



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni NO CERRADO
COM BASE EM CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS E DE QUALIDADE
INDUSTRIAL**

FELLIPE CELESTINO DE CASTRO

TESE DE DOUTORADO EM AGRONOMIA

BRASÍLIA/DF

SETEMBRO/2024



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni NO CERRADO
COM BASE EM CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS E DE QUALIDADE
INDUSTRIAL**

FELLIPE CELESTINO DE CASTRO
Matrícula: 20/0050389

ORIENTADOR: FÁBIO GELAPE FALEIRO

COORIENTADOR: RENATO FERNANDO AMABILE

TESE DE DOUTORADO EM AGRONOMIA

BRASÍLIA/DF

SETEMBRO/2024

**BRASÍLIA/DF
SETEMBRO/2024**



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

**SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni NO CERRADO
COM BASE EM CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS E DE QUALIDADE
INDUSTRIAL**

FELLIPE CELESTINO DE CASTRO

**TESE DE DOUTORADO SUBMETIDA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM AGRONOMIA, COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS À
OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM AGRONOMIA.**

APROVADA POR:

**Fábio Gelape Faleiro, Dr. (Embrapa Cerrados)
(Orientador) e-mail: fabio.faleiro@embrapa.br**

**Nara Oliveira Silva Sousa, Dra. (Universidade de Brasília)
(Examinadora Interna) e-mail: narasouza@unb.br**

**Adriano Delly Veiga, Dr. (Embrapa Cerrados)
(Examinador Externo) e-mail: adriano.veiga@embrapa.br**

**Walter Quadros Ribeiro Júnior, Dr. (Embrapa Cerrados)
(Examinador Externo) e-mail: walter.quadros@embrapa.br**

BRASÍLIA/DF, 30 de SETEMBRO de 2024.

Castro, Fellipe Celestino

Título: Seleção de genótipos de *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni no Cerrado com base em características agronômicas e da qualidade industrial

TESE DE DOUTORADO (D) – UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA/FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA, 2023.

1. Estévia. 2. Caracterização. 3. Produção. 4. Caracteres Morfoagronômicos. 5. Melhoramento Genético. 6. Parâmetros Genéticos. 7. Cerrado. 8. Recursos genéticos.

I. Faleiro, F. G. II. Doutor.

FICHA CATALOGRÁFICA

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

CASTRO, F.C. Seleção de genótipos de *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni no Cerrado com base em características agronômicas e da qualidade industrial. Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2023. Tese de Doutorado.

CESSÃO DE DIREITOS

NOME DO AUTOR: FELLIPE CELESTINO DE CASTRO

TÍTULO DA TESE: **Seleção de genótipos de *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni no Cerrado com base em características agronômicas e da qualidade industrial**

GRAU: Doutor ANO: 2024

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta dissertação de mestrado para única e exclusivamente propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor. Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.

Nome: Fellipe Celestino de Castro

CPF: 031.397.981-21

Endereço: Campus Universitário Darcy Ribeiro - ICC Centro - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília, DF

Tel. (63) 98106-2998 Email: fellipecelestino.castro@gmail.com

Ao meu orientador Dr. Fábio Faleiro; coorientador Dr. Renato Amábile e equipe pela ajuda,
incentivo e confiança,

Dra. Jamile da Silva Oliveira pela ajuda de sempre e ensinamentos;

Aos meus pais,

À minha esposa e companheira de todas as horas,

Aos meus filhos Vicente Caponi Castro (*in memoriam*), Júlia e Mariana

Dedico e Agradeço.

AGRADECIMENTOS

À Universidade de Brasília pela oportunidade da realização do doutorado.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Cerrados, pela concessão de toda a infraestrutura para este projeto.

À Empresa Stevia Soul pelo apoio na realização de análises qualitativas.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

A todos o meu muito obrigado

Posso ter defeitos, viver ansioso
e ficar irritado algumas vezes mas
não esqueço de que minha vida é a
maior empresa do mundo, e posso
evitar que ela vá à falência.

Ser feliz é reconhecer que vale
a pena viver apesar de todos os
desafios, incompreensões e períodos
de crise.

Ser feliz é deixar de ser vítima dos
problemas e se tornar um autor
da própria história. É atravessar
desertos fora de si, mas ser capaz de
encontrar um oásis no recôndito da
sua alma.

É agradecer a Deus a cada manhã
pelo milagre da vida.

Ser feliz é não ter medo dos próprios
sentimentos.

É saber falar de si mesmo.
É ter coragem para ouvir um "não".
É ter segurança para receber uma
crítica, mesmo que injusta.
Pedras no caminho?
Guardo todas, um dia vou construir
um castelo...

Fernando Pessoa

SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni NO CERRADO COM BASE EM CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS E DE QUALIDADE INDUSTRIAL

RESUMO GERAL

A *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni é uma espécie arbustiva que vem se destacando em todo o cenário mundial, devido às suas características e às novas tendências de consumo. Nos últimos anos vem sendo crescente a utilização dessa planta na indústria de alimentos. Com essa ampliação do consumo se faz necessário o desenvolvimento de pesquisas que envolvam a caracterização e uso de germoplasma e melhoramento genético da estévia. Neste trabalho, objetivou-se selecionar genótipos superiores de *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni adaptados para o cultivo no Cerrado, com base em características agronômicas e de qualidade industrial, em porcentagem de composto rebaudiosídeo-A e Total Glicosídeos de Esteviol (TSG). Para atingir o objetivo geral, foram desenvolvidos quatro capítulos que objetivaram estimar os parâmetros genéticos e realizar a caracterização agronômica de genótipos superiores de estévia em condições de cultivo no Cerrado do Planalto Central; estimar parâmetros genéticos, caracterizar e selecionar genótipos superiores de estévia com base na produção de composto rebaudiosídeo-A, selecionar genótipos superiores de estévia para cultivo no Cerrado com base na combinação de características agronômicas e de qualidade industrial e selecionar genótipos superiores para formação de novas populações de melhoramento com base na distância genética. O estudo foi desenvolvido na Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, apresenta uma altitude de 1.007 m., segundo as coordenadas geográficas 15° 35' 30'' de latitude Sul e 47° 42'00'' de longitude a Oeste de Greenwich, com predominância de solos tipo Latossolo Vermelho Escuro. Foram avaliados 25 genótipos superiores de *S. rebaudiana* no delineamento experimental de blocos casualizados, com quatro repetições, sendo três plantas para compor uma parcela experimental. No primeiro capítulo, dos 14 genótipos superiores de *S. rebaudiana* avaliados no programa de melhoramento genético de estévia da Embrapa Cerrados, os genótipos com melhores desempenhos agronômicos nas avaliações realizadas foram o CPAC-03, CPAC-09 e CPAC-10. Da avaliação dos nove genótipos quanto à produção de composto rebaudiosídeo-A, o genótipo cinco (CPAC-10) é o mais promissor quanto à produção de composto rebaudiosídeo servindo para dar origem a novas populações para o programa de melhoramento genético da Embrapa Cerrados. Com base nas características

agronômicas avaliadas, utilizando o índice de Mulamba e Mock os genótipos elite selecionados foram o CPAC-03, CPAC-09, CPAC-10, CPAC14 e CPAC16. Existe uma diversidade genética significativa que possibilitou a formação de três grupos distintos entre os genótipos possibilitando o desenvolvimento de novas populações de polinização aberta tendo em vista o avanço do programa de melhoramento genético da estévia.

Palavras-chave: Estévia, caracterização agronômica, soma de ranks, melhoramento genético, Rebaudiosídeo.

**SELECTION OF GENOTYPES OF *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni IN THE
CERRADO BASED ON AGRONOMIC AND INDUSTRIAL QUALITY
CHARACTERISTICS**

ABSTRACT

Stevia rebaudiana (Bertoni) Bertoni is a shrubby species that has been gaining prominence worldwide due to its characteristics and new consumption trends. In recent years, the use of this plant in the food industry has been increasing. With this increase in consumption, it is necessary to develop research involving the characterization and use of germplasm and genetic improvement of stevia. This study aimed to select superior genotypes of *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni adapted for cultivation in the Cerrado, based on agronomic and industrial quality characteristics, in the percentage of rebaudioside-A compound and Total Steviol Glycosides (TSG). To achieve the general objective, four chapters were developed that aimed to estimate the genetic parameters and perform the agronomic characterization of superior genotypes of stevia under cultivation conditions in the Cerrado of the Central Plateau; to estimate genetic parameters, characterize and select superior stevia genotypes based on the production of rebaudioside-A compound, select superior stevia genotypes for cultivation in the Cerrado based on the combination of agronomic and industrial quality characteristics, and select superior genotypes for the formation of new breeding populations based on genetic distance. The study was developed at Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, at an altitude of 1,007 m, according to the geographic coordinates 15° 35' 30" South latitude and 47° 42'00" West longitude of Greenwich, with a predominance of Dark Red Latosol soils. Twenty-five superior genotypes of *S. rebaudiana* were evaluated in a randomized block experimental design with four replicates, with three plants to compose an experimental plot. In the first chapter, of the 14 superior genotypes of *S. rebaudiana* evaluated in the Embrapa Cerrados stevia breeding program, the genotypes with the best agronomic performances in the evaluations carried out were CPAC-03, CPAC-09, and CPAC-10. From the evaluation of the nine genotypes regarding the production of rebaudioside-A compound, genotype five (CPAC-10) is the most promising regarding the production of rebaudioside compound, giving rise to new populations for the Embrapa Cerrados breeding program. Based on the agronomic characteristics evaluated, using the Mulamba and Mock index, the elite genotypes selected were CPAC-03, CPAC-09, CPAC-10, CPAC14, and CPAC16. There is significant genetic diversity that

has enabled the formation of three distinct groups among the genotypes, enabling the development of new open-pollinated populations to advance the stevia genetic improvement program.

