fertilização inadequada poderá originar um baixo rendimento de produção de folhas secas, o que permitirá ao longo dos anos ajustar as doses de fertilizantes (Jaramillo, 2011).

Apesar da necessidade de avaliação da fertilidade do solo e da fertilização da cultura, as plantas de stevia não necessitam da aplicação de muitos fertilizantes devido à sua fácil adaptação a solos de baixa fertilidade (Midmore & Rank, 2002).

Rega

A rega é fundamental para o crescimento da cultura de stevia, visto que as plantas não toleram longos períodos de seca e é uma prática que tem de ser gerida para potenciar a produção à colheita. O baixo índice de expansão alcançado pelo seu sistema radical, a profundidade limitada, bem como a natureza e o crescimento das plantas, impõem que o solo tenha um nível de humidade adequado para garantir o crescimento das plantas de *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni. Em regiões onde a precipitação anual é menor que 1400 mm, a rega gota-a-gota é a mais recomendada uma vez que não encharca demasiado o solo, serve para aplicar fertilizantes químicos e os problemas fitossanitários são evitados. A gestão da rega dependerá do local, condições de clima e de solo, sendo as necessidades hídricas da cultura, segundo Jaramillo (2011) de 5 mm por dia com intervalos de três dias para solos arenosos e com intervalos de 5 dias para solos argilosos. A rega deve ser interrompida 15 dias antes da colheita de modo a não afetar o teor de esteviosídeo nas folhas (Jaramillo, 2011).

Assim, a rega frequente é necessária para manter a humidade do solo, uma vez que qualquer stresse hídrico pode reduzir a produção de folhas e afetar o rendimento esperado (Midmore & Rank, 2002).

Poda

As podas são importantes para o desenvolvimento da planta e devem ser feitas ao início da manhã ou ao final do dia, evitando as horas de maior calor para que não exista risco de desidratação e secagem dos ramos secundários e terciários (Jaramillo, 2011).

Existem 3 tipos de poda: poda de formação, poda sanitária e poda de renovação. A poda de formação é uma poda realizada oito dias depois da instalação da cultura no campo e constitui a prática de cortar o gomo terminal (formação inicial do ramo), deixando uns quantos pares de folhas com o objetivo de estimular o aparecimento de

novos ramos. Um segundo corte é executado, após alguns dias, consistindo na poda das ramificações secundárias da mesma forma que se realizou a primeira. Posteriormente, fazem-se os cortes necessários nos ramos terciários e quaternários e eliminam-se os botões florais para que a planta se desenvolva.

A poda sanitária realiza-se com o objetivo de remover ramos que tenham sofrido danos mecânicos ou que estão afetados por doenças, principalmente *Septoria* sp., ou ainda quando a planta exhibe muita floração. Normalmente, a poda é submetida a cerca de 25 cm do solo para estimular o crescimento vegetativo.

Na poda de renovação o corte é também efetuado a 25 cm do solo para renovar a área produtiva, realizada normalmente quando esta está em decadência ou quando se observam doenças na planta (Jaramillo, 2011).

Controlo de infestantes, pragas e doenças

Relativamente ao controlo de plantas infestantes, é fundamental fazê-lo de forma cuidadosa para que o impacto económico seja reduzido. A solução passa pela proteção integrada que consiste em desenvolver um conjunto de práticas ou métodos, conduzidos a manter as plantas nocivas que competem com a stevia, em níveis que não a afetem. Os métodos mais eficazes capazes de combater este problema, devem fundamentar-se em conhecimentos básicos sobre a identificação das infestantes e o seu nível de infestação, a biologia e ecologia das espécies de infestantes dominantes, o efeito competitivo das espécies infestantes dominantes, os métodos de controlo tecnicamente efetivos, economicamente viáveis e seguros para o ambiente, práticas agrícolas usuais e a capacidade económica do produtor. Apesar de existirem vários métodos no combate às infestantes, estas não devem tratar-se independentemente, pois o uso de um único método de controlo reduz de forma significativa a sua eficiência, ficando limitada a utilização ao longo do tempo. Por isso, a combinação de algumas práticas de controlo devem ser integradas para terem maior efeito. Entre os métodos utilizados, a prevenção

recorrendo aos meios físicos (práticas culturais, manuais ou mecânicas), químicos e biológicos são determinantes para garantir uma boa gestão dos inimigos da espécie (Vélez & Zapata, 2006).

No caso de existir disseminação de novas espécies através de substratos utilizados na transplantação de plantas provenientes da estufa para o campo ou no material da sementeira, recomenda-se, como medida preventiva o tratamento físico do substrato, através da solarização (Jaramillo, 2011).

São vários os métodos físicos utilizados para diminuir a interferência das infestantes no cultivo de stevia. Alguns exemplos são: a solarização, que é uma técnica eficiente que controla as sementes e plantas de um vasto espectro de plantas nocivas, e os plásticos negros que têm um efeito negativo no desenvolvimento de infestantes, uma vez que existe ausência de luz. Este último é um método que emprega muita mão-de-obra e é dispendioso (Jaramillo, 2011).

O método cultural é dos métodos mais importantes abrangendo todos os aspetos do cultivo da planta, por exemplo, a preparação do terreno, níveis adequados de fertilização e densidade ótima da sementeira (Jaramillo, 2011).

Os métodos químicos e biológicos não são usados como métodos únicos nem são os mais efetivos, mas em combinação com outras técnicas, tornam-se em métodos eficazes. Por exemplo, uso de produtos químicos no controlo de plantas infestantes é eficaz se aplicados antes de se iniciar a plantação e com a ajuda de métodos físicos durante o seu desenvolvimento (Vélez & Zapata, 2006).

O método manual ou mecânico é prático e eficaz. No entanto o seu êxito depende do momento que é utilizado e principalmente da disponibilidade e custo da mão-de-obra nas diferentes regiões (Vélez & Zapata, 2006; Jaramillo, 2011).

O cultivo de stevia pode ainda ser afetado por pragas e doenças como mencionado no capítulo dos problemas sanitários. Este problema pode afetar o

rendimento e a qualidade das suas folhas. Assim, é necessário encontrar formas de prevenir e/ou remediar a ocorrência de maneira a não danificar a cultura, nomeadamente desinfetar todo o material aquando da instalação da cultura e preparando o solo convenientemente (Jaramillo, 2011).

Colheita

No final de cada ciclo de crescimento da planta, imediatamente antes do início da floração, deve ocorrer a colheita. Esta deve ser realizada antes que a planta inicie o botão floral para se obter o máximo conteúdo de glicosídeo. A aparência das folhas perde qualidade a partir desse estado, efetuando-se o corte 5 a 10cm acima do solo. Os cortes devem ser feitos pela manhã (para que a planta tenha tempo de secar à tarde) com ferramentas bem aguçadas, para que não ocorra oscilação do sistema radicular das plantas (Torres & Guevara, 2004; Midmore & Rank, 2002).

Após a colheita os ramos juntam-se, expõem-se ao sol e ao final do dia guardam-se em local fechado para evitar a humidade matinal. Depois de dois dias de secura das folhas estas desprendem-se do caule com maior facilidade (Torres & Guevara, 2004).

Segundo Midmore & Rank (2002) em climas frios, caracterizados por invernos rigorosos, apenas é possível fazer uma colheita por plantação e uma colheita precoce pode originar redução do rendimento total. Com o cobrimento das “coroas” das plantas, estas podem sobreviver durante o inverno e a produção de uma segunda temporada poderá ser possível (Midmore & Rank, 2002).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Localização e caracterização climática

Este trabalho tem como objetivo estudar a capacidade de adaptação da espécie *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni às condições mediterrânicas. Os ensaios foram realizados na Herdade da Mitra (38°31'N, 8°01'O), propriedade da Universidade de Évora, situada no concelho de Évora, Freguesia de Nossa Senhora da Tourega a cerca de 12 km de Évora.

De acordo com a classificação de Köppen o clima é temperado com Verão quente e seco (Csa), a temperatura média do ar dos três meses mais frios compreendidas entre -3 °C a 18 °C, temperatura média do ar no mês mais quente superior a 22 °C e estações de Verão e Inverno bem definidas. A precipitação ocorre maioritariamente no período do Inverno.

A Figura 4.1 apresenta a precipitação e a temperatura entre Setembro de 2012 e Agosto de 2013. Os dados foram registados na estação meteorológica da Mitra, Valverde, sob a responsabilidade do Centro de Geofísica de Évora, instalada na Herdade da Mitra onde decorreram os trabalhos de campo.

A Figura 4.2 apresenta valores médios de precipitação e temperatura no período de 1971 a 2000 (Évora) registados pelo Instituto Português do Mar e da Atmosfera (IPMA).

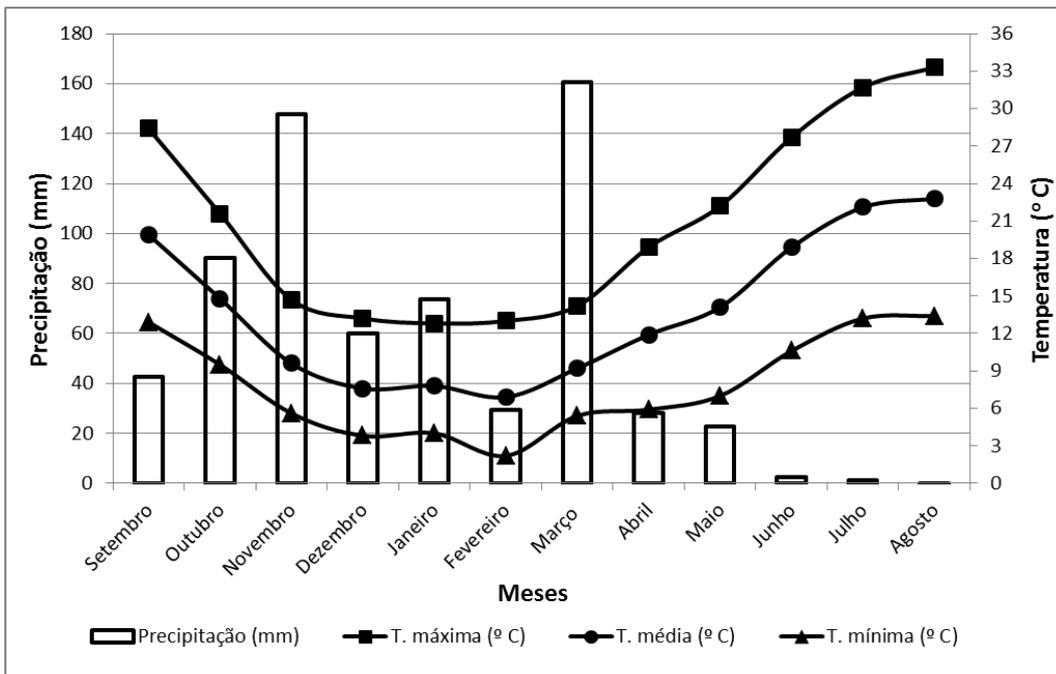


Figura 4.1 - Condições termopluiométricas de Setembro de 2012 a Agosto de 2013
(valores de precipitação e médias das temperaturas mensais).