Key words: Stevia, agronomic characterization, sum of ranks, genetic improvement, Rebaudiosídeo

SUMÁRIO

RESUMO GERAL.....	viii
ABSTRACT.....	x
1. INTRODUÇÃO GERAL	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
2.1 Cerrado.....	16
2.2 <i>Stevia rebaudiana</i> (Bertoni) Bertoni.....	18
2.3 Importância e cultivo da estévia	20
2.4 Compostos da estévia.....	24
2.5 Recursos genéticos de <i>Stevia rebaudiana</i> (Bertoni)	27
2.6 Caracterização morfológica.....	28
2.7. Caracterização agronômica.....	29
2.8 Caracterização química	31
2.9. Descritores morfoagronômicos para caracterização da <i>Stevia spp.</i>	33
2.10. Melhoramento genético de estévia	35
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
CAPÍTULO 1. PARÂMETROS GENÉTICOS E CARACTERIZAÇÃO AGRONÔMICA DE GENÓTIPOS SUPERIORES DE ESTÉVIA EM CONDIÇÕES DE CULTIVO NO CERRADO DO PLANALTO CENTRAL	54
RESUMO.....	55
ABSTRACT.....	56
1.1 INTRODUÇÃO.....	57
1.2 MATERIAL E MÉTODOS	58
1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	60
1.4 CONCLUSÃO	79
1.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	80
CAPÍTULO 2. PARÂMETROS GENÉTICOS, CARACTERIZAÇÃO E SELEÇÃO DE GENÓTIPOS SUPERIORES DE ESTÉVIA COM BASE NA PRODUÇÃO DE COMPOSTO REBAUDIOSÍDEO-A	85
RESUMO	86
ABSTRACT	87
2.1 INTRODUÇÃO	88
2.2 MATERIAL E MÉTODOS	90
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	95
2.4 CONCLUSÃO	99
2.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	100

CAPÍTULO 3. SELEÇÃO DE GENÓTIPOS SUPERIORES DE ESTÉVIA PARA CULTIVO NO CERRADO COM BASE EM CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS	103
RESUMO	104
ABSTRACT	105
3.1 INTRODUÇÃO	106
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	108
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	110
3.4 CONCLUSÃO	117
3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	118
CAPÍTULO 4. SELEÇÃO DE GENÓTIPOS SUPERIORES DE ESTÉVIA PARA FORMAÇÃO DE NOVAS POPULAÇÕES DE MELHORAMENTO COM BASE NA DISTÂNCIA GENÉTICA.....	121
RESUMO.....	122
ABSTRACT.....	123
4.1 INTRODUÇÃO.....	124
4.2 MATERIAL E MÉTODOS	125
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	129
4.4 CONCLUSÃO	138
4.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	139
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	144

1. INTRODUÇÃO GERAL

A estévia (*Stevia rebaudiana* Bertoni.) é um arbusto perene pertencente à família Asteraceae (Compositae). Nativa da América do Sul, é cultivada em muitas regiões do mundo, incluindo Ásia, Europa e América do Norte (LEMUS-MONDACA et al., 2012). A estevia é caracterizada como sendo uma planta herbácea, semiperene, encontrada na forma silvestre na região de divisa entre Paraguai e Brasil (DE et al., 2013; KATAYAMA et al., 1976).

A estévia, de acordo com Lemus-Mondaca et al. (2012), também é conhecida como folha de mel, folha de doce ou folha doce, e seu sabor doce se deve à presença de glicosídeos de esteviol, possuindo 100 a 300 vezes a doçura da sacarose. Além dos glicosídeos doces, a estévia também é uma boa fonte de vitaminas, minerais, aminoácidos essenciais, ácidos graxos e outros compostos bioativos benéficos à saúde, incluindo diterpenos labdanos não glicosídicos, flavonoides, compostos fenólicos, fibras brutas, fitoesteróis, ácidos clorogênicos, triterpenos e hidrocarbonetos (WOLWER-RIECK, 2012).

Na última década, tem havido um interesse considerável em explorar os usos potenciais da estévia, e vários estudos de revisão relataram a composição bioquímica, propriedades nutricionais ou benefícios para a saúde (ROJAS et al., 2018; CARRERA-LANESTOSA et al., 2017; KOBUS-MORYSON et al., 2015; MARCINEK e KREJPCIO, 2015; RUIZ-RUIZ et al., 2015; GANTAIT et al., 2014).

A alta demanda de estévia pela indústria está em evidência. Isso ocorre devido às suas propriedades edulcorantes naturais como o esteviol e suas variações. Dessa forma, o esteviol constitui-se como alternativa para substituição da sacarose em todo o mundo. Esse crescimento industrial associa-se ao aumento mundial e constante das desordens metabólicas, como as prevalentes diabetes tipo II e obesidade (TAVARINI et al., 2018; WÖLWER-RIECK, 2018).

Essas substâncias possuem poder edulcorante e conservam baixo índice glicêmico, são estáveis ao calor e não sofrem fermentação, sendo atributos importantes para indústria alimentícia (SANTOS, 2015; LANDÁZURI e TIGRERO, 2009).

Alguns autores relatam que a caracterização de plantas é uma prática primordial em bancos ativos de germoplasma e também em programas de melhoramento genético, que integra informações de identificação, descrição e diferenciação de acessos e genótipos. As características morfológicas avaliadas de forma qualitativa e/ou quantitativa são muito úteis em estudos de variabilidade genética e também para a

realização de ensaios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade (DHE) tendo em vista a proteção de cultivares (BURLE e OLIVEIRA, 2010; FALEIRO et al., 2016).

A Embrapa Cerrados e parceiros estão realizando esforços há alguns anos buscando o desenvolvimento de cultivares de estévia adaptadas ao Cerrado. O desenvolvimento de cultivares adaptadas a um determinado local ou região envolve, dentre outras coisas, a seleção de genótipos com alta produção de fitomassa. No caso da estévia, busca-se identificar e selecionar plantas com período juvenil longo. Logo a avaliação de características agronômicas como: número de dias para o florescimento, produção de fitomassa, altura de planta e perfilhamento de genótipos de *Stevia rebaudiana* são características importantes, a fim de direcionar avanços de ciclos de seleção e recombinação.

O objetivo geral deste trabalho foi selecionar genótipos superiores de *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni, adaptados para o cultivo no Cerrado com base em características agronômicas e de qualidade industrial. Para atingir o objetivo geral, foram estabelecidos os seguintes objetivos específicos:

1. Estimar os parâmetros genéticos e realizar a caracterização agronômica de genótipos superiores de estévia em condições de cultivo no Cerrado do Planalto Central.
2. Estimar parâmetros genéticos, caracterizar e selecionar genótipos superiores de estévia com base na produção de composto rebaudiosídeo-A.
3. Selecionar genótipos superiores de estévia para cultivo no Cerrado com base na combinação de características agronômicas e de qualidade industrial.
4. Selecionar genótipos superiores de estévia para obter novas populações de melhoramento com base nas distâncias genéticas.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. O Cerrado

O segundo maior bioma do Brasil, o Cerrado, é superado apenas pela Amazônia. O Cerrado abrange os estados da Bahia, Ceará, Goiás, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Pará, Rondônia e Tocantins e o Distrito Federal. Também são encontradas áreas de Cerrado nos estados do Piauí, Roraima, Amapá e São Paulo. Em sua totalidade, é responsável por aproximadamente 204 milhões de hectares, cerca de 24% do território nacional. Atualmente restam 61,2% do território original do Cerrado, sua grande maioria na região Meio-Norte (EITEN, 1993; RIBEIRO e WALTER, 1998; SANO et al., 2010).

A expressiva dimensão do bioma explica as sensíveis variações no seu domínio com relação ao relevo, solo e atributos climáticos. Ele recebe também a influência de outros biomas, como o Amazônico, Semiárido, Mata Atlântica e Pantanal. As distintas condições ecológicas, associadas ao padrão espacial diferenciado de ocupação, infraestrutura e de investimentos de mercado instalado ainda nas décadas de 1960/70, determinaram um complexo mosaico de características econômicas, ambientais e sociais (MULLER, 2008).

O clima do bioma Cerrado é bastante distintivo, tendo dois períodos definidos: um chuvoso na primavera-verão, com precipitações médias entre 1200 a 1800 mm, e outro seco, no outono-inverno, com início em maio e término em setembro (ADÂMOLI et al., 1986). Na estação chuvosa podem ocorrer curtos períodos de estresse hídrico, (veranicos), responsáveis por prejuízos à agricultura (ASSAD, 1994). No bioma Cerrado as temperaturas médias do ar podem variar entre 22 °C a 27 °C (ADÂMOLI et al., 1986).

De acordo com a classificação de Köpen, o clima predominante da região é do tipo Aw (tropical úmido de savana, com inverno seco e verão chuvoso), ocorrendo ainda os tipos Cwa (tropical de altitude, com semestre de inverno seco e verões quentes) e Cwb (tropical de altitude, com semestre de inverno seco e verões brandos) nas regiões de altitude mais elevadas (EITEN, 1993).

Quanto à classificação do tipo de solos do Cerrado, esses são predominantemente das classes latossolos-vermelhos e latossolos vermelho-amarelos, com cerca de 46% de toda a extensão do bioma (REATTO et al., 1998; CORREIA et al., 2004). Além destes, ainda podem ser encontrados neossolos quartzarênicos,

cambissolos, neossolos flúvicos e hidromórficos (RESENDE et al., 2007). Pelas condições climáticas poucos favoráveis, limitando seu desenvolvimento e exigindo adaptações, os solos do Cerrado já foram considerados impróprios para a atividade agrícola (KLINK e MACHADO, 2005). Contudo, o avanço tecnológico tornou do Cerrado a maior região produtora de grãos do país, sendo considerado como celeiro agrícola do Brasil, e reconhecidamente como uma das últimas fronteiras agrícolas, devido suas extensas áreas de Latossolos (BATLLE-BAYER et al., 2010; SANO et al., 2010).

O grande potencial agrícola do Cerrado já era discutido por volta dos anos 80, destacando-se a necessidade de direcionar investimentos para pesquisa, transferência de tecnologia e infraestrutura (GOEDERT, 1985) visando ao desenvolvimento da região, sendo traduzida em expansão da fronteira agrícola.

Esta expansão da fronteira agrícola foi alavancada com a construção da capital federal no centro do país (Brasília), o que trouxe tecnologias e investimentos em infraestrutura para a região. Além de um relevo relativamente plano, com declividade dominante menor que 3%, a ocorrência de solos com relevo suave-ondulado é bastante comum. Tal estabilidade dos agregados do solo, em geral profundos e bem drenados, favoreceu a uma mecanização da agricultura nesta região. O clima sazonal, com períodos seco e chuvoso a cada seis meses, é outro fator que contribuiu para a ocupação, definindo bem o calendário agrícola (FALEIRO e FARIAS NETO, 2008).

O Cerrado torna-se, assim, uma região ideal para a intensificação da tecnologia na agricultura ao longo dos anos, seja por meio da mecanização ou na utilização de novos cultivares mais adaptados e produtivos. Este processo acabou por favorecer a entrada e expansão de novos cultivos nas áreas do Cerrado como, por exemplo, a produção intensiva das *commodities* mais importantes para a balança comercial do Brasil e do mundo como a soja, o milho e o algodão. Essa dinâmica vem sendo estimulada pela grande demanda do mercado das indústrias, que impulsionaram o aumento do preço nos últimos anos, com expectativas de crescimento do setor agrícola. Essa expectativa de crescimento agrícola abre portas para a exploração e adaptação de novas culturas no Cerrado. Mas para isso, se faz necessários estudos na área de melhoramento genético visando ao desenvolvimento de genótipos adaptados as regiões de Cerrado e conseqüentemente mais produtivos, viabilizando, assim, o desenvolvimento da cadeia produtiva dessas novas culturas na região, como é o caso da *Stevia rebaudiana* Bertoni.

2.2. *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni

Stevia rebaudiana (Bertoni) Bertoni pertence à família Asteraceae (Compositae), que apenas considerando o Brasil soma, aproximadamente, 1900 espécies distribuídas nos 180 gêneros (ROQUE e BAUTISTA, 2008; BARROSO et al., 1991; NAKAJIMA e SEMIR, 2001). Já foram relatadas cerca de 200 espécies do gênero *Stevia* na América, as mesmas estão difundidas preferencialmente em regiões tropicais e subtropicais da Argentina até a Califórnia nos Estados Unidos da América (CABRERA, 1978; CAPONIO et al. (2016).

O gênero *Stevia* foi estudado quanto às propriedades organolépticas, e somente duas das 110 espécies analisadas possuem teores de princípios edulcorantes, sendo elas a *S. rebaudiana* (espécie mais conhecida) e a *S. phlebophylla* A. Gray (espécie mais rara, encontrada no México) (SOEJARTO et al., 1982). As quantidades significativas de glicosídeos de esteviol na espécie do México já foram questionadas (CAPONIO et al., 2016; CEUNEN et al., 2013; SOEJARTO et al., 1982).

De acordo com Yadav et al. (2011) a estévia apresenta a seguinte classificação taxonômica:

Classificação taxonômica da *Stevia rebaudiana*:

Reino Plantae – Plantas

Sub-reino Tracheobionta – Plantas vasculares

Superdivisão Spermatophyta – Plantas de semente

Divisão Magnoliophyta – Plantas com florescência

Classe Magnoliopsida – Dicotiledôneas

Subclasse Asteridae

Ordem Asterales

Família Asteraceae

Gênero *Stevia* Cav. – Erva doce

Espécie *Stevia rebaudiana* Bertoni – Erva doce

A primeira descrição botânica da espécie foi realizada pelo suíço Moisés Santiago Bertoni em 1887, que ressaltou a existência do sabor adocicado (SANTOS, 2015; BERTONI, 1905). De acordo com Lima Filho et al. (2004), a espécie foi descrita como sendo uma erva pequena, de 40 a 80 cm de altura, raízes pujantes, talos sublenhosos, pubescentes, com poucas ramificações, terminais coroados por panículas

constituídas de pequenos corimbos, com 2 a 6 flores pequenas com corola de lóbulos brancos, alongados e abertos.

A *S. rebaudiana* é nativa do Paraguai, sendo difundida no seu país de origem (DE et al., 2013; KATAYAMA et al., 1976). Segundo Madan et al. (2010), a estévia é original do Vale do Amambai, que se estende do nordeste do Paraguai ao sul do Brasil e sul da Argentina (MARTINS et al., 2017).

No Brasil, a primeira descrição da estévia foi em 1926 no Dicionário de Plantas Úteis do Brasil, do botânico Manuel P. Correa (LIMA FILHO et al., 2004). Von Schmeling (1967) e Kinghorn (2001) descreveram a ocorrência de *S. rebaudiana* no estado do Mato Grosso do Sul, mais especificamente na região de fronteira entre a cidade de Ponta Porã e a capital de Amambay, Pedro Juan Caballero, no Paraguai. De acordo com algumas pesquisas, a estévia cresce naturalmente no estado Mato Grosso do Sul, preferindo solos levemente ácidos, arenosos e úmidos (CABRERA et al., 1996; YADAV et al., 2011; CAPONIO et al., 2016).

Segundo Ramesh et al. (2006) os primeiros registros indicam que a estévia era conhecida pelos espanhóis durante o século 16, mas isso perdura na incerteza. As primeiras evidências científicas reportadas de estévia ocorreram particularmente, em ordem cronológica de 1887-1945, em registros do Jardim Botânico Real de Kew, na Inglaterra, onde claramente é citado o seu uso como planta medicinal e também como adoçante pelos povos indígenas Guarani do Paraguai, mestiços e outros (LEWIS, 1992).

As plantas de estévia, de modo geral, possuem folhas que variam de oblongas-lanceoladas a romboídeas, com todas as faces esparso-pilosas (LIMA FILHO et al., 2004). A estévia demonstra variações na sua fisiologia e morfologia, influenciadas pela interação genótipo e ambiente. As plantas provenientes de sementes apresentam a variabilidade genética que pode ser mais evidente a partir da observação dos tipos e tamanhos das folhas e também da concentração de glicosídeos totais presente na planta (LIMA FILHO et al., 2004).

A estévia, segundo Lima Filho et al. (2004), apresenta crescimento de planta que pode ser classificado como sendo do tipo determinado. Nesse tipo de crescimento se verifica, em média no primeiro ciclo, uma haste principal com 25 ramos secundários por planta. Contudo, o corte afeta na diminuição dos ramos secundários, resultando em um perfilho com uma só haste principal. As podas frequentes estimulam o perfilhamento da planta e o vigor do novo ciclo deriva da fertilidade do solo, das reservas das plantas e também da genética.

2.3. Importância e Cultivo de estévia

O cultivo da estévia vem ganhando expressiva popularidade em diversos países devido ao seu potencial de se tornar importante fonte de adoçante no mundo. Além de ser natural e zero calorias, é reconhecida como uma excelente substituta do açúcar e outros adoçantes (HOSSAIN et al., 2017; KHAN et al., 2012).

No Canadá, a cultura da estévia, segundo Brandle et al. (1998), é uma nova oportunidade para agricultores, dado o mercado existente e também para pesquisadores, pois existe uma grande demanda por informações quanto às suas práticas de produção, plantio, colheita, recomendação de fertilizantes e várias outras informações a fim de otimizar a produção.

Lima Filho et al. (2004) reportaram que no Brasil há uma tendência de consumo de adoçantes não calóricos, seguindo o caminho de países da América do Norte e Europa. O consumo de açúcar pelos brasileiros passou por uma diminuição importante, seguindo países das regiões supracitadas. No Brasil, o consumo de açúcar chegou a 62 kg per capita por ano em 1995, diminuindo para 53 kg em 2002. Segundo o mesmo estudo, o consumo de açúcar no Brasil deve se equilibrar em torno de 40 kg por habitante por ano favorecendo a demanda de adoçantes naturais não calóricos como a estévia, competindo com os adoçantes químicos como ciclamato, sacarina, aspartame, entre outros.

A estévia é segura para pessoas com diabetes pois não altera a quantidade de açúcar no sangue, podendo ser utilizada em alimentos, pastas dentais, medicamentos e outros; não tem efeitos renais e neurológicos, sendo o oposto de adoçantes artificiais; podendo efetivamente ser uma substituta do açúcar (GOYAL et al., 2010).

Segundo a Organização Pan Americana de Saúde (2015), em uma dieta saudável, a recomendação é de que o consumo diário de açúcar não ultrapasse 10% das calorias ingeridas, já a Organização Mundial da Saúde vai além, e alerta para os benefícios de uma ingestão abaixo de 5% (OMS, 2023). Esses números são referentes ao consumo total de açúcares, que é composto tanto pelo açúcar de mesa como pelo utilizado na preparação de refeições e os açúcares adicionados aos alimentos, refrigerantes e bebidas prontas para consumo, além do mel, xaropes e sucos de frutas com adição de açúcar (OMS, 2023).

A sacarose é o dissacarídeo presente na composição de todos os açúcares estudados pelo presente trabalho, consolidando um entendimento de que esse

dissacarídeo, quando ingerido de forma excessiva, pode estar associado a problemas de saúde, como diabetes tipo 2, obesidade e doenças cardiovasculares (TIAN et al., 2019).

Yadav et al. (2011) apontaram que produtos como o adoçante de estévia irão crescer devido ao interesse dos consumidores em produtos naturais, sendo suportados pelas variedades melhoradas com alta quantidade e qualidade de diterpênico e rebaudiosídeo A, que não têm o sabor amargo no final. Mengesha et al. (2014) afirmaram que até 2009, a estévia foi utilizada em mais de 6 mil produtos como refrigerantes, alimentos, medicamentos, entre outros, assim, direcionando-se para se tornar uma *commodity* como o açúcar.

O primeiro cultivo de estévia que se tem registro foi datado do ano de 1908. Foi um cultivo do tipo extensivo de estévia na região de Puerto Bertoni-Alto Paraná no Paraguai. Já em meados do ano de 1920, a estévia se tornou uma planta de grande interesse comercial e científico para fins de adoçante e sabor. Durante o vigésimo século, a doce erva foi matéria de mais de 1000 artigos científicos e patentes (KINGHORN, 2001).