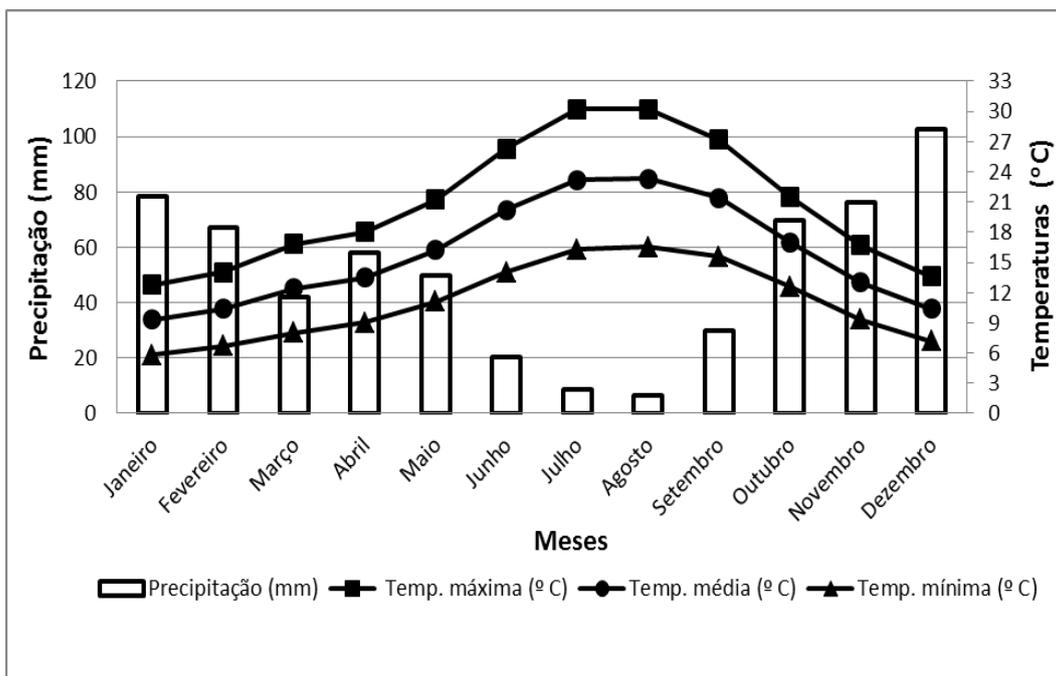


Figura 4.2 - Condições termopluiométricas no período de 1971 a 2000 em Évora
(valores médios de trinta anos).

Relacionando a Figura 4.1 com a Figura 4.2, verifica-se que o Outono de 2012 (Setembro, Outubro e Novembro) apresentou uma precipitação elevada, sendo os valores médios mensais superiores aos valores médios de trinta anos (1971 a 2000).

Observa-se ainda que, a Primavera de 2013 (Abril, Maio e Junho) foi um período menos chuvoso quando comparado com os valores médios registados de trinta anos.

Especificamente, os meses de Novembro de 2012 e Março de 2013 apresentaram valores elevados, tendo sido os meses mais chuvosos, onde a precipitação média mensal foi superior a 140 mm. Por outro lado, os meses de Verão de 2013 apresentaram valores de precipitação pouco significativos comparativamente com a média de anos anteriores, concluindo que foi um Verão mais seco.

Relativamente às temperaturas registadas, as mínimas foram inferiores às observadas no período de 1971/2000. O valor mínimo registado durante o período de observação foi de 2,2 °C, valor baixo comparativamente ao 5,8 °C de média de trinta anos (período de 1971/2000). As temperaturas máximas apresentaram valores superiores relativamente à média do período de 1971/2000, concluindo que o Verão de 2013 foi mais quente. Perante isto, a água que é um dos fatores agro-ecológicos mais importantes deveria ser fornecida a partir de uma gestão adequada, através de sistemas de rega, para assegurar a produção potencial da espécie.

4.2. Descrição e instalação dos ensaios

4.2.1. Germinação de sementes de *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni em ambiente controlado

O ensaio de germinação das sementes de stevia foi realizado no laboratório de pastagens e forragens, sendo colocadas vinte cinco sementes num germinador (Figura 4.3), com três tratamentos de temperatura, 20, 25 e 30 °C e quatro repetições.

Na temperatura de 25 °C foram testados dois tratamentos de luz, com e sem luz, e quatro repetições.

Em qualquer dos tratamentos, a quantificação da germinação foi efetuada ao fim de um período de 10 dias.

No ensaio de germinação foram utilizados quatro recipientes (repetições) para cada tratamento com 25 sementes em cada recipiente. Os recipientes utilizados foram, pratos de plástico que continham areia e papel absorvente, para manter um humedecimento adequado à germinação das sementes.



Figura 4.3 - Germinador de sementes

4.2.2. Ensaio de campo em condições mediterrânicas

Em condições de campo foi instalado em 2012 um ensaio no horto da Herdade Experimental da Mitra. Segundo a classificação de solos do Centro Nacional de Reconhecimento e Ordenamento Agrário (C.N.R.O.A.), o solo onde decorreu a experimentação é um Solo Mediterrâneo Pardo de Quartzodioritos (Pmg) (Cardoso, 1965).

Segundo Cardoso (1965) este solo pertence ao grupo de “Solos Mediterrâneos Pardos de Materiais Não Calcários” e tem como principal característica genética a presença de um horizonte B do tipo “textural” de pequena insaturação.

Os “Solos Mediterrâneos Pardos de Quartzodioritos (Pmg)” são constituídos por:

- Horizonte A1- 15 a 35 cm; pardo ou castanho; franco arenoso e arenoso; estrutura granulosa fina fraca ou sem agregados; não aderente, não plástico, muito friável ou solto, fofo ou solto; pH 5,5 a 6,5.

Transição nítida ou abrupta para,

- Horizonte B- 20 a 50 cm; pardo ou castanho com pontuações esbranquiçadas de feldspatos; franco-argilo-arenoso, franco-argiloso, argilo-arenoso ou argiloso; estrutura prismática média ou grosseira moderada ou fraca; há películas de argila nas faces dos agregados; aderente, plástico, muito firme, muito rijo ou rijo; pH 6,5 a 7,5.

Transição nítida ou gradual para,

- Horizonte C- material originário proveniente da desagregação de quartzodioritos, notando-se nele, além de feldspatos, partículas de quartzo e micas”.

O solo onde decorreu a experimentação apresenta uma textura franco-arenosa, cujas características físicas são apresentadas na tabela 4.1. Relativamente ao teor de matéria orgânica, o solo apresentava um valor de 1,82 %.

Tabela 4.1 - Características físicas do solo, previamente à implantação da cultura.

Terra fina	%
Areia	68,9
Limo	13,2
Argila	17,9

Para a instalação do ensaio efetuou-se primeiramente a mobilização do solo com um sub-solador para descompactá-lo, seguido de uma grade-de-discos para regularizar a superfície do solo e efetuar a mistura dos resíduos vegetais. Foram plantadas duas linhas de plantas obtidas a partir de sementes de um genótipo proveniente de Israel, utilizando-se um compasso de 50 cm de distância na entrelinha e 33 cm de distância entre plantas. Em cada linha instalou-se um sistema de rega gota-a-gota, constituído por um tubo com gotejadores de débito de $2,2 \text{ L h}^{-1}$, distanciados 33 cm. A rega iniciou-se na 2ª quinzena de Junho de 2013, com $0,733 \text{ L/planta/dia}$ (uma rega ao fim do dia com duração de 20 minutos) e a partir da 2ª semana de Julho de 2013 (08/07/2013) foi aplicada uma rega de $1,47 \text{ L/planta/dia}$ (uma rega ao fim do dia com duração de 45 minutos), que se manteve durante todo o verão de 2013. No total de 100 plantas, foram selecionadas, ao acaso, 25 para verificar o desenvolvimento e o crescimento destas durante o inverno, primavera e verão de 2013 (Figura 4.4). Ao nível das vinte e cinco plantas analisou-se o crescimento de ramos primários e secundários, altura das plantas, aparecimento dos botões florais e produção de biomassa total (produção biológica) e biomassa das folhas (produção económica). Das vinte e cinco plantas selecionaram-se quatro plantas com um ciclo vegetativo mais curto para cortar e quantificar a produção no fim de Agosto de 2013. Após o corte, as plantas foram colocadas na estufa a uma temperatura de $60 \text{ }^\circ\text{C}$ durante ± 48 horas, até obtenção de peso constante, para efetuar a separação das folhas e dos ramos e recorrendo à pesagem quantificar a produção de biomassa de folhas e de caules.

A partir do desenvolvimento e crescimento das vinte e cinco plantas de stevia e das temperaturas registadas durante o período de observações, foi possível relacionar os parâmetros relativos às condições ambientais (temperaturas e radiação solar) com a resposta do crescimento das plantas de stevia, quantificado pela altura das plantas e pelo número de ramos, procurando com o auxílio do coeficiente de determinação a melhor qualidade de ajustamento dos modelos aos dados.

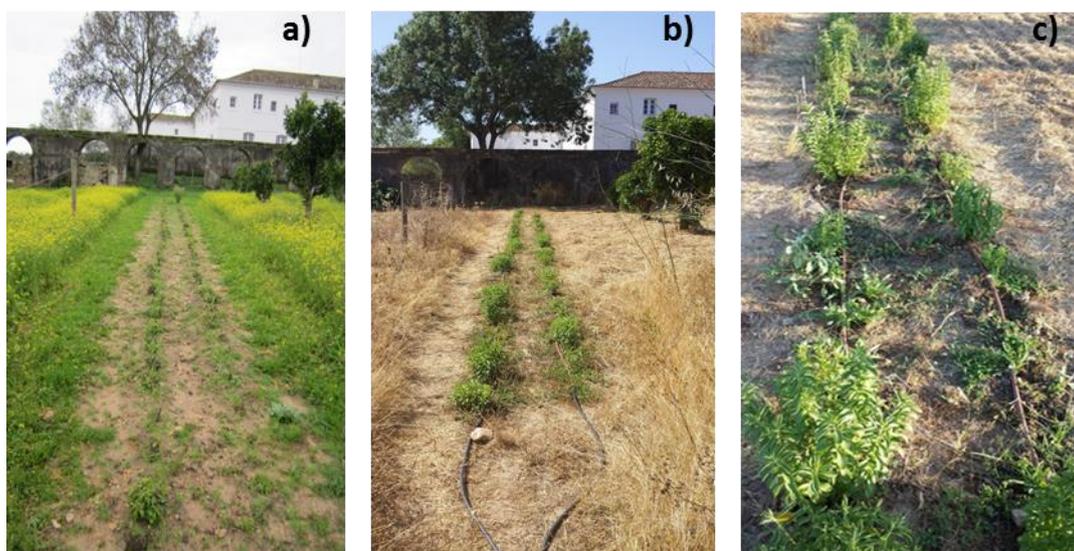


Figura 4.4 - Ensaio de campo da *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni em diferentes fases de desenvolvimento a) Novembro de 2012, b) Julho de 2013 e c) Agosto de 2013

4.2.3. Ensaio de gestão da altura de corte das plantas em ambiente controlado

Como em algumas regiões da Europa a *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni está a ser cultivada em ambiente controlado (estufa), foram ensaiadas 15 plantas, instaladas em vasos e colocados em ambiente controlado (estufa) durante um período de duzentos e treze dias (Figura 4.5).

A exemplo do ensaio de campo, pretendia-se obter informação sobre o desenvolvimento e o crescimento das plantas de stevia, sobretudo a sua resposta à gestão efetuada ao nível do corte das plantas, a partir da avaliação do efeito da altura de corte no crescimento da stevia. Para estudar a altura de corte foram testados três níveis, um, cinco e dez centímetros, com cinco repetições em cada nível. O objetivo consistia em verificar o recrescimento das plantas, sobretudo a resposta ao nível do aparecimento de ramos primários e secundários, altura das plantas até ao aparecimento do botão floral (novo corte), duração do período até novo corte e produção de biomassa total e de folhas.

Nas plantas observou-se e quantificou-se a altura das plantas, número de ramos primários e secundários, produção de biomassa total e de folhas e aparecimento das estruturas florais.

Após a colheita, seguiu-se o processo de secagem, separação de ramos e folhas e posterior pesagem. Os valores registados relacionaram-se com os diferentes níveis de altura de corte a fim de conhecer qual é o tratamento mais adequado para uma melhor gestão da altura do corte das plantas.



Figura 4.5 - Vasos de *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertonni em ambiente controlado (estufa), a) fase inicial, b) fase final de maturação e c) corte das plantas

4.3. Tratamento estatístico

Os tratamentos estatísticos utilizados foram a análise de variância (ANOVA) univariada e a regressão linear e não linear. As diferenças entre tratamentos foram comparadas usando o teste múltiplo de médias (“Duncan Multiple Range Tests”) para um nível de probabilidade de 5% (intervalo de confiança de 95%). Desta maneira, foi determinada a existência ou não de diferenças significativas entre as médias respetivas (Carvalho, 1988). As análises de variância foram efetuadas de acordo com o delineamento experimental e utilizou-se o programa SPSS 21.0.

Nos quadros do quinto capítulo, dedicado à análise e discussão dos resultados, quando a mesma letra aparece em duas médias, a diferença entre elas não é significativa. Porém, se não há nenhuma letra comum a ambas as médias, a diferença é estatisticamente significativa.

Quando os tratamentos são classificados em níveis de fatores quantitativos (exemplo número de plantas), um procedimento com boa capacidade informativa é o ajustamento da função resposta, usando equações de regressão (Petersen, 1977). Os dados obtidos com estas características, foram relacionados, sempre que possível, através deste instrumento matemático e as equações de regressão calcularam-se com o auxílio do programa SPSS 21.0 e do Excel versão 2007. Com o auxílio do coeficiente de determinação, procurou-se melhorar a qualidade de ajustamento dos diversos modelos aos dados.

5. ANÁLISE E DISCUSSÃO DE RESULTADOS

5.1. Germinação de sementes de *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni em ambiente controlado

A verificação das condições para germinação das sementes de stevia, sobretudo a influência da temperatura, decorreu em ambiente controlado (estufa) e os resultados da faculdade germinativa apresentam-se na Tabela 5.1. Para um nível de significância de 5 %, constata-se que a temperatura é um fator determinante na percentagem de germinação, ou seja, para diferentes níveis de temperatura obteve-se pelo menos uma faculdade média de germinação diferente (teste F (9,214), p-value de 0,007) (Anexo I).

De acordo com a comparação múltipla das médias, utilizando o teste de Duncan, conclui-se que os valores médios da percentagem de germinação obtidos com os tratamentos de 25 e 30 °C não apresentam diferenças significativas entre as suas médias. Contudo, o tratamento de 25 °C permitiu atingir um valor mais elevado na germinação das sementes de stevia.

Esta verificação confirma o que tinha sido demonstrado por Takahashi *et al.* (1996), em que o melhor desempenho germinativo das sementes de stevia ocorria quando submetidas à temperatura de 25 °C. Também Andrade (2012) verificou a partir de um estudo de germinação de sementes que, com temperaturas de 20, 25 e 30 °C, o melhor desempenho germinativo ocorreu com temperatura de 25 °C, em que a taxa de germinação atingiu 90,29%. Segundo Randi (1980), a percentagem de germinação sofre uma diminuição gradual à medida que há um aumento ou diminuição de temperatura a partir dos 25 °C.

Tabela 5.1 - Efeito do nível de temperatura (°C) na facultade germinativa das sementes de *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni

Níveis de temperaturas (°C)	Facultade germinativa (%)
20	77b
25	90a
30	85a

De acordo com os valores obtidos, considerou-se a temperatura de 25 °C para avaliar a resposta da taxa de germinação à potência da luz.

A partir da análise de variância com o fator luz, aplicando-se dois níveis, zero watts (sem luz) e noventa watts constata-se na Tabela 5.2 e Anexo II que a luz não influencia significativamente a taxa de germinação (p-value de 0,791). A diferença dos valores médios é de 1 %, por isso, pode concluir-se que neste estudo as sementes não foram fotossensíveis.

Tabela 5.2 - Efeito do tratamento de luz na germinação de sementes de *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni para uma temperatura de 25 °C

Níveis de potência de luz (W)	Facultade germinativa (%)
0	90
90	89

No entanto, Goettemoelle & Ching (1999) investigaram a baixa germinação das sementes de stevia com dois tipos de sementes, pretas e castanhas, e verificaram a influência dos tratamentos de polinização e o efeito da luz. No seu estudo, concluíram que a luz aumentou a percentagem de germinação das sementes pretas, enquanto as sementes castanhas caracterizaram-se por serem inviáveis. Randi (1980) também observou que a percentagem de germinação é mais elevada quando as sementes foram

expostas à luz, uma vez que existiram diferenças estatisticamente significativas entre os valores de germinação obtidos com e sem luz.

Neste trabalho a taxa de germinação das sementes de stevia testadas foi muito superior, com e sem luz, à referida noutros trabalhos. A elevada capacidade germinativa apresentada pelas sementes testadas pode estar relacionada, como referem Abdullateef & Osman (2011) e Madan *et al.* (2010), com as condições de polinização e formação das sementes na planta progenitora, que permitiram obter sementes caracterizadas por uma grande viabilidade germinativa. A grande viabilidade das sementes permitiu um sucesso germinativo muito superior ao indicado noutros trabalhos, em que, segundo Abdullateef & Osman (2011) e Madan *et al.* (2010), os valores de germinação não ultrapassaram os 10%.

5.2. Desenvolvimento e crescimento da stevia em condições mediterrânicas

O desenvolvimento e crescimento da stevia em condições mediterrânicas foram avaliados a partir de um ensaio de plantas submetidas às condições ambientais do Alentejo Central (região de Évora). Nos dois subcapítulos seguintes apresenta-se a resposta das plantas de stevia às condições térmicas e analisa-se e discute-se o potencial de crescimento e de produtividade das plantas de stevia em ambiente mediterrânico.

Segundo Zubiante (2007) e Puri *et al.* (2012) a avaliação positiva no desenvolvimento e crescimento da stevia em ambiente mediterrânico é extremamente relevante, uma vez que se está a desenvolver uma cultura caracterizada por trazer benefícios tanto a nível da saúde como ao nível económico para Europa, apresentando condições para ter sucesso no mercado de adoçantes.

5.2.1. Influência das condições de clima

A partir dos valores relativos às temperaturas médias, mínimas e máximas, e radiação solar registados durante o período de observações (estação meteorológica da Mitra da responsabilidade do centro Geofísica de Évora), foram avaliadas as relações entre os valores registados e o número de ramos, altura e taxa de sobrevivência das plantas de stevia.

Com base na Figura 5.1, verifica-se que não existe desenvolvimento de ramos nas plantas de stevia (rebentos vegetativos) e, em consequência, aparecimento de potenciais ramos produtivos quando em determinado período os valores médios das temperaturas médias do ar são iguais ou inferiores a 7 °C. Apenas a partir de uma temperatura média do ar de 8 °C foi possível observar a presença de alguns ramos nas plantas e à medida que a temperatura aumenta o número de ramos potenciais segue essa tendência. Assim, pode afirmar-se que a temperatura média do ar determina o aparecimento de estruturas vegetativas, ou seja, o desenvolvimento das plantas de stevia.

Para Midmore & Rank (2002) o aparecimento e crescimento das estruturas vegetativas da stevia é afetada diretamente pela temperatura média do ar. Apesar de ser uma planta com larga amplitude térmica, que abrange temperaturas que podem ir de -6 a 43 °C, verifica-se que a temperatura ideal de desenvolvimento e crescimento está situada, de uma forma aproximada, entre os 24 e os 28 °C. Por isso, e como outros autores já haviam demonstrado (Shock, 1982; Landázuri & Tigrero, 2009), é nesse intervalo de temperatura que as plantas apresentaram maior número de ramos totais.

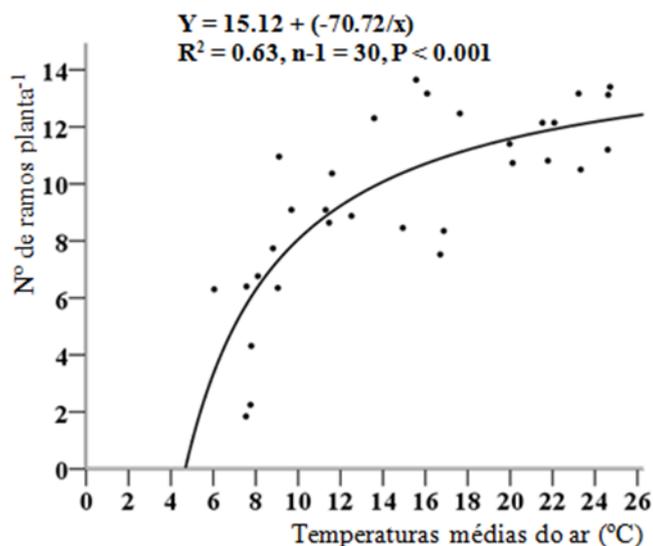


Figura 5.1 - Relação entre a média das temperaturas médias do ar (°C) e o número médio de ramos potenciais por planta de stevia com sucesso vegetativo.

Na Figura 5.2 verifica-se que para temperaturas médias inferiores a 8 °C o crescimento das plantas é quase nulo. A partir dos 9 °C as plantas iniciam o seu crescimento, e tal como foi verificado para o número de ramos, também o crescimento das plantas acompanha o acréscimo das temperaturas médias do ar.