A China possui a maior área comercial do mundo cultivada com estévia, representando 75% dos 32 mil hectares totais. Brasil, Paraguai, Tailândia, Índia, México, Canadá, Coreia do Sul e vários outros países também cultivam comercialmente a planta (HOSSAIN et al., 2017; SUMIDA, 1980; MEGEJI et al., 2005; MADAN et al., 2010).

A estévia pode ser propagada via estacas e via sementes. Entretanto, as taxas de germinação das sementes são baixas e o crescimento é lento (BRANDLE et al., 1998; SIVARAM e MUKUNDAN, 2003; FELIPPE et al., 1971; FELIPPE e LUCAS, 1971; MONTEIRO, 1980; TOFFLER e ORIO, 1981).

Material propagativo, como sementes e mudas, foi importado por diversos países como: Estados Unidos da América, Inglaterra, Polônia, antiga União Soviética, Japão, entre vários outros, pois, especialmente os ingleses, nos anos de 1940 do século XIX, buscavam um substituto para o açúcar de cana-de-açúcar ou beterraba, pois havia uma grande carência de adoçante durante a II Guerra Mundial. Foi reportado que o cultivo de *Stevia rebaudiana* no verão, em três cidades no sudoeste britânico, foi bem-sucedido, produzindo o equivalente a mais de cinco toneladas de açúcar por hectare (LEWIS, 1992; COUSINS, 1942; KINGHORN, 2001).

Lima Filho et al. (2004) indicaram, para produção de mudas, de 2 a 3 kg de sementes por hectare, considerando uma proporção de 10 a 15 gramas de sementes por

metro quadrado, deixando as sementes na superfície do solo, cobrindo somente com um “sombrite” de 50%. A utilização do sombrite é justificada para manter a umidade e para o vento não deslocar as sementes. A germinação ocorrerá de 5 a 10 dias após o plantio.

A estévia é uma planta que demanda muita água, segundo Fronza e Folegatti (2003), a evapotranspiração da cultura foi de $5,44 \text{ mm.dia}^{-1}$ na fase de maior desenvolvimento (51 aos 80 dias), possuindo alta sensibilidade à deficiência hídrica. Seu sistema radicular gira entre 15 a 25 cm de profundidade, de acordo com Lima Filho et al. (2004). A cultura é bem responsiva à irrigação, conferindo maiores rendimentos de massa seca, vigor e velocidade no rebrote após a colheita (LIMA FILHO et al., 2004).

Bilibio et al. (2010) descrevem a irrigação como sendo uma técnica disponível que tem o objetivo de fornecer água, principalmente na falta de chuva, permitindo o desenvolvimento das culturas, a qualidade do produto e a produtividade do cultivo. De modo geral, a irrigação traz evidentes vantagens para as culturas, favorecendo, ao máximo, a expressão dos seus potenciais produtivos (AZEVEDO e BEZERRA, 2008). Estes autores ainda afirmam que as chuvas raramente são suficientes para atender as necessidades hídricas das culturas durante o ano todo, sendo necessária uma complementação de água por meio da irrigação.

Sobre as perdas e manutenção de água no sistema agrícola, Montenegro et al. (2004) descrevem que a água que a planta necessita é contabilizada pela perda para a atmosfera por meio da evapotranspiração, e que o seu suprimento pode ser por meio de chuva ou irrigação, de forma que não comprometa o desenvolvimento e o rendimento das culturas.

Os valores médios de Kc encontrados por González (2000), para a cultura da estévia foram de 0,25; 0,56 e 0,82. A cultura apresentou rentabilidade de produção de massa seca de 2.000 kg.ha^{-1} , no experimento de González (2000) realizado no Paraguai.

Fronza (2002) em São Paulo, relatou Kc de 1,53; 1,14 e 1,16 para a cultura da estévia, valores bem superiores aos referidos por González (2000) no Paraguai. A diferença existente pode ser explicada pela maior rentabilidade da cultura, sendo de 4.369 kg.ha^{-1} . Isto porque a produção de maior área foliar por planta favorece a maior evapotranspiração da cultura, elevando o valor de Kc. Observou-se, também, que os valores de Kc são elevados quando comparados à maioria das culturas. Tal fato é compreensível, afinal, a cultura, em apenas 80 dias, produziu mais de 4.300 kg de massa seca foliar por hectare. Esta rentabilidade foi favorecida pelas condições climáticas da região, que favorecem valores elevados de fotossíntese líquida (FRONZA, 2002).

Lima Filho et al. (2004) e Caballero et al. (2013) verificaram em seu estudo executado no Paraguai, que a estévia utilizou em média 1,78, 2,10 e 6,30 milímetros por dia, respectivamente, do corte até 20 dias, de 21 a 46 dias e de 47 a 70 dias depois do corte. No período após 47 dias, a estévia mostrou máxima cobertura vegetal com a ocorrência de florescimento e maturação. Caballero et al. (2013) ainda reportaram os coeficientes de cultivo (K_c) de: 0,25, 0,56 e 0,82 para os períodos acima citados, na devida ordem.

De acordo com Brandle et al. (1998), a planta de estévia, de modo geral, não é muito exigente em fertilidade do solo, requerendo solo com uma fertilidade moderada para o cultivo anual. Porém, para os cultivos mais intensivos, recomenda-se sempre o monitoramento da fertilidade do solo por meio de análises periódicas. E a realização de uma correção e adubação que seja compatível com cada sistema produtivo.

Segundo Goyal et al. (2010), o pH do solo deve ser entre 6,5 e 7,5 e, solos salinos devem ser evitados. Os autores reportaram ainda o sucesso do cultivo em larga escala motivado pela alta demanda em vários estados da Índia.

Lima Filho et al. (2004) recomendaram a incorporação com anterioridade de 15 dias da implantação da cultura, 30 a 50 toneladas por hectare de esterco bovino curtido ou 10 a 15 toneladas por hectare de esterco de aviário. No plantio, os mesmos autores indicam 20 kg de N por hectare (ha) e 20 dias após, mais 40 kg de N por ha. A cada corte, utilizar 70 kg de N por ha para cada 1.000 kg de folhas secas colhidas, dividindo 30% após o corte, e 70%, 20 dias após a primeira aplicação. Para o fósforo, sugere-se, 40 kg de P_2O_5 por ha no plantio e a cada corte, fazer a adubação de manutenção. Assim, para cada 1.000 kg de folhas secas produzidas, aplicar 20 kg de P_2O_5 na linha em seguida ao corte. Quanto ao potássio, os mesmos autores propõem, no plantio, a quantidade de 30 kg/ha de K_2O e após cada corte, utilizar 70 kg de K_2O para cada 1000 kg de folhas secas colhidas, segmentado 30% após o corte e 70% aos 20 dias logo após a primeira aplicação.

Utumi et al. (1999), avaliando a deficiência de macronutrientes em estévia, concluíram que a deficiência de K, Ca e S diminuem a quantidade de esteviosídeo nas folhas, assim como Lima Filho et al. (1997), concluíram que a severa deficiência de Ca provoca redução no teor de esteviosídeo nas folhas.

A partir de 1971, o Japão introduziu o cultivo experimental da estévia advinda do Brasil (CRAMMER e IKAN, 1986; RAMESH et al., 2006; SUMIDA, 1973), e conduziu relevantes pesquisas para avaliar o potencial da planta. Segundo Katayama et

al. (1976), no Japão, a fitomassa seca total acumulada da *S. rebaudiana* foi de 1,4% de nitrogênio (N), 0,3% de fósforo (P) e 2,4% de potássio (K), sendo assim requeridos por essa fitomassa seca, 105 kg de N, 23 kg de P₂O₅ e 180 kg de K₂O por hectare.

Segundo Brandle et al. (1998), o cultivo anual ou semiperene através do transplantio, finda sendo melhor no Canadá. No mesmo país, o cultivo é exclusivamente anual e a produção é realizada a partir do transplante de baixo custo, oriundo de sementes. O seu ciclo inicia dentro de casas de vegetação aquecidas, onde as plantas ficam por 6 a 7 semanas após a sementeira. Depois, as mudas são transplantadas no campo no meio ou no fim de maio, com posterior adubação em cobertura e irrigação. A colheita da planta inteira acontece tardiamente em julho até final de setembro (BRANDLE et al., 1998).

Na Índia, a estévia pode ser transplantada de fevereiro a março. O florescimento transcorre entre o 54° ao 104° dia após o transplante e, no final do verão, a colheita de sementes se inicia (MADAN et al., 2010; METIVIER e VIANA 1979).

Lima Filho et al. (2004) indicam a colheita das folhas quando 5% dos botões florais ficarem abertos, devido à máxima presença de esteviosídeo nessa fase. Ademais, as flores são classificadas como impurezas para a indústria. A colheita manual é realizada com ferramentas de corte, em que se realiza a poda da planta inteira, dois centímetros acima do solo. A colheita mecanizada pode ser efetivada com segadeira específica, seguindo as mesmas recomendações da colheita manual. A produtividade média de cultivos bem conduzidos é de 4.000 kg por ha de folhas secas, sendo os demais cortes, realizados entre 70 e 90 dias, concluindo 4 cortes por ano. A renovação é indicada a cada 5 ou 6 anos do plantio (LIMA FILHO et al., 2004).

Mengesha et al. (2014) relataram que na Etiópia, na safra 2010/2011 e 2011/2012, a produção de folhas secas por planta foi de 7,26 a 9,04 gramas, conferindo 6.000 kg por hectare de folhas secas, com concentrações de esteviosídeo entre 9,07 e 10,35%.

A secagem das folhas e ramos ao sol por 6 horas deve ser sobre uma superfície de plástico ou de alvenaria, semelhante aos “terreiros de secar café”, sem sobreposição. O ponto ideal de umidade para o armazenamento das folhas é em torno de 10 a 12% de teor de água e/ou quando as folhas ficam quebradiças. Entretanto, antes do armazenamento, as folhas são separadas dos ramos com o uso de um “rastelo” próprio (LIMA FILHO et al., 2004).