A influência da temperatura média do ar também foi verificada noutros trabalhos (Martinez, 2011; Grassi, 2009), que indicaram valores médios de temperatura do ar a tender para 10 °C para existir crescimento das plantas de stevia e, em consequência, acréscimo no porte das plantas.

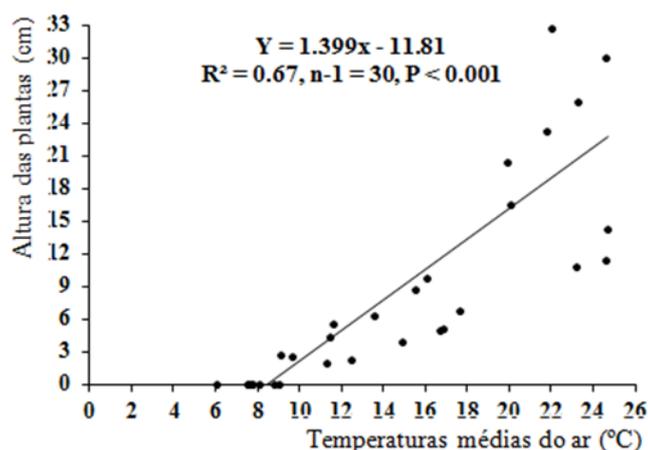


Figura 5.2 - Relação entre a média das temperaturas médias do ar (°C) e a média das alturas de plantas de stevia com sucesso vegetativo.

Quanto às temperaturas mínimas toleradas pela stevia verifica-se na Figura 5.3 que não há formação dos primórdios dos ramos quando um período de tempo apresenta valores médios das temperaturas mínimas do ar inferiores a 2 °C, sendo necessárias temperaturas mínimas superiores a 4 °C para ocorrer a rebentação nas plantas. Assim, só quando as temperaturas mínimas ultrapassam os valores de 4 a 5 °C existe desenvolvimento vegetativo das plantas, ocorrendo a rebentação e o aparecimento dos ramos produtivos potenciais, como descreveu Andrade (2012). Este autor verificou que a cultura de stevia pode suportar temperaturas mínimas de 5 °C, sendo o ponto crítico quando estas se encontram abaixo dos 2 °C. De acordo com Andrade (2002), apesar dos ramos da planta tolerarem temperaturas abaixo dos 2 °C, se isso acontecer de forma contínua, a planta deixará de crescer e desenvolver-se, o que significa que não haverá surgimento de novos ramos.

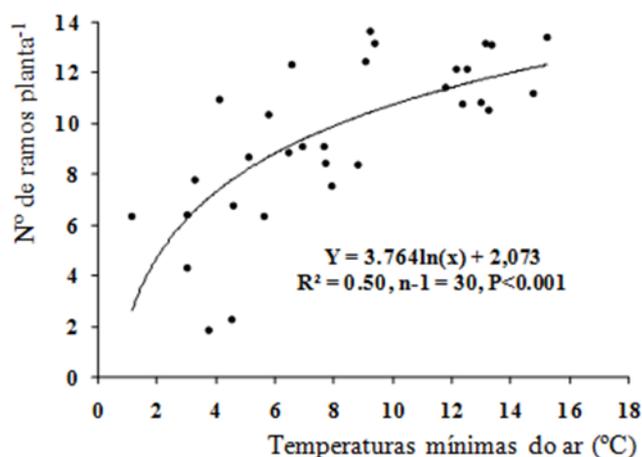


Figura 5.3 - Relação entre a média das temperaturas mínimas do ar (°C) e o número médio de ramos potenciais por planta de stevia com sucesso vegetativo.

Na Figura 5.4, verifica-se que para existir uma taxa de sobrevivência ao nível de estruturas vegetativas das plantas superior a 80% as temperaturas mínimas têm de ser superiores a 3 °C. Daqui conclui-se, que valores médios das temperaturas mínimas inferiores a 3 °C limitam o desenvolvimento vegetativo das plantas e podem causar a morte das plantas.

Como já foi mencionado para o número de ramos, o desenvolvimento vegetativo das plantas começa para temperaturas mínimas a partir de 4-5 °C, verificando-se também um acréscimo ao nível da taxa de sobrevivência das plantas quando os valores das temperaturas mínimas superam esse valor. A planta pode ser submetida a temperaturas negativas, até - 5 °C, mas essa exposição não poderá ultrapassar os 70 minutos, uma vez que posteriormente a isso a planta morrerá (Andrade, 2012).

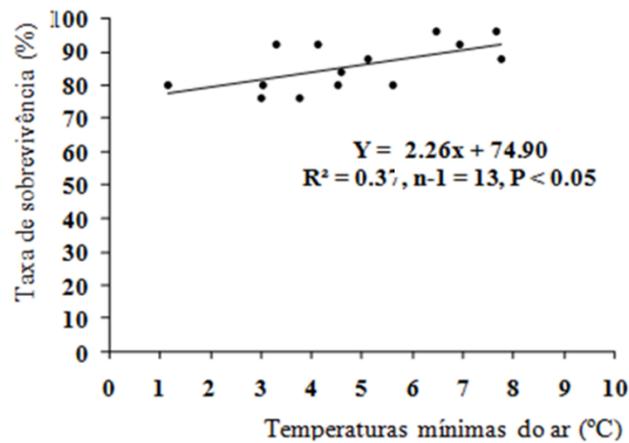


Figura 5.4 - Relação entre a média das temperaturas mínimas do ar (°C) e a taxa de sobrevivência de plantas de stevia (valores registados até ao dia 23 de Abril de 2013).

De acordo com a Figura 5.5, confirma-se que a temperatura mínima necessária para que exista crescimento das plantas de stevia tende para os 4 a 5 °C, aumentando a altura das plantas com o acréscimo dos valores das temperaturas mínimas. A partir de valores de temperatura mínima a tender para 8 a 10 °C nota-se um bom crescimento das plantas quantificado pelo acréscimo do seu porte, como é referido por Grassi *et al.* (2009). Estes autores afirmam que a planta de *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni tende a crescer quando as temperaturas mínimas estão acima dos 9 °C, valor a partir do qual, se verifica, em geral, a desinibição do crescimento vegetativo.

Por outro lado, temperaturas baixas provocam inibição ou impedimento do desenvolvimento da folha, ou seja, há uma diminuição significativa do crescimento vegetativo. Normalmente, a stevia não tolera temperaturas abaixo de 9 °C mas, ocasionalmente, pode tolerar temperaturas próximas de zero (Grassi *et al.*, 2009).

Constata-se assim que a temperatura mínima é determinante para o crescimento das plantas de stevia.

Apesar do aumento da altura caracterizar todas as plantas, destaca-se alguma heterogeneidade, resultante da população de plantas apresentar heterogeneidade e instabilidade, uma vez que estamos perante uma espécie que se encontra numa fase inicial de melhoramento. Por isso, ainda existe muito trabalho para obter genótipos que permitam a existência de populações de plantas idênticas, homogêneas e estáveis.

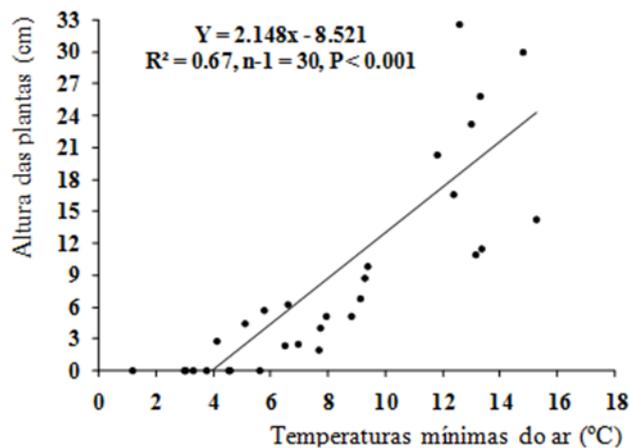


Figura 5.5 - Relação entre a média das temperaturas mínimas do ar (°C) e a média das alturas de plantas de stevia com sucesso vegetativo.

Como foi referido, verifica-se que o desenvolvimento das plantas de stevia depende da temperatura e no caso das temperaturas máximas é necessário, em ambiente mediterrânico, valores médios de temperaturas máximas superiores a 12 °C para haver desenvolvimento vegetativo. Todavia, nota-se um número superior de ramos potenciais quando a média das temperaturas máximas é superior a 15 °C (Figura 5.6) como Villa & Chifra (2006) já haviam descrito, ou seja, a partir desta temperatura existe um aumento significativo do desenvolvimento e crescimento da planta e essa tendência mantém-se até aproximadamente os 30 °C.

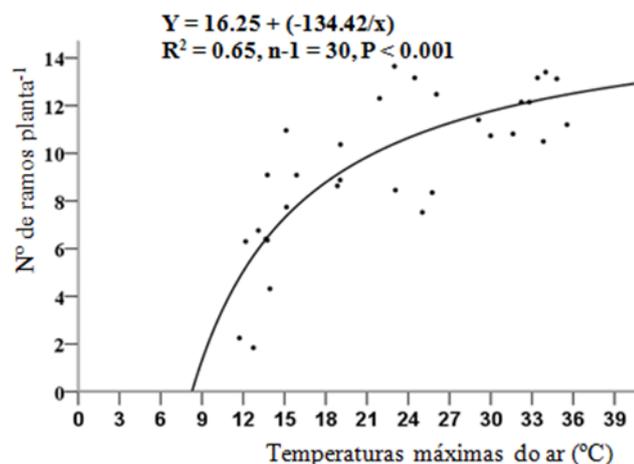


Figura 5.6 - Relação entre a média das temperaturas máximas do ar (°C) e o número médio de ramos potenciais por planta de stevia com sucesso vegetativo.

Segundo Martínez (2011) e Villa & Chifa (2006), as plantas de stevia toleram temperaturas superiores a 40 °C, no entanto, verifica-se na Figura 5.7 que a sobrevivência das plantas pode decrescer quando a média das temperaturas máximas é superior a 30 °C, sobretudo se elas ocorrem quando há jovens ramos e existe dessecação da camada superficial do solo.

Para evitar a mortalidade de plantas é, assim, necessário que seja disponibilizada água para manter a camada superficial do solo humedecida em períodos com valores médios de temperaturas máximas superiores a 30 °C, em que os registos diários podem tender para 40 °C. De acordo com as nossas observações, os períodos de rebentação dos ramos potenciais será um período crítico para as plantas e muito exigente para a gestão da água, de forma a manter durante o período de vida produtivo das plantas de stevia, que é de 6 a 7 anos, uma população de plantas com capacidade para garantir a produção potencial.

Na Figura 5.7 constata-se ainda que os valores médios de temperaturas máximas aproximados a 20 °C facilitam a sobrevivência das plantas e a manutenção da população ótima.

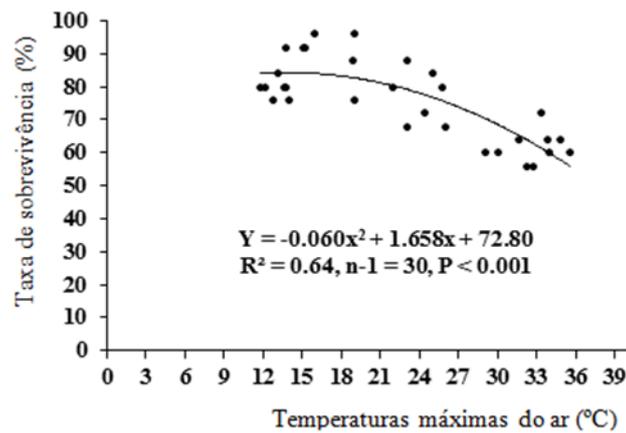


Figura 5.7 - Relação entre a média das temperaturas máximas do ar (°C) e a taxa de sobrevivência de plantas de stevia.

Na análise das Figuras 5.8 e 5.9, verifica-se que os valores de radiação solar superiores a 200 W h⁻¹ favorecem o número de ramos e o crescimento das plantas, quantificado pela sua altura. Assim no intervalo de 200 a 350 W h⁻¹ de radiação solar, melhor desenvolvimento apresentará a planta e, conseqüentemente, maior será o seu número de ramos e a sua altura.

Jarma *et al.* (2006) referem no seu estudo que a radiação fotossintética ativa absorvida por uma planta irá determinar a quantidade e a qualidade de matéria seca total, influenciando por sua vez o crescimento e produtividade. Também Midmore & Rank (2002) já haviam referido que o acréscimo da unidade de potência por unidade de tempo aumenta o crescimento vegetativo, aumentando por sua vez os níveis de esteviosídeo.

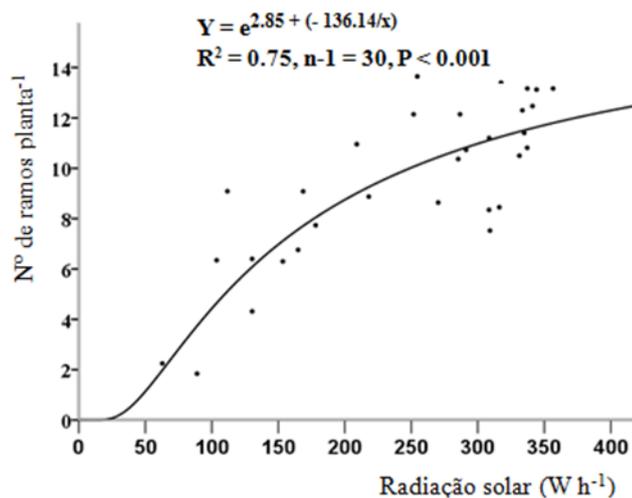


Figura 5.8 - Relação entre a média da radiação solar ($W h^{-1}$) e o número médio de ramos potenciais por planta de stevia com sucesso vegetativo.

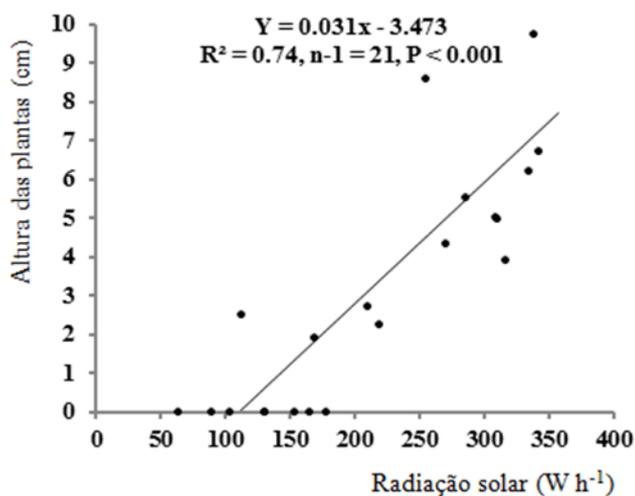


Figura 5.9 - Relação entre a média da radiação solar ($W h^{-1}$) e a média das alturas de plantas de stevia com sucesso vegetativo (valores registados até ao dia 28 de Junho de 2013).

5.2.2. Rendimento produtivo

Analisando a Figura 5.10, observam-se diferenças no peso das folhas e dos ramos obtido em quatro plantas. O método de propagação utilizado foi a propagação por sementes (propagação sexuada) e como Landázuri & Tigrero (2009) descreveram, neste

caso existe heterogeneidade das populações resultantes, devido à polinização cruzada. A partir da Figura 5.10 pode ainda verificar-se que, das 4 plantas analisadas, o maior peso de folhas secas é atingido na planta designada como 2. Sendo o peso das folhas determinante no conteúdo de glicosídeos, sobretudo de esteviosídeo, a planta 2 apresenta um potencial superior para produzir glicosídeos.

De acordo com a produção determinada nas quatro plantas, obtiveram-se valores médios de 46,2 g para o peso seco das folhas e de 40,2 g para o peso seco dos ramos, sendo a produção de matéria seca por planta igual a 86,4 g. Para um valor médio de peso seco de folhas de 46,2 g e considerando uma população de 60606 plantas por hectare para o espaçamento utilizado no ensaio de 0,5 m na linha e 0,33 m na entrelinha, pode estimar-se uma produção total de folhas secas de 2,8 ton ha⁻¹. Este valor representa, um bom rendimento, relativamente aos valores obtidos em diversas regiões, para o segundo corte efetuado nas plantas.

Segundo um estudo realizado no México por Cedano *et al.* (2012), utilizando o método de propagação assexuada, foi atingida uma produção total de folhas secas de 2,757 ton ha⁻¹, com um valor médio de peso seco de folhas por planta de cerca de 48 g.

Ainda num outro estudo realizado em San Piero a Grado, em Itália, num período de 1992 a 1999, avaliou-se a produção média de folhas secas por planta em dois genótipos, observando-se nos primeiros dois anos uma produção de cerca de 60 a 80 g de folhas secas por planta. Entre o terceiro e sexto ano registou-se um aumento significativo desses valores atingindo um máximo de 146 g de folhas secas por planta, devido aos cortes efetuados nas plantas que deram origem a novos ramos e consequentemente a novas folhas. Contudo, o estudo concluiu que a partir do sétimo ano existia um decréscimo da produção de folhas secas por planta, o que significa que esta produção só foi economicamente viável durante os primeiros seis anos (Andolfi *et al.*, 2006).

Assim, pode dizer-se que o rendimento total de folhas secas por planta pode variar durante o seu ciclo de vida, obtendo-se produções diferentes ao longo dos anos. Segundo Varbanov *et al.* (2008), as variações de rendimento devem-se a alguns fatores, tais como, a duração do ciclo vegetativo, tempo de plantação e colheita, densidade de plantação e local de plantação. As práticas culturais também são essenciais, sendo realizadas em função das condições de clima e de solo. Por exemplo, a falta de água pode provocar stress hídrico nas plantas, assim como incentivar o aparecimento de doenças foliares que, conseqüentemente reduzem a produção total de folhas (Midmore & Rank, 2002).

Por último, a stevia é uma espécie heterozigótica, que ainda necessita de ser trabalhada ao nível do melhoramento e conjuntamente com o que já foi referido, pode justificar, as diferenças de rendimento em folhas secas (Midmore & Rank, 2002).

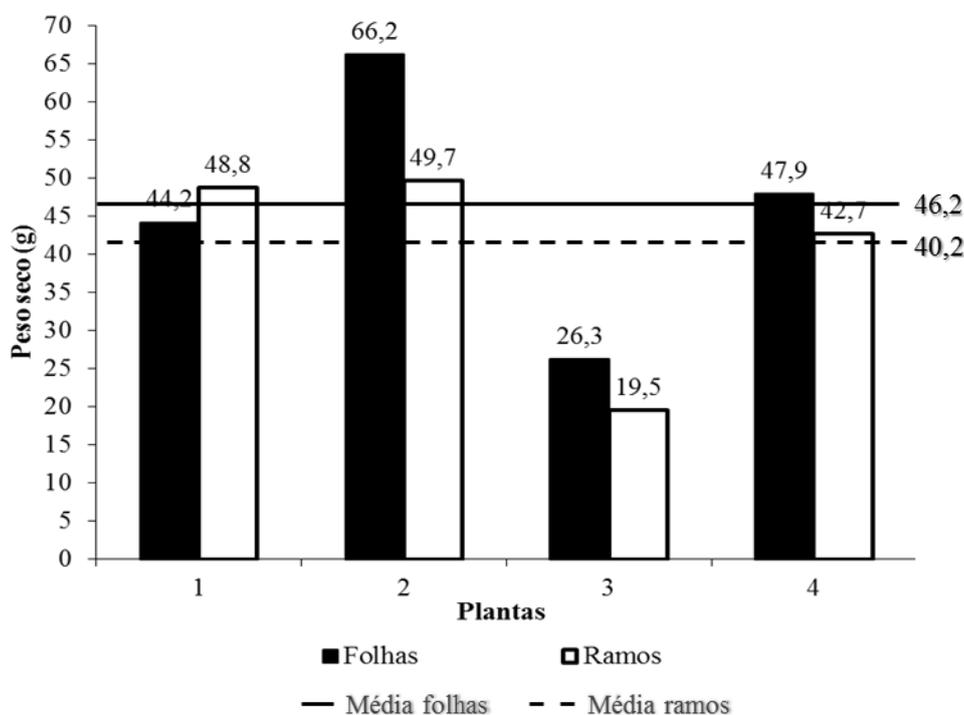


Figura 5.10 - Produção de folhas e ramos verificada em quatro plantas de stevia colhidas no fim de Agosto no horto da Herdade Experimental da Mitra (valores médios de folhas e ramos por planta).

5.3. Gestão das plantas ao nível do corte

Ao longo do ensaio foram registados dados sobre altura, número de ramos primários e número de ramos secundários das plantas colocadas em ambiente controlado (estufa). Para análise consideraram-se os valores registados na 8^a leitura a 2 de Abril, início da Primavera, onde surgiram os primeiros ramos secundários e na 21^a, última leitura antes do corte, realizada a 12 de Julho.

Para a 8^a leitura existem diferenças significativas, para um nível de significância de 5%, entre o número médio de ramos totais verificados nos diferentes tratamentos (Anexo III). A partir da comparação múltipla das médias, utilizando o teste de Duncan, verifica-se que há um maior número médio de ramos totais na altura de corte de 10 cm e diferente significativamente do número médio dos outros tratamentos (Figura 5.11 a)).

Por outro lado, na 21^a leitura (Figura 5.11 b)) verifica-se que não há diferenças significativas entre o número médio de ramos totais nos 3 níveis de corte (1, 5 e 10 cm) (p-value (0,07), Anexo IV).