2.4. Compostos da estévia

A estévia é colhida imediatamente antes do florescimento, quando o esteviol está em seu nível máximo de concentração nas folhas (BRANDLE et al. 1998; SUMIDA, 1980; XIANG, 1983).

Por volta do ano de 1910, alguns cientistas alemães, como Rasennack e Karl Dietrich, realizaram análises químicas, isolaram e cristalizaram duas substâncias doces da folha, que intitularam de Eupatrina e Rebaudiana (MARÍN, 2004). Porém, no ano de 1921, a substância cristalizada denominada de Eupatorino foi renomeada a Esteviosídeo pela União Internacional de Química, de acordo com o gênero da planta. Em seguida, a Rebaudiana passou a se chamar Rebaudiosídeo. Esses compostos são estáveis ao calor e não sofrem fermentação (SANTOS, 2015; LANDÁZURI e TIGRERO, 2009).

Cabe salientar que para um aditivo edulcorante seja utilizado em alimentos e bebidas, na indústria, existem características essencialmente importantes para quaisquer aplicações, além das específicas para cada finalidade. Dentre as essenciais, podemos destacar principalmente a necessidade de que a substância em questão seja suficientemente solúvel, de rápida e fácil dissolução e estável hidroliticamente. Além disso, é importante também que ela seja estável mediante exposição ao calor e à luz (MITCHELL, 2006).

Tanto o esteviosídeo quanto o rebaudiosídeo A são considerados estáveis (MITCHELL, 2006). Santos (2022) refere-se a um estudo detalhado conduzido com amostras purificadas destas substâncias em solução aquosa, em concentrações de 6,5 mg/mL (cerca de 10 vezes o maior limite máximo permitido pela ANVISA para alimentos), relatam perdas significativas quando submetidas a 100 °C por períodos variando entre 4 e 65 horas, em pH neutro e em soluções acidificadas com ácido fosfórico e ácido cítrico. A degradação de ambas as substâncias em meio ácido foi maior nessas condições. Entretanto, mesmo as amostras acidificadas, quando submetidas a aquecimento a 60 °C por até 137 h, não demonstraram sinais apreciáveis de degradação. Amostras de bebidas carbonatadas contendo ácido fosfórico e ácido cítrico, sem a presença de conservantes, adoçadas apenas com esteviosídeo e rebaudiosídeo A também foram analisadas. As amostras de bebidas carbonatadas acidificadas tanto com ácido cítrico quanto com ácido fosfórico não apresentaram alterações significativas a 4 °C ou a temperatura ambiente por 5 meses quando adoçadas com esteviosídeo na concentração de 0,1%. Foram observadas perdas de concentração significativas nestas soluções após 4 meses submetidas a 37 °C. As amostras adoçadas

com rebaudiosídeo A não demonstraram alterações significativas durante 4 meses a 4 °C, 3 meses a temperatura ambiente ou 1 mês a 37 °C. Quando submetidas a aquecimento a 60 °C, ambas as amostras de bebidas contendo esteviosídeo e rebaudiosídeo A apresentaram nenhuma ou pequena perda de concentração durante 137 h.

O composto esteviosídeo apresentou grande estabilidade frente à exposição à luz solar, não tendo sido observadas alterações significativas em quaisquer amostras analisadas por este estudo. Sob mesmas condições, entretanto, o rebaudiosídeo A sofreu até 22% de perda nas amostras de bebidas carbonatadas e acidificadas. Apesar disso, não foram detectados novos produtos de degradação e nem foi percebido *off-taste* (gosto ruim) em nenhum destes casos. Em relação às propriedades sensoriais, não foram percebidas alterações além da doçura dentre as amostras submetidas às condições estudadas. As perdas de dulçor nas amostras com degradação inferior a 10% dificilmente foram percebidas, tanto para o esteviosídeo quanto para o rebaudiosídeo A. Os produtos de degradação detectados demonstraram que, quando degradado, o esteviosídeo dá origem à glicose, esteviolbiosídeo e um subproduto não identificado por este estudo. Não foram identificados subprodutos de degradação do rebaudiosídeo A (CHANG e COOK, 1983).

Dez anos após a renomeação da substância, o interesse dos químicos de origem francesa Bridel e Lavielle, avançou ainda mais. Eles cristalizaram o esteviosídeo com 6% de aproveitamento e constataram que a capacidade de adoçar era cerca de 300 vezes maior que o açúcar advindo da cana-de-açúcar. Retificaram a fórmula da estrutura química molecular (passando a $C_{38}H_{60}O_{18}$), e enfim, apresentaram a hipótese de que o esteviosídeo seria eliminado na forma natural pelo organismo, não sendo assimilado pelo corpo (MARÍN, 2004).

Por volta do ano de 1970, os japoneses iniciaram o primeiro uso comercial do esteviosídeo, marcando a história da estévia, que foi utilizada para adoçar e aromatizar alimentos e bebidas, em substituição a vários adoçantes sintéticos que foram excluídos do mercado (KINGHORN, 2001).

Posteriormente, a começar de 1982, a China iniciou o cultivo em larga escala de *S. rebaudiana*. Nos Estados Unidos da América, as folhas da estévia se tornaram um chá popular. Em 1991, houve a proibição da importação das folhas da estévia, imposta pela Administração Federal de Drogas dos EUA (DE et al., 2013; BLUMENTHAL, 1995). Em 1999, a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura -

FAO, juntamente com a Organização Mundial da Saúde – OMS, através do seu Comitê Internacional de Especialistas Científicos - JECFA, mais o EU Comitê Científico para Alimentação Humana, concluíram que era incabível o uso do esteviosídeo como adoçante, com base nos dados disponíveis à época (DE et al., 2013).

Mais tarde, em 2004, o JECFA reexaminou o esteviosídeo e conferiu temporariamente, para os glicosídeos de esteviol, um nível de uso de 2 mg/kg de peso corporal. No entanto, no ano de 2008, o próprio comitê concluiu que os mesmos eram seguros para uso em comidas e bebidas, precisando uma dose diária aceitável de 4 mg/kg e estabelecendo especificações de pureza e teor mínimo de 95% da soma dos sete glicosídeos de esteviol que são: stevioside, rebaudioside A, rebaudioside C, dulcoside A, rubusoside, steviolbioside e rebaudioside B (DE et al., 2013; FAO, 2008; FAO/WHO, 2009).

A estévia possui, em suas folhas, glicosídeos diterpênicos que são substâncias edulcorantes, com alto poder de adoçante. Esses glicosídeos, individualmente, têm um poder superior de adoçar em relação à sacarose, da forma que segue: esteviosídeo (250-300 vezes), esteviolbiosídeo (100-125 vezes), composto rebaudiosídeo-A (350-450 vezes), rebaudiosídeo-B (300-350 vezes), rebaudiosídeo-C (dulcosídeo B) (50- 120 vezes), rebaudiosídeo-D (200-300 vezes), rebaudiosídeo-E (250-300 vezes), dulcosídeo-A (50-120) (LIMA FILHO et al., 2004).

De acordo com Goyal et al. (2010), as folhas da estévia selvagem contém 0,3% de dulcosídeo; 0,6% de rebaudiosídeo C; 3,8% de rebaudiosídeo A; e 9,1% de esteviosídeo. No entanto, Lima Filho et al. (2004) afirmam que o esteviosídeo possui de 5 a 15% da matéria seca foliar, o rebaudiosídeo tem 3 a 6% e o esteviosídeo é aplicado como edulcorante em diversos alimentos, que apresenta todo o processo da cadeia agroindustrial da estévia e os diversos usos nos alimentos.

A exploração comercial da estévia segundo Yadav et al. (2011) cresceu devido ao avanço dos estudos japoneses na extração e refinamento do adoçante advindo das folhas da espécie. Progressos na metodologia de obtenção dos edulcorantes, tornaram possível a extração mais simples somente com água, similar à do açúcar.

2.5. Recursos genéticos de *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni

O termo recursos genéticos quando usado, envolve a variabilidade de espécies de plantas, animais e microrganismos integrantes da biodiversidade, de interesse socioeconômico atual ou potencial para uso em programas de melhoramento genético,

biotecnologia e áreas afins. Quando se utiliza o termo recursos genéticos vegetais, o universo da biodiversidade fica reduzido àqueles relativos a flora (NASS, 2011).

De acordo com Faleiro et al. (2011), os recursos genéticos vegetais, constituem-se reservatório natural de genes com potencial de uso para a produção de gêneros essenciais à humanidade, tais como alimentos, fibras e medicamentos. Esses recursos apresentam grande importância, pois estão relacionados com necessidades básicas do ser humano. Plantas cultivadas, espécies silvestres relacionadas às comerciais, variedades antigas e variedades melhoradas representam recursos genéticos que devem ser conservados e caracterizados, pois poderão ser utilizados em programas de melhoramento.

Quantificar a variabilidade genética é fundamental para avaliar o desempenho de espécies e assim identificar recursos genéticos de grande valor, tanto aqueles passíveis de serem introduzidos de forma direta em sistemas de produção, como aqueles com potencial para serem usados em programas de melhoramento genético (FALEIRO et al., 2011).

A conservação de acessos em bancos ativos de germoplasma (BAGs) para futuros programas de melhoramento genético visando o melhor aproveitamento agrônomico é importante, já que é uma espécie que apresenta diversidade de suas características morfológicas e agrônomicas. Segundo Pádua et al. (2020) os recursos genéticos fornecem a variabilidade genética necessária para o desenvolvimento de novas cultivares, raças e estirpes com características de interesse, como por exemplo, alta produtividade, maior qualidade nutricional, maior resistência a estresses abióticos, como a seca e a estresses bióticos, como ataque de pragas e doenças. De acordo com Alves et al. (2010), a variabilidade genética existente em nível populacional das espécies vegetais é um dos fatores mais importantes no que se refere à conservação e aproveitamento de recursos genéticos em programas de melhoramento.

Segundo Valois (2019) o germoplasma de *Stevia* spp. necessita de um consistente programa de introdução, coleta, conservação, avaliação, documentação e informatização, e utilização de recursos genéticos em projetos de melhoramento genético, além de outras ciências afins. Para tanto, torna-se premente a implementação de bancos ativos de germoplasma.

A criação de um BAG específico se justifica plenamente pela sua enorme relevância do ponto de vista social, econômico, ambiental e político, principalmente

pela produção dos dois edulcorantes, o esteviosídeo e o rebaudiosídeo, com maior concentração nas folhas (VALOIS, 2019).

2.6. Caracterização morfológica

Para conhecimento e utilização dos materiais conservados é imprescindível que esses estejam caracterizados e avaliados. A primeira etapa do processo de caracterização e avaliação, a elaboração dos descritores que deverá levar em consideração características morfológicas, agronômicas e moleculares entre outras (FALEIRO et al., 2006).

Conhecer a diversidade do germoplasma da espécie é vital para o sucesso de um programa de melhoramento genético. Populações com variabilidade genética limitada representam uma ameaça à evolução de uma espécie devido à sua vulnerabilidade a fatores bióticos e abióticos. Da mesma forma, alcançar avanços importantes no melhoramento genético em populações com caracteres de interesse, uma vez que o efeito fundador é uma limitação no progresso genético, em características como rendimento de biomassa, arquitetura vegetal, teor de esteviosídeos, entre outros. Portanto, a caracterização de recursos genéticos vegetais permite discriminar acessos e a disponibilidade de características úteis em bancos de genes (TANG et al., 2012; EGBADZORET al., 2014; CORREA et al., 2019); o que constitui um passo importante para a identificação e hibridização dos genitores com vistas à obtenção de progênies que expressem melhores atributos agronômicos (OTHMAN et al., 2018; COSSON et al., 2019).

Para o desenvolvimento de um programa de melhoramento, dentre outras coisas, primeiramente é necessário a obtenção e caracterização do germoplasma, de modo a conseguir informações básicas sobre os genótipos, para utilização prática e aplicada dos produtos gerados pelo programa (FALEIRO et al., 2008). A constatação da variabilidade intra e interespecífica é de essencial importância, pois permite o uso mais eficiente dos recursos genéticos por parte dos melhoristas.

A caracterização morfológica é a forma mais acessível e utilizada para se quantificar a diversidade genética do germoplasma disponível. Segundo Vieira et al. (2007), os melhoristas têm utilizado descritores morfoagronômicos para caracterizar os acessos e as plantas selecionadas ao longo do programa de melhoramento. Esses descritores têm um papel fundamental na caracterização e seleção de plantas, sendo decisivos na escolha da nova cultivar, além de permitir a estimação de parâmetros

genéticos e de diversidade genética em acessos conservados nos bancos de germoplasma. A caracterização morfoagronômica tem sido feita com base em caracteres que sejam de fácil detecção e mensuração, e sofram pouca influência ambiental.

2.7. Caracterização agronômica

Características agronômicas podem ser exploradas a partir de recursos genéticos, sobretudo visando obter variabilidade que pode ser empregada na geração de variedades mais produtivas, na busca de resistência à pragas e doenças, entre outras (FALEIRO et al., 2011). Na caracterização agronômica, muitos descritores são considerados, exigindo maior esforço e tempo para coleta dos dados. Todavia, em muitas situações, não há necessidade de um grande número de descritores, sendo mais racional a seleção daqueles que melhor representam a variabilidade existente para a cultura estudada. Essa caracterização tem sido efetuada em coleções de germoplasma para gerar informações sobre a descrição e a classificação do material conservado.

Pinaya (1996), na Bolívia, estudou o efeito da densidade de plantio no rendimento de esteviosídeo, durante um ano de avaliação, determinando as variáveis de resposta: altura da planta, peso fresco da planta, peso seco da planta, peso seco das folhas, número de folhas número de perfilhos. Na Figura 1, uma imagem fotográfica de um acesso de *S. rebaudiana* peretencente ao Banco de Germoplasma de estévia da Embrapa Cerrados. A figura 1 ilustra o perfilhamento característico da planta de estévia.



Figura 1. Folhas de *Stevia rebaudiana* Bertoni. Campos experimentais da Embrapa Cerrados. **Fonte:** Fellipe Celestino de Castro, 2022.

Pajas (2000), trabalhando com plantas de estévia na Bolívia, avaliou diferentes níveis de adubo orgânico, determinando as variáveis de resposta: altura da planta, peso seco da planta, peso seco da folha, número de folhas por planta, diâmetro do caule e número de colmos.

Apaza (2003), em La Paz na Bolívia, objetivando realizar uma avaliação agrônômica da estévia sob três níveis de adubação nitrogenada, relatou a determinação de variáveis de resposta: peso da folha seca, peso da planta fresca, número de folhas, altura da planta, comprimento da folha, largura da folha, número de nós por haste, número de hastes verticais, diâmetro da haste e número de ramos por haste.

A compreensão da base genética das características agrônômicas é primordial para os programas de melhoramento; as estimativas de parâmetros genéticos, correlações e da herança genética das características é essencial para a afirmação das melhores estratégias de melhoramento (FALEIRO et al., 2006).

Castro (2019), objetivando correlacionar características morfoagronômicas, avaliar e selecionar genótipos elite de *S. rebaudiana* com alta produtividade e adaptados às condições do Cerrado, obteve estimativas dos coeficientes de correlação de Pearson entre 24 variáveis de 230 genótipos elite de estévia. O mesmo autor relatou sete correlações fortíssimas ($>0,9$) entre as variáveis (altura de plantas – ALT) (ALT 4) e (ALT 5,6); (número de dias para o florescimento – NDF) (NDF 5) e (ALT 5), (NDF6); (ALT5) e (NDF6), (ALT6); e por fim, (NDF6) e (ALT 6), conforme classificação de Carvalho et al. (2004). Portanto, quanto maior a altura (ALT), maior será o período juvenil, ou seja, maior o número de dias para o florescimento (NDF). Esse fato pode ser verificado, pois todas as variáveis de (NDF) e (ALT) em seus correspondentes períodos são acima de 0,8, portanto, correlacionando-se positivamente e com alta intensidade.

Com isso, Castro (2019) concluiu que a seleção de genótipos elite de estévia com alta produção de fitomassa verde ou fresca, maior insensibilidade a comprimento curto do dia, que por sua vez, permite um aumento no período juvenil; bem como altura elevada sem acamamento, são fundamentais para o melhoramento de *S. rebaudiana*, proporcionando uma alternativa de produção para produtores das regiões que apresentam essas condições com ênfase ao Cerrado.

2.8. Caracterização química

Relatos sobre a caracterização da estévia realizados por Othman et al. (2018), em cultivares originárias da Malásia e Paraguai, revelaram a existência de ampla

variabilidade genética entre os acessos de estévia; Da mesma forma, Francisco et al. (2018) identificaram clones promissores para o desenvolvimento de novas variedades de estévia com genótipos brasileiros. No entanto, Kumari et al. (2018) recomendam a realização de mais trabalhos de caracterização desta cultura, o que permite descobrir potenciais cultivares do ponto de vista químico e agrônomico em outros países.

Kim et al. (2011), ao estudarem as quantidades de vitaminas hidrossolúveis nos extractos da folha estévia e dos caules, observaram que o conteúdo de ácido fólico, vitamina C e vitamina B2 no extracto da folha foi significativamente maior do que os valores do extracto do caule. No extrato da folha, o ácido fólico foi encontrado como sendo o composto principal, seguido de vitamina C.

A estévia é rica em terpenos e flavonoides. Os fitoquímicos presentes na planta são austroinullin, b-caroteno, dulcosídeo, niacina, óxidos Rebaudi, riboflavina, esteviol, esteviosídeo e tiamina (JAYARAMAN, et al. 2008).

O esteviosídeo, adoçante extraído da estévia, 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.

O esteviosídeo apresenta a fórmula química de um glicosídeo diterpeno ($C_{38}H_{60}O_{18}$) (KENNELLY, 2001). Todos os glicosídeos diterpenos isolados de folhas de *S. rebaudiana* tem a mesma estrutura química do esteviol e diferem principalmente na quantidade de hidratos de carbono (R1 e R2) (KOVYLYAEVA et al., 2007).

A doçura de qualquer um dos compostos de estévia é maior do que da sacarose: rebaudiosídeo A (250-450 vezes); rebaudiosídeo B (300-350 vezes); rebaudiosídeo C (50- 120 vezes); rebaudiosídeo D (250-450 vezes); rebaudiosídeo E (150-300 vezes); dulcosídeo (50-120 vezes) e esteviolbiosídeo (100-125 vezes). Em média, a doçura dos glicosídeos de esteviol é 250-300 vezes maior do que a da sacarose, com baixa solubilidade em água e pontos de fusão elevados (CRAMMER e IKAN, 1986).

Os diferentes órgãos das plantas sintetizam quantidades de glicosídeos, que diminuem na seguinte ordem: folhas, flores, caule, sementes e raízes. De acordo com Bondarev et al. (2003), a razão pelas folhas possuírem altos níveis de esteviosídeo, se deve ao fato destas servirem como principal tecido entre a síntese e acumulação primária do composto. Durante a ontogenia, o aumento gradual na concentração de esteviosídeo foi observado em folhas maduras e nos caules, e este processo durou da

fase de brotamento ao início da floração. Observou-se também que o conteúdo de glicosídeos diminuiu gradualmente até o início do florescimento e na frutificação os níveis encontrados foram muito baixos.

Chester et al. (2013) avaliaram a genética e a variação metabólica da *S. rebaudiana* em diferentes regiões da Índia, assim como Thiyagarajan e Venkatachalam (2015), e concluíram existir uma forte correlação entre a composição das variações bioquímicas e o polimorfismo do DNA. Assim, os marcadores moleculares têm um grande potencial de identificar e certificar acessos com alta produtividade de esteviol glicosídeos (TAVARINI et al., 2018; WÖLWER-RIECK, 2018).