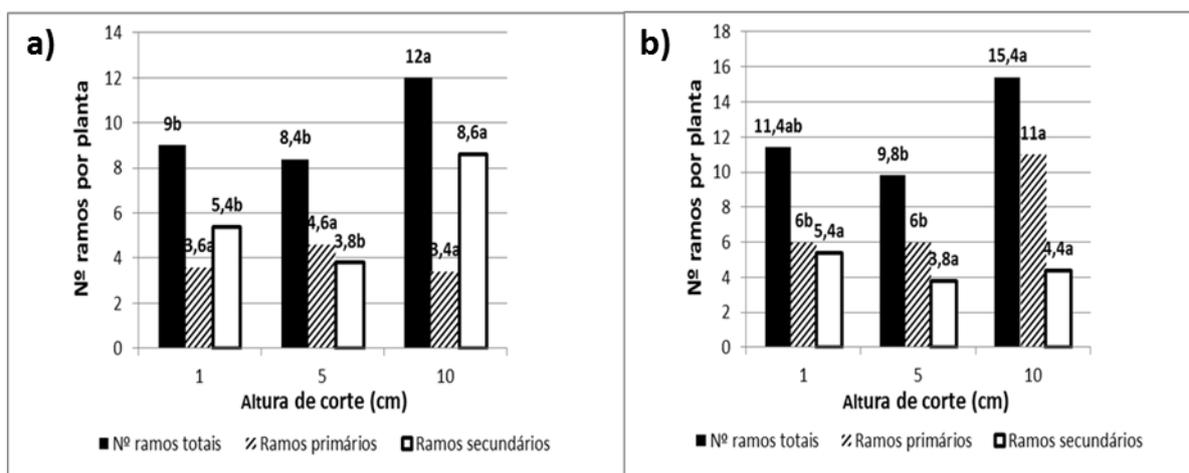


Figura 5.11 - Valores médios de ramos primários, secundários e totais das plantas de stevia verificados nos diferentes níveis de corte das plantas (1, 5 e 10 cm) na 8^a (a) e na 21^a (b) leituras.

Comparando a 8ª com a 21ª leitura, há um acréscimo no número de ramos totais. Isto deve-se ao facto do número de ramos primários ter aumentado, dado que o número de ramos secundários não sofreu grandes alterações, com exceção do terceiro nível de corte (10cm de altura). Finalmente pode afirmar-se que o corte das plantas efetuado a 10cm permitiu um maior número de ramos primários e de ramos totais.

Assim, como Vélez & Zapata (2006) descreveram, o corte das plantas promove o aparecimento de novos rebentos vegetativos, permitindo obter maior rendimento produtivo das plantas de stevia.

Observando a Figura 5.12 a) e o Anexo III verifica-se que existem diferenças significativas, para um nível de significância de 5 %, entre a altura média das plantas atingida nos diferentes níveis de corte das plantas (teste F (5,788), p-value de 0,017). A comparação múltipla das médias, utilizando o teste de Duncan, permite constatar que no primeiro nível de corte, que corresponde a uma altura de corte de 1 cm, a altura média das plantas foi menor e significativamente diferente da altura média das plantas atingida nos níveis de corte de 5 e 10 cm.

Por outro lado, na 21ª leitura (Figura 5.12 b)) não houve diferenças significativas entre a altura média das plantas nos diferentes níveis de corte, dado que para um nível de significância de 5 % obteve-se um p-value de 0,321 (Anexo IV).

De acordo com os valores obtidos para a altura das plantas atingida nos três níveis de corte (1, 5 e 10 cm) e nas duas datas de leitura pode afirmar-se que o tratamento com um nível de corte de 5 cm, apresenta melhores resultados em relação aos restantes, embora não diferentes significativamente do nível de corte de 10 cm na 8ª leitura e dos outros dois níveis de corte (1 e 10 cm) na 21ª leitura (Figura 5.12).

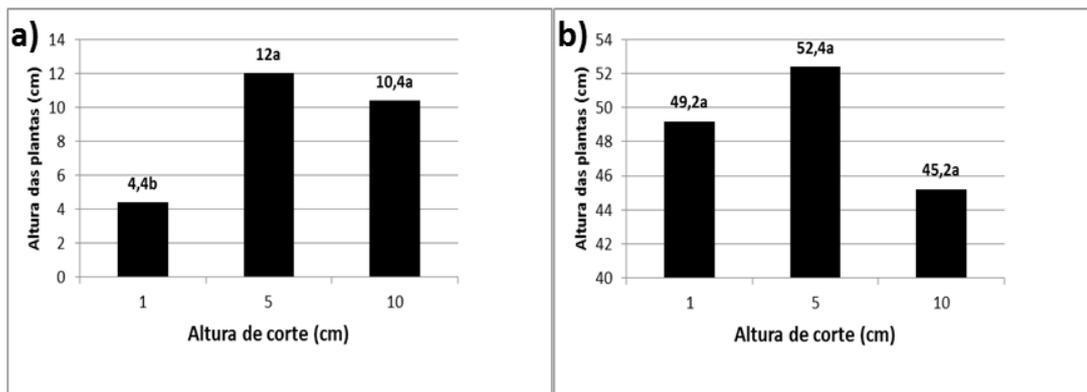


Figura 5.12 - Altura média das plantas de stevia verificada nos diferentes níveis de corte das plantas (1, 5 e 10 cm) na 8^a (a)) e na 21^a (b)) leituras.

A mesma conclusão pode retirar-se da Figura 5.13, onde foram ajustados modelos não lineares entre o número de dias após submeter as plantas às diferentes alturas de corte e os valores verificados da altura das plantas. O melhor ajustamento é o correspondente ao nível de corte de 5 cm obtendo um R^2 de 0,96, o que significa que 96% da variabilidade ocorrida na altura das plantas (cm) é explicada pelo número de dias após o corte das mesmas em ambiente controlado. Porém, como já se tinha concluído (Figura 5.12), ao fim de sete meses (210 dias) as plantas tendem para uma altura entre os 45 e os 50 cm em qualquer um dos níveis de corte.

Em síntese, o nível de corte pode condicionar a altura das plantas de stevia durante o crescimento inicial. Com o avanço do desenvolvimento, as plantas submetidas a diferentes níveis de corte, colocadas nas mesmas condições ambientais, tendem a ficar com alturas que não são diferentes significativamente (Figura 5.13).

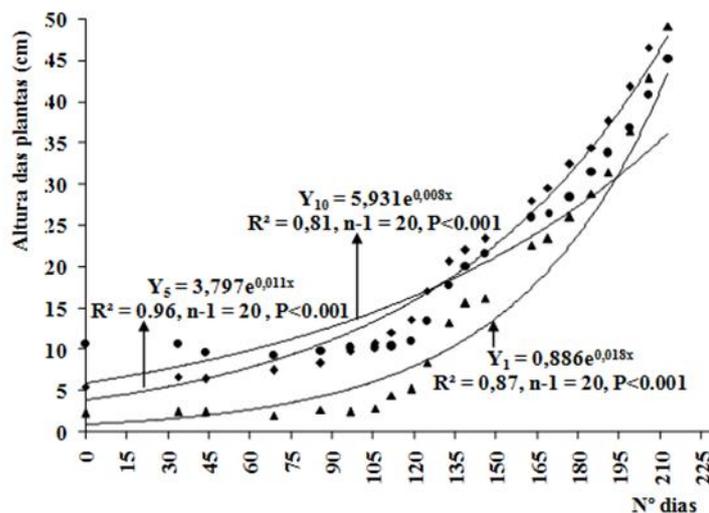


Figura 5.13_ Relação entre o número de dias após o corte das plantas (1, 5 e 10 cm) e a média das alturas das plantas de stevia em ambiente controlado (estufa).

Nas plantas testadas com diferentes níveis de corte determinou-se a produtividade do peso seco de ramos, folhas e total da matéria seca.

A partir da Figura 5.14 a) e b) pode observar-se que tanto no peso médio seco das folhas como no peso médio seco dos ramos o terceiro tratamento (corte a 10 cm) é ligeiramente superior aos restantes, demonstrando ser o melhor. No entanto, após a realização da análise de variância (ANOVA), conclui-se que a diferença não é significativa (p-value (0,097) para o peso médio das folhas e (0,092) para o peso médio dos ramos) (Anexo V e VI). A produção de folhas que permitem obter os glicosídeos, confirma a análise efetuada para a altura das plantas. Conclui-se assim, que o nível de corte das plantas de stevia não influencia significativamente o crescimento final das plantas de stevia e a respetiva produção de folhas.

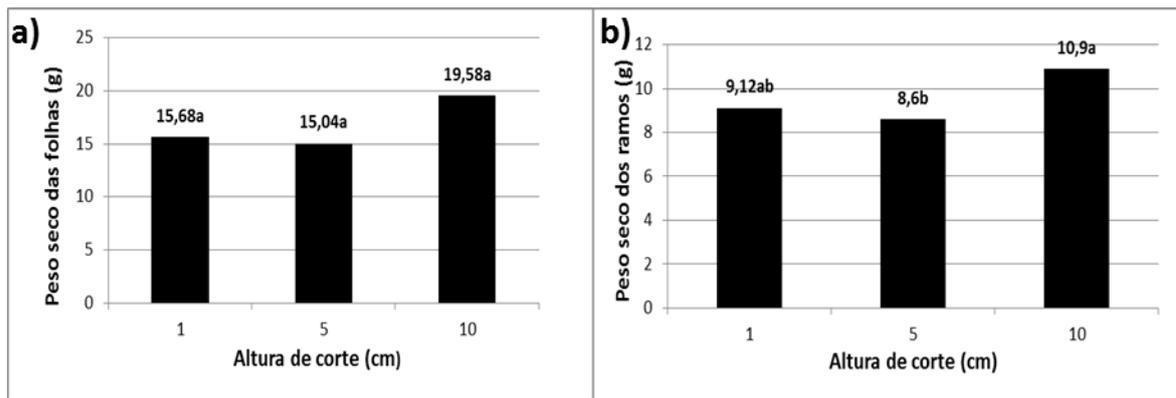


Figura 5.14 - a) Produção média de folhas, **b)** Produção média de ramos nos diferentes níveis de corte das plantas.

6. CONCLUSÕES

A *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni apresenta um potencial relevante, uma vez que o principal glicosídeo extraído das suas folhas, o esteviosídeo, possui inúmeros benefícios para a saúde com as suas propriedades medicinais, tais como não ser calórico e não alterar os níveis de açúcar no sangue, sendo utilizado para prevenir o aparecimento da doença da diabetes e é permitida a sua utilização pelos consumidores que já apresentam a doença.

Devido ao aumento da sua procura, o Comité Permanente da Cadeia Alimentar e da Saúde Animal da União Europeia autorizou os glicosídeos de steviol no mercado Europeu, a partir do parecer da Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar (EFSA) que os considerou seguros para consumo pela população em geral.

Foi com o objetivo de avaliar a capacidade de adaptação da stevia às condições de solo e clima mediterrânicas, que se desenvolveu este estudo. De acordo com os resultados, indicam-se a seguir algumas conclusões do estudo realizado neste trabalho.