2.9. Descritores morfoagronômicos para caracterização de *Stevia* spp.

A proteção dos direitos relativos à propriedade intelectual referente a cultivar se efetua mediante a concessão de um Certificado de Proteção da Cultivar, considerado bem móvel para todos os efeitos legais e única forma de proteção de cultivares e de direito que poderá obstar a livre utilização de plantas ou de suas partes de reprodução ou de multiplicação vegetativa, no país (WOLFF, 2009).

A Lei de Proteção de Cultivares criou, no âmbito do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), o Serviço Nacional de Proteção de Cultivares (SNPC), responsável pela gestão dos aspectos administrativos e técnicos da matéria. Dentre as diversas competências que lhe são atribuídas, destacam-se a análise de requerimentos e a outorga dos certificados de proteção aos obtentores. É dever função do SNPC manter a base de dados e conservar as amostras vivas para fins de fiscalização, além de monitorar as características originais de cultivares protegidas no território nacional (AVIANI, 2011).

Para a obtenção dos descritores, o Serviço Nacional de Proteção de Cultivares (SNPC), órgão vinculado ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), responsável por executar e acompanhar ações de proteção de cultivares no país estabeleceu e publicou um conjunto de instruções oficiais para realização de testes de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade (DHE) de cultivares de estévia. No entanto, a aplicação segura e eficaz desses instrumentos requer a validação experimental com diversos cultivares conhecidos, a fim de se estabelecer cultivares-exemplo, fundamentais para viabilizar a harmonização de metodologias aplicadas em diferentes regiões e por distintos avaliadores (BRASIL, 2009).

Em um esforço conjunto, profissionais do Serviço Nacional de Proteção de Cultivares (SNPC/MAPA) e do grupo de pesquisa em Recursos Genéticos e Melhoramento Vegetal liderado pela Embrapa, desenvolveram um conjunto de descritores para ensaios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade de *S. rebaudiana*. Esse trabalho originará um manual prático, que foi idealizado com o objetivo de contribuir para a melhoria do instrumento legal para proteção de cultivares de estévia (*S. rebaudiana*).

Para o desenvolvimento desse manual prático ilustrado para aplicação dos descritores de estévia, devem ser realizadas ações de pesquisa para a testagem e validação de descritores para caracterização de cultivares de estévia e operacionalização das instruções oficiais para realização de testes de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade.

Esse manual, certamente, será de grande utilidade para os pesquisadores de estévia, especialmente para as equipes de melhoristas, que a cada dia vem trabalhando no desenvolvimento de novas cultivares para atender as demandas da sociedade. Segundo Borges et al. (2005), para que os produtos tecnológicos desenvolvidos pelos programas de melhoramento genético cheguem aos produtores e beneficiem toda cadeia produtiva, ações de validação e transferência de tecnologia são essenciais. As instruções para realização dos ensaios de DHE e a tabela dos descritores mínimos para estévia buscam otimizar a aplicação segura e eficaz desses instrumentos e para a obtenção dos descritores, é importante uma harmonização de metodologias aplicadas em diferentes regiões e por avaliadores distintos.

Para obtenção do manual prático, são necessárias ações de pesquisa para a testagem e validação de descritores sugeridos pela UPOV para serem utilizados em ensaios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade de cultivares de *S. rebaudiana*. Cada descritor e respectivas classes fenotípicas devem ser apresentadas de forma ilustrada para uniformizar, padronizar e evitar erros no processo de obtenção dos descritores.

Os descritores usados em ensaios DHE, serão úteis, especialmente para pesquisadores em estévia, que necessitem levantar os descritores para registro e proteção dos materiais desenvolvidos em programas de melhoramento. Mas, também, serão úteis para trabalhos acadêmicos e diferenciação prática das cultivares já disponíveis no mercado. Os descritores, também, podem ser úteis para planejar

cruzamentos com a maior variabilidade possível e disponível nos acessos de recursos genéticos.

Em uma espécie pode haver diferenças desde a morfologia da planta, de folhas até das sementes. Estas variações intrínsecas da espécie devem ser contempladas em um processo de construção e validação de descritores. Porém, essas variações são importantes e, extremamente necessárias nos processos de registro e proteção de cultivares, pois, os mesmos, exigem um grau mínimo de diferenciação entre os materiais a serem registrados e protegidos dos demais materiais, e até dos materiais que os deram origem.

2.10. Melhoramento genético

Segundo Tavarini et al. (2018) e Wölwer-Rieck (2018), o melhoramento genético consiste na aplicação de diversas técnicas pelos melhoristas com objetivo de melhorar a composição genética das culturas de acordo com seu interesse. Assim, várias formas de cruzamentos são utilizadas para a reprodução das espécies como: autopolinização, polinização cruzada e propagação vegetativa.

De acordo com Brandle et al. (1998), o grande desafio para as ações de pesquisa e desenvolvimento é converter a estévia numa planta moderna, isto é, compatível com a produção mecanizada eficiente, desenvolvendo todo o sistema de produção com plantio de sementes, com dados sobre insumos agrícolas, manejo e/ou controle de plantas daninhas, pragas, colheita e um programa de melhoramento genético a fim de otimizar o teor de glicosídeos e o potencial agronômicos das plantas.

Nesse sentido, Brandle et al. (1998) afirmaram que nenhuma produção mecanizada em grande escala foi estabelecida. Conseqüentemente, a comercialização em grande escala tem sido baixa devido às dificuldades na produção, qualidade insatisfatória dos extratos da estévia, entre outros.

A planta de estévia pode ser propagada tanto por meio de técnicas de propagação vegetativa quanto seminífera. A propagação via sementes resulta em uma grande variabilidade na população e também nos níveis de glicosídeos (SIVARAM e MUKUNDAN, 2003; TAMURA et al., 1984; NAKAMURA e TAMURA, 1985).

A propagação vegetativa, no melhoramento de plantas apresenta, dentre outras vantagens, a possibilidade de fixação de genótipos promissores em qualquer uma das fases ou etapas do programa de melhoramento genético. Dessa forma, dando a possibilidade da ocorrência de uma maior celeridade em cada uma das etapas do

processo, que de modo geral, costuma ser bem demorado. Mas o tempo requerido por um determinado programa é dependente, principalmente, da característica do ciclo de crescimento de cada espécie que é alvo do programa. Esse podendo ser melhorador de planta anual ou perene.

No Japão, de acordo com Lima Filho et al. (2004), foram selecionadas 28 variedades apresentando grande variação no teor de glicosídeos, que juntamente com características morfológicas são considerados fatores de alta herdabilidade. Já no Canadá, o melhoramento da estévia ocorreu por meio da indução genética, que culminou no desenvolvimento de uma variedade insensível ao fotoperíodo, que foi patenteada pela Royal Sweet International Technologies Ltda. Nos EUA, a obtenção de clones de estévia com ótimas características fenotípicas ocorreu por meio do tratamento de sementes com colchicina (LIMA FILHO et al., 2004).

No Brasil, Lima Filho et al. (2004) afirmaram que os plantios são advindos de sementes de meio-irmãos, sem cultivares identificadas e adaptadas para os diversos ambientes. O desenvolvimento de cultivares adaptadas aos diferentes ambientes no Brasil é uma importante demanda para ações de pesquisa e desenvolvimento.

A *S. rebaudiana*, por ser uma espécie de polinização cruzada, envolve em sua seleção genótipos mistos, gerando a necessidade da mudança na frequência gênica dos alelos desejáveis, garantindo um alto grau de heterozigosidade (CALIGARI, 2001; TAVARINI et al., 2018; WÖLWER-RIECK, 2018).

A maioria dos programas de melhoramento de estévia é baseada no método convencional que consiste na seleção e cruzamento entre vários genótipos desejáveis. Ademais, esse método, aliado à descrição química, visa melhorar as características de qualidade concomitantemente ao programa de seleção (TAVARINI et al., 2018; WÖLWER-RIECK, 2018).

Segundo Tavarini et al. (2018) e Wölwer-Rieck (2018), Japão, China, Coreia do Sul e Taiwan são os que mais buscaram, através de pesquisas, o melhoramento de variedades da *S. rebaudiana*, e registraram sucesso no programa de melhoramento através da seleção e cruzamento, conseguindo novas variedades com melhoria na quantidade de glicosídeos e alta produtividade de folhas. Algumas dessas novas variedades são: Sunweon 2, caracterizada pelo seu alto teor de esteviosídeo e alta produção de folhas; Sunweon 11, descrita como elevada quantidade de Rebaudiosídeo A – Reb. A; as variedades K1, K2 e K3, qualificadas pela alta produtividade e boa relação entre o Reb. A e Esteviosídeo; Zongping, definida pela ampliada presença de

Reb. A e Esteviosídeo nas folhas; SM4 com alta presença de Reb. A e Esteviosídeo aliada à alta produtividade (YADAV et al., 2011; SHARMA et al., 2016; LEE et al., 1979; SHIZHEN, 1995; LEE et al., 1982; WENG et al., 1996; TAVARINI et al., 2018; WÖLWER-RIECK, 2018).

Lima Filho et al. (2004) classificaram como importante na seleção da estévia: obtenção de populações homogêneas resistentes a pragas e doenças, com alto teor de glicosídeos; alta produção de massa foliar com maior número de hastes e ramificações; produção de sementes viáveis, menos exigentes em nutrientes; tolerância à seca; insensibilidade ao fotoperíodo e à altitude, entre outros.

A *S. rebaudiana* e outras espécies do gênero *Stevia* originadas da América do Sul são diplóides com $2n=2x=22$ cromossomos (CAPONIO et al., 2016; LI et al., 1982; FREDERICO et al., 1996; OLIVEIRA et al., 2004; GALIANO, 1987; WULFF et al., 1996).

Segundo Brandle et al. (1998), uma variedade de métodos de melhoramento vem sendo utilizada para aumentar a produtividade de folhas da estévia e também a concentração de rebaudiosídeo. Fundamentando-se em características de cultivares do Japão, China, Coreia do Sul e Canadá, acredita-se que existe variação genética suficiente para conferir ganhos de produtividade e concentração de edulcorantes significativos através da genética (BRANDLE et al., 1998; BRANDLE e ROSA, 1992; LEE et al., 1979; MORITA, 1987; SHYU et al., 1994; SHIZHEN, 1995).