No teste de germinação de sementes de stevia em ambiente controlado (germinador de sementes), o tratamento com temperatura de 25 °C foi o que permitiu atingir um valor mais elevado de germinação. Além disso, verificou-se que a luz não influenciou significativamente a taxa de germinação das sementes de stevia.

Quanto ao desenvolvimento e crescimento das plantas de stevia em condições mediterrânicas, verificou-se que as plantas permaneceram sem atividade vegetativa quando as temperaturas médias do ar foram inferiores a 8 °C. Nas condições mediterrânicas, o período que corresponde a temperaturas médias do ar inferiores a 8 °C caracteriza-se por temperaturas mínimas do ar inferiores a 4-5 °C e também se verificou que estes valores representam o limiar para ocorrer atividade vegetativa verificada pela rebentação das plantas, que permitiu o aparecimento de jovens ramos e, conseqüente, sobrevivência de plantas. A taxa de sobrevivência das plantas foi superior a 80%

quando as temperaturas mínimas do ar ultrapassaram os 4-5 °C. Daqui pode concluir-se que as plantas de stevia apresentam, em condições mediterrânicas, uma reduzida ou nula atividade vegetativa desde o fim do outono até ao início da primavera.

Por sua vez, as temperaturas máximas do ar devem estar acima dos 12 °C para ocorrer o aparecimento dos primórdios dos ramos potenciais, mas só a partir dos 15 °C se verifica um acréscimo acentuado do número de ramos e esta tendência mantém-se até aos 30 °C. As plantas de stevia toleram temperaturas máximas superiores a 40 °C, quando há humedecimento das camadas do solo onde se encontra o sistema radical. O humedecimento da camada superficial do solo é determinante no início do desenvolvimento e do recrescimento das plantas de stevia, incluindo o seu sistema radical, que também está a começar um novo ciclo de desenvolvimento. Em geral, quando a média das temperaturas máximas é superior a 30 °C deve efetuar-se uma gestão adequada ao nível do humedecimento da camada superficial do solo para evitar a mortalidade das plantas.

Com o acréscimo das temperaturas médias do ar na estação da primavera ocorre um aumento da radiação solar, que também se relaciona positivamente com o crescimento das plantas de stevia. Assim, quando os valores de radiação solar estão no intervalo de 200 a 350 W h⁻¹ há um maior número de ramos por planta e uma maior altura das plantas.

Quanto à produção de biomassa obtida das plantas de stevia, constatou-se que o valor médio do peso seco das folhas foi de 46,2 g por planta e dos ramos foi de 40,2 g. A partir destes valores e dos rendimentos obtidos em diversas regiões do mundo, conclui-se que a produtividade por planta é bastante satisfatória, aproximando-se dos valores mais altos referidos para algumas regiões.

A gestão efetuada ao nível da altura do corte das plantas de stevia, condiciona a altura das plantas durante o desenvolvimento inicial. Com o avanço do desenvolvimento

das plantas, as alturas tendem a ser similares e não há diferenças significativas nos valores médios e no número médio de ramos totais entre os três níveis de corte das plantas (1, 5 e 10 cm). Em consequência, apesar dos valores médios do peso seco das folhas e do peso seco dos ramos ser ligeiramente superior no nível de corte das plantas a 10 cm não se verificaram diferenças significativas entre os três níveis de corte.

A partir do estudo realizado poder-se-á concluir que a *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni é uma espécie que, em condições mediterrânicas, apresenta desde o fim do outono até ao início da primavera plantas com uma reduzida atividade vegetativa, que se pode designar de dormência, sendo o desenvolvimento e o crescimento estimulado pelas condições ambientais, sobretudo o aumento das temperaturas do ar e da radiação solar. Esta resposta das plantas parece indicar que a espécie tem capacidade para se adaptar às condições ambientais do sul de Portugal. No sul de Portugal, as regiões do litoral caracterizadas por menores amplitudes térmicas, com temperaturas mínimas mais altas e temperaturas máximas mais baixas, podem favorecer o desenvolvimento e crescimento das plantas da stevia, sendo, assim, uma espécie que parece apresentar potencial para ser uma nova cultura.

Para suportar o potencial da stevia, é necessário continuar o estudo ao nível da obtenção de plantas (por via vegetativa e/ou por semente) que sejam homogéneas e estáveis. Simultaneamente deve ser estudada a gestão de diversas práticas culturais, como controlo de infestantes, fertilização, rega, corte das plantas, secagem das folhas e respetiva transformação para obtenção do produto final (adoçantes).

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDULLATEEF, R. A. & OSMAN, M. (2011) - *Effects of Visible Light Wavelengths on Seed Germinability in Stevia Rebaudiana Bertoni*. International Journal of Biology. Volume 3. No. 4. p. 83-91.

ABDULLATEEF, R. A. & OSMAN, M. (2011) - *Influence of Genetic Variation on Morphological Diversity in Accessions of Stevia Rebaudiana Bertoni*. International Journal of Biology. Volume 3. No. 3. p. 66-72.

ABDULLATEEF, R. A. & OSMAN, M. (2012) - *Studies on Effects of Pruning on Vegetative Traits in Stevia*. International Journal of Biology. Volume 4. No. 1. p. 146-153.

ANBAZHAGAN, M.; KALPANA, M.; RAJENDRAN, R.; NATARAJAN & DHANAVEL, D. (2010) - *In vitro production of Stevia rebaudiana Bertoni*. J. Food Agric. Volume 22. No. 3. p. 216-222.

ANDOLFI, L.; MACCHIA, M. & CECCARINI, L. (2006) – *Agronomic-productive Characteristics of Two Genotype of Stevia Rebaudiana in Central Italy*. Ital. J. Agron. Volume 2. No. 2. p. 257-262.

ANDRADE, A. E. (2012) - *Análisis de la incidencia y relación de los factores ambientales en el desarrollo vegetativo de la Stevia rebaudiana B. en condiciones de invernadero en la Sabana de Bogotá*. Dissertação de Mestrado. Universidad de la Sabana. p. 24-50.

ARELLANO, K. P. B. (2010) - *Proyecto de factibilidad para la exportacion de hoja seca de stevia o te al mercado chino periodo 2010 – 219*. Dissertação de mestrado. Facultad de Ciencias Economicas y Negóciós. Escuela de Comercio Exterior e Integracion. 154 p.

ARORA, E.; KHAJURIA, V.; KUMAR, S.; GILLANI, Z.; SADIQ, S. & TANDON, V. (2010) - *Stevia: A Promising Herbal Sweeteners*. JK SCIENCE. Volume 12. No. 4. p. 212-213.

ASSOCIAÇÃO PORTUGUESA PARA A DEFESA DO CONSUMIDOR (2012). Novo adoçante Stevia: seguro, mas com moderação. In: <http://www.deco.proteste.pt/alimentacao/cafe-cha/testes-primeira-impressao/novo-adocante-stevia-seguro-mas-com-moderacao>

BERNARDI, P. L. (2012) - *Stevia rebaudiana o Kaá heé: una dulce alternativa*. Secretaria de Agricultura, Ganaderia y Pesca. Alimentos Argentinos. Volume 53. p. 56-58.

BONDAREV, N.; RESHETNYAK, O. & NOSOV, A. (2001) - *Peculiarities of diterpenoid steviol glycoside production in in vitro*. Plant Science. Volume 161. p. 155-163.

BRANDLE, J. E.; STARRATT, A. N. & GIJZEN, M. (1998) - *Stevia rebaudiana: Its agricultural, biological, and chemical properties*. Canadian Journal of Plant Science. p. 527-535.

BRONICK, C. J. & LAL, R. (2005) - *Soil structure and management: a review*. Geoderma. Volume 124. p. 3-22.

CARDOSO, J. C. (1965) - *Os solos de Portugal – Sua classificação, caracterização e génese – A Sul do Rio Tejo*. Secretaria de Estado da Agricultura. Direcção Geral dos Serviços Agrícolas. Lisboa. 169 p.

CARVALHO, M. J. R. (1988) – *A Estatística Aplicada à Experimentação Agrícola*. Ed. Afrontamento. 295 p.

CATE, A. (2013) - *Artificial versus natural sweeteners*. In: <http://www.ahm.com.au/11443/health/articles-library/sugar-vs-sweeteners>

CASSACIA, J. & ALVAREZ, E. (2006) – *Recomendaciones técnicas para una producción sustentable del ka'a he'e (stevia rebaudiana (bertoni) bertoni) en el Paraguay*. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Instituto Agronómico Nacional. Programa de investigación de Ka´á He´é, Manual técnico No. 8. Paraguay.

CEDANO, F. H.; JAIMES, R. G. & RIVAS, C. G. (2012) - *El cultivo de stevia (Stevia Rebaudiana) Bertoni (Rank, 2002) en condiciones agroambientales de Nayarit, México*. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Santiago Ixcuintla, Nayarit. 43 p.

CHATSUDTHIPONG, V. & MUANPRASAT, C. (2009) - *Stevioside and related compounds: Therapeutic benefits beyond sweetness*. Pharmacology & Therapeutics. Volume 121. p. 41-54.

CHATURVEDULA, V. S. & PRAKASH, I. (2011) - *Structures of the novel diterpene glycosides from Stevia rebaudiana*. Carbohydrate Research. Volume 346. p. 1057–1060.

CORTÉS, C. J. (2012) - *Análisis de crecimiento del cultivo de stevia (stevia rebaudiana) con proyección agroindustrial en el valle del cauca*. Universidad de san buenaventura cali. 84 p.

FILHO, O. F. & MALAVOLTA, E. (1996) - *Sintomas de desordens nutricionais em estévia Stevia rebaudiana (Bert.) Bertoni*. Scientia Agricola. In: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-90161997000100008&script=sci_arttext

FILHO, O. F.; VALOIS, A. C. & LUCAS, Z. M. (2004) - *Sistemas de Produção - Estévia*. ISSN, 1679-1320.

FRONZA, D. (2002) - *Consumo de água da cultura de Stevia rebaudiana (Bert.) Bertoni estimado por microlisímetro automático*. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo. 109 p.

FRONZA, D. & FOLEGATTI, M. V. (2003) - *Water consumption of the estevia (stevia rebaudiana (bert.) bertoni) crop estimated through microlysimeter*. Scientia agricola. Volume 60. No. 3 p. 595-599.

GOETTEMÖLLE, J. & CHING, A. (1999) - *Seed Germination in Stevia rebaudiana*. J. Janick. p. 510-511.

GOYAL, S. K. & SAMAHER. (2010) - *Stevia (Stevia rebaudiana) a bio-sweetener: a review*. International Journal of Food Sciences and Nutrition. Volume 61. No. 1. p. 1-10.

GRASSI, C.; GIUNTA, R.; MUGNAI, E. & PARDINI, A. (2009) - *Stevia rebaudiana : a potential new sugar crop*. ASAT - Associazione Scienze Agrarie Tropicali. Volume 1. 2 p.

INGLE, M. R. (2008) – *Effect of growth regulators and environments on rooting of stevia cuttings (Stevia rebaudiana Bertoni)*. Dissertação de Mestrado. University of Agricultural Sciences. 67 p.

INSTITUTO PORTUGUÊS DO MAR E DA ATMOSFERA (2013) – Ministério da Agricultura e do Mar. In: <http://www.ipma.pt/pt/educativa/tempo.clima/>

JARAMILLO, M. C, G. R. (2011) – *Programa Estratégico para el Desarrollo Rural Sustentable de la Región Sur - Sureste de México: Trópico Húmedo 2011*. Centro de Investigación Regional Sureste. Yucatán. 14 p.

JARMA, A. D.; COMBATT, E. M. & CLEVES, J. A. (2010) - *Aspectos nutricionales y metabolismo de Stevia rebaudiana (Bertoni). Una revisión*. Agronomía Colombiana. Volume 28. No. 2. p. 199-208.

JARMA, A.; RENGIFO, T. & ARAMÉNDIZ-TATIS, H. (2006) - *Fisiología de estevia (Stevia rebaudiana) en función de la radiación en el Caribe colombiano. II. Análisis de crecimiento*. Agronomía Colombiana. Volume 24. No. 1. p. 38-47.

LANDÁZURI, P. & TIGRERO, J. (2009) - *Stevia rebaudiana Bertonii, una planta medicinal*. Sangolquí, Ecuador. Escuela Politécnica del Ejército. 34 p.

MADAN, S.; AHMAD, S.; SINGH, G. N.; KOHLI, K.; KUMAR, Y.; SINGH, R. & GARG, M. (2010) - *Stevia rebaudiana (Bert.) Bertonii – A Review*. Indian Journal of Natural Products and Resources. Volume 1. No. 3. p. 267-286.

MARTÍNEZ, S. M. (2011) - *Manual de Cultivo : Estevia Rebaudiana*. Asociación sin ánimo de lucro “Dulce Revolución”. 62 p.

MIDMORE, D. J. & RANK, A. H. (2002) - *A new rural industry – Stevia – to replace imported chemical sweeteners*. Rural Industries Research and Development Corporation. 50 p.

MONDACA, R. L.; GÁLVEZ, A. V.; BRAVO, L. Z. & HEN, K. (2012) - *Stevia rebaudiana Bertonii, source of a high-potency natural sweetener: A comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects*. Food Chemistry. Volume 132. p. 1121–1132.

PANDE, S. S. & GUPTA, P. (2013) - *Plant tissue culture of Stevia rebaudiana (Bertonii): A review*. Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy. Volume 5. No. 1. p. 26-33.

PÉREZ, Y. (2011) - *Definición y Clasificación de Edulcorantes*. Universidad Rey Juan Carlos. In: <http://educacionquimica.wordpress.com/2011/06/13/la-quimica-de->

losalimentos-definicion-y-clasificacion-de-edulcorantes. Consultado a 19 de Agosto de 2013.

PETERSEN, R. G. (1977) – *Use and misuse of multiple comparison procedures*. Agronomy Journal. Volume 69. p. 205-208.

PLANAS, G. M & KUC, J. (1968) - *Contraceptive properties of Stevia rebaudiana*. In: <http://www.popline.org/node/479253>

PURI, M.; SHARMA, D.; BARROW, C. J. & TIWARY, A. (2012) - *Optimisation of novel method for the extraction of steviosides from Stevia*. Food Chemistry. Volume 132. p. 1113–1120.

RANDI, A. M. (1980) - *Germinação de Stevia rebaudiana Bert.*. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas. 88 p.

ROMERO, E. M.; DÍAZ, W. P. & ALEMÁN, J. M. (2012) - *Estudo económico para a produção e comercialização de folha de Stevia (Stevia rebaudiana bertonii) desidratada em Chinú Córdoba*. ORINOQUIA - Universidad de los Llanos – Villavicencio. Colombia. Volume 16, No 2. p. 24-31.

SEELEY, R. R. (1997). *Anatomia e Fisiologia*. Lisboa: Lusodidacta.

SHARMA, R.; YADAV, R. & MANIVANNAN, E. (2012) - *Study of effect of Stevia rebaudiana bertonii on oxidative stress in type-2 diabetic*. Biomedicine & Aging Pathology. Volume 2. p. 126-131.

- SHOCK, C. C. (1982) - *Experimental Cultivation of Rebaudi's Stevia in California*. University of California. No. 122. 9 p.
- TAIARIOL, D. & MOLINA, N. (2010) - *Producción de Stevia rebaudiana Bertoni (Ka'a He'ê) en Bella Vista (Corrientes)*. EEA INTA Bella Vista. Centro Regional Corrientes. No. 37. p. 1-15.
- TAKAHASHI, L.; MELGES, E. & CARNEIRO, W. J. (1996) – *Desempenho Germinativo de sementes de Stevia rebaudiana (Bert.) Bertoni Sob Diferentes Temperaturas*. Revista Brasileira de Sementes. Volume 18. No. 1. 5 p.
- TAKASAKI, M.; KONOSHIMA, T.; MURATA, Y.; SUGIURA, M.; NISHINO, H.; TOKUDA, H.; MATSUMOTO, K.; KASAI, R. & YAMASAKI, K. (2003) - *Anticarcinogenic activity of natural sweeteners, cucurbitane*. Cancer Letters. Volume 198. p. 37–42.
- TEIXEIRA, S.; GONÇALVES, J. & VIEIRA, E. (2011) - *Edulcorantes: uso e aplicação na alimentação, com especial incidência na dos diabéticos*. Revista SPCNA - Alimentação Humana. Volume 17. No. 1/2/3. p. 47-54.
- THIYAGARAJAN, M. & VENKATACHALAM, P. (2012) - *Large scale in vitro propagation of Stevia rebaudiana (bert) for commercial*. Industrial Crops and Products. Volume 37. p. 111-117.

TORRES, L. D. & GUEVARA, L. G. (2004) - *Plan estratégico para la creación de una empresa dedicada a la producción y comercialización de edulcorante a base de stevia*. Dissertação de Mestrado. Pontificia universidad Javeriana, Facultad de Ingeniería. 84 p.

VARBANOV, M.; SLAVOV, K.; UCHKUNOVA, K. & KIROLOV, K. (2008) - *Biological Characteristics and Productive Abilities of the Sweet Stevia (Stevia rebaudiana Bertoni)*. Konstantin Preslavski University of Shumen. Agricultural Institute. College of Dobrich, Bulgaria. p. 321-324.

VÉLEZ, A. T. & ZAPATA, M. H. (2006) - *Generalidades del cultivo*. Tecnología para el cultivo de la stevia. 104 p.

VILLA, M. P. & CHIFA, C. (2006) - *Contribución al comportamiento de la “Yerba dulce” Stevia rebaudiana (Bertoni) Bertoni (Asteraceae) en el Chaco argentino*. Universidad Nacional del Nordeste. 3p.

WEIHRAUCH, M. R. & DIEHL, V. (2004) - *Artificial sweeteners—do they bear a carcinogenic risk?*. Annals of Oncology. Volume 15. p. 1460–1465.

YADAV, A. K.; SINGH, S.; DHYANI, D. & AHUJA, P. S. (2011) - *A review on the improvement of stevia [Stevia rebaudiana (Bertoni)]*. Canadian Journal of Plant Science. Volume. 91. 27 p.

YANG, Q. (2010) - *Gain weight by “going diet?” Artificial sweeteners and the neurobiology of sugar cravings*. Journal of Biology and Medicine. Volume 83. p. 101-108.

XILI, L.; CHENGJIANY, B.; ERYI, X.; REIMING, S.; YUENGMING, W.;
HAODONG, S. & ZHIYIAN, H. (1992) - *Chronic oral toxicity and carcinogenicity
study of stevioside in rats*. Food and Chemical Toxicology. Volume 30. p. 957-965.

ZUBIATE, F. R. (2007) - Manual del Cultivo de La Stevia (Yerba Dulce). In:
[http://www.engormix.com/MA-agricultura/cultivos-tropicales/articulos/manual-cultivo-
Stevia-yerba-t1337/078-p0.htm](http://www.engormix.com/MA-agricultura/cultivos-tropicales/articulos/manual-cultivo-Stevia-yerba-t1337/078-p0.htm)

ANEXOS

Anexo I – Valores dos quadrados médios, probabilidades e erro da análise de variância relativa ao efeito dos níveis de temperatura na germinação de sementes de *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni.

	ORIGEM DA VARIAÇÃO	
	Níveis de temperatura	Erro
G.L.	2	9
Faculdade germinativa (p-value)	172,00 0,007 (**)	18,67

Anexo II – Valores dos quadrados médios, probabilidades e erro da análise de variância relativa ao efeito dos níveis de luz na germinação de sementes de *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni.

	ORIGEM DA VARIAÇÃO	
	Com e sem luz (temperatura de 25 °C)	Erro
G.L.	1	6
Faculdade germinativa (p-value)	2,00 0,791 (ns)	26,0

Anexo III – Valores dos quadrados médios, probabilidades e erro da análise de variância relativa ao efeito dos níveis de corte das plantas no número de ramos e na altura das plantas de *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni em ambiente controlado na 8ª leitura.

	ORIGEM DA VARIAÇÃO	
	Níveis de corte das plantas	Erro
G.L.	2	12
Nº ramos primários (p.value)	2,07 0,456 (ns)	2,47
Nº ramos secundários (p.value)	29,87 0,001 (***)	2,43
Nº ramos totais (p.value)	18,60 0,006 (**)	2,27
Altura das plantas (p.value)	80,27 0,017 (*)	13,87

Anexo IV – Valores dos quadrados médios, probabilidades e erro da análise de variância relativa ao efeito dos níveis de corte das plantas no número de ramos e na altura das plantas de *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni em ambiente controlado, na 21ª leitura.

	ORIGEM DA VARIAÇÃO	
	Níveis de corte das plantas	Erro
G.L.	2	12
Nº ramos primários (p.value)	41,67 0,050 (*)	11,0
Nº ramos secundários (p.value)	3,27 0,824 (ns)	16,60
Nº ramos totais (p.value)	41,60 0,070 (ns)	12,43
Altura das plantas (p.value)	65,07 0,321 (ns)	52,07

Anexo V – Valores dos quadrados médios, probabilidades e erro da análise de variância relativa ao efeito dos níveis de corte das plantas no peso seco das folhas das plantas de *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni em ambiente controlado.

	ORIGEM DA VARIAÇÃO	
	Níveis de corte das plantas	Erro
G.L.	2	12
Peso seco das folhas (p-value)	30,19 0,097 (ns)	10,62

Anexo VI – Valores dos quadrados médios, probabilidades e erro da análise de variância relativa ao efeito dos níveis de corte das plantas no peso seco dos ramos das plantas de *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni em ambiente controlado.

	ORIGEM DA VARIAÇÃO	
	Níveis de corte das plantas	Erro
G.L.	2	12
Peso seco dos ramos (p-value)	7,27 0,092 (ns)	2,48