O estudo da variabilidade genética através da caracterização de acessos e genótipos é prática primordial em bancos ativos de germoplasma e também em programas de melhoramento genético que integram informações de identificação, descrição e diferenciação de acessos e genótipos. Para tanto, várias características qualitativas e quantitativas são mensuradas, que podem ser descritores morfológicos, ou seja, caracteres geralmente regulados por poucos genes, fortemente herdáveis, que propendem à baixa interação genótipo vs. ambiente (BURLE e OLIVEIRA, 2010; FALEIRO et al., 2016).

De acordo com Daher (1997), a intensificação do número de descritores avaliados pode causar informações repetitivas, devido à possibilidade de correlação positiva entre as características. Desse modo, a eliminação de descritores supérfluos se mostra favorável, pois reduziria o trabalho de coleta de dados, evitando a imprecisão na caracterização (PEREIRA et al., 1992).

Para Ledo et al. (2011), o nível de entropia pode ser aplicado com o intuito de dimensionar a variabilidade existente em descritores qualitativos através da observação das frequências relativas das classes para cada descritor estudado. Inicialmente, a entropia clássica foi aplicada à termodinâmica apresentada por Ludwig Boltzmann em 1866, que posteriormente foi retificada por Gibbs. Já em 1948, Shannon estendeu a utilização da entropia para a área da teoria da informação, seguida pela entropia de Rényi que se processa como um parâmetro da diversidade ou aleatoriedade de um sistema e também como medida de emaranhamento na área de informação quântica (ASSIRATI, 2014; COSTA et al., 2005; JOST, 2006; GIANCARLO et al., 2009; HASTINGS et al., 2010; RENYI, 1961).

Segundo Hill (1973), a entropia pode ser empregada em ecologia no campo da biodiversidade a fim de agrupar espécies em distribuições geográficas. A entropia na área da biologia concerne ao nível de aleatoriedade ou desordem em qualquer sistema físico onde se realiza o estudo da diversidade e equitabilidade de uma população. Nesse sentido, quanto maior a desordem, maior a variação do sistema, e assim, maior o grau de entropia.

Padilha et al. (2016) utilizaram a entropia para avaliar 47 descritores em 21 acessos de pimenta *Capsicum baccatum* e *C. chinense*, a fim de uma perspectiva da variabilidade genética de cada descritor.

De acordo com Brandle e Rosa (1992), a hereditariedade da concentração de esteviosídeo é alta, 83% entre meio-irmãos. O rendimento foliar é de 75%, e a relação folha/haste de 83%, sendo considerados eficazes para seleção. Em algumas linhagens de estévia na China, foi descrito que a concentração total de glicosídeo foi maior que 20,5% e no Japão, foi apresentado na literatura de patentes que a relação rebaudiosídeo/esteviosídeo foi de 9/1 (BRANDLE et al., 1998; MORITA, 1987; SHIZHEN, 1995).

Oliveira et al. (2004), estudando diferentes estirpes de *S. rebaudiana* a fim de identificar o número de cromossomos e algumas características morfológicas e compará-las com o nível de ploidia, concluíram que, apesar da esterilidade masculina presente nas linhagens, indivíduos poliploides podem apresentar maiores concentrações de esteviosídeo do que plantas diploides. Ainda de acordo com o mesmo estudo, houve uma relação positiva entre o tamanho do pólen ou estômatos e o nível de ploidia. As estirpes tetraploides tinham folhas e inflorescências maiores; já as triploides, comparadas às diploides, não tiveram diferença significativa para folhas.

Segundo Brandle et al. (1998), algumas cultivares com alto teor de Rebaudiosídeo A, desenvolvidas no Japão e na Coreia do Sul, só podem ser reproduzidas vegetativamente. A seleção dessas cultivares foi baseada na seleção de uma única planta, limitando assim o seu uso devido à autoincompatibilidade das mesmas. Divergente da seleção acima, Morita (1987) e Shizhen (1995) adotaram a seleção massal e a seleção recorrente fenotípica.

Nakamura e Tamura (1985) arremataram em sua pesquisa, que contou com 300 plantas aleatórias, que a quantidade de glicosídeo nas fases de plântula e de colheita não se correlaciona, reprovando a seleção antecipada para glicosídeos totais. Apesar disso, os autores, referindo-se somente aos glicosídeos de forma individual, em relação aos glicosídeos totais, comprovam que existe correlação entre as fases de plântula e colheita, sendo possível a seleção antecipada para composição de glicosídeo individual (BRANDLE et al. 1998).

Contudo, atestaram também uma grande variação no teor dos quatro principais glicosídeos, sendo que esteviosídeo e dulcosídeo A, e esteviosídeo e rebaudiosídeo A e C têm correlação positiva entre si. Shibata et al. (1991) explicam que os glicosídeos individuais podem servir de substrato para outros, como o esteviosídeo serve de substrato para a biossíntese do rebaudiosídeo A. Portanto, plantas com alto teor do composto rebaudiosídeo-A provavelmente contêm baixos teores de esteviosídeo (BRANDLE et al., 1998).

A relação entre o composto rebaudiosídeo-A/esteviosídeo (R/E) próxima ou superior a 1 é importante para indústria, pois o esteviosídeo apresenta sabor residual amargo e baixa solubilidade em água enquanto o composto rebaudiosídeo-A é solúvel e não apresenta sabor residual (CARDELLO et al., 2000; MOTA et al., 2011). A maioria dos acessos encontrados na natureza possui rebaudiosídeo/esteviosídeo muito baixa e este parâmetro tem sido considerado primordial em programas de melhoramento genético (YADAV et al., 2011).

Para obtenção de sucesso no melhoramento da estévia, quanto ao rendimento dos componentes químicos de interesse para indústria, é necessário associar a produtividade de biomassa aos teores de esteviosídeo e composto rebaudiosídeo-A e a relação composto rebaudiosídeo-A/esteviosídeo para determinação do ponto ótimo de colheita, com vistas à máxima produtividade de esteviosídeo e composto rebaudiosídeo-A com padrão da relação composto rebaudiosídeo-A/esteviosídeo desejado (RAMESH et al, 2006).

Diferentes acessos de plantas de estévia podem apresentar características morfológicas bastante distintas. Alguns apresentam apenas uma haste por planta, enquanto outros exibem grande ramificação e várias hastes dominantes por planta (TATEO et al., 1998). Abdullateef e Osman (2011), em avaliação de acessos de estévia sob as mesmas condições de cultivo na Malásia, encontraram grande variação morfológica com 4 a 11 hastes, 1,8 a 3,5 cm de circunferência do caule, 50 a 290 folhas, 6,1 a 14,46 cm de comprimento de folha.

Tateo et al. (1998), no departamento de Concepción no Paraguai, descreveram quatro perfis morfológicos para 13 acessos de estévia baseados, principalmente, no nível de ramificação das plantas e obtiveram alta correlação destes perfis com teor de esteviosídeo. O índice de área foliar (IAF) da cultura pode variar conforme manejo, espaçamento e o material genético utilizado, e apresenta crescimento linear até o florescimento, quando tende a reduzir (LIMA FILHO, 2004). Fronza e Folegatti (2003) encontraram IAF médio de 4,83. Segundo Shyu et al. (1994), há grande variabilidade genética na espécie para espessura de folha e alta correlação deste caractere com o teor de edulcorantes.

Yadav et al. (2011) relatam que populações selvagens de estévia apresentam grande variação na produção de esteviosídeos e de composto rebaudiosídeo-A entre plantas individuais. Desta forma, avaliações de distintos acessos superiores de estévia podem resultar na obtenção de materiais genéticos superiores com elevados ganhos genéticos em relação as características de adaptação as condições do Cerrado, além de obter genótipos com características de interesse para o processamento industrial.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, K.; SONOBE, M. Use of stevioside in the food industry. **New Food Industry**, v. 19, p. 67-72, 1977.

ABDULLATEEF, R. A.; OSMAN, M. Influence of genetic variation on morphological diversity in accessions of *Stevia rebaudiana* Bertoni. **International Journal of Biology**, v. 3, n. 3, p. 66-72, 2011.

ADÁMOLI, J.; MACÊDO, J.; AZEVEDO, L. G. de; MADEIRA NETO, J. S. Caracterização da região dos Cerrados. In: GOEDERT, W. J. (Ed.). **Solos dos Cerrados: tecnologias e estratégias de manejo**. Planaltina: Embrapa-CPAC, 1986. p. 33-74.

AKASHI, H. Present status and prospect for stevioside for utilization. **Shokuhin Kogyo**, v. 20, n. 24, p. 20-26, 1977.

ANDREATA, R. H. P.; TRAVASSOS, O. P. **Chaves para determinar famílias de: pteridophyta, gymnospermae, angiospermae**. Editora Universitária Santa Ursula, 1994.

APAZA, A. Evaluación agronómica de la estevia (*Stevia rebaudiana* Bert.) bajo tres niveles de fertilización nitrogenada en los Yungas de La Paz, Universidad Mayor De San Andrés Facultad de Agronomía, **Monografía**. La Paz, Bolívia, pp. 80 – 90, 2003.

ASSAD, E. D. (Ed.) **Chuva nos Cerrados: análise e espacialização**. Brasília: Embrapa/SPI, 1994. 423 p.

ASSIRATI, L. **Entropia aplicada ao reconhecimento de padrões em imagens**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2014.

AURICCHIO, M. T.; BATISTIC, M. A.; HOPPEN, V. R.; YAMASHITA, I. Y. Pesquisa de adoçantes não calóricos sintéticos em adoçante natural de *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 2, p. 53-61, 1989.

AZEVEDO, J. H. O.; BEZERRA, F. M. L. Resposta de dois cultivares de bananeira a diferentes lâminas de irrigação. **Revista Ciência Agronômica**, v. 39, n. 1, 2008.

BARROSO, G. M.; PEIXOTO, A. L.; COSTA, C. G.; ICHASO, C.L.F. Sistemática das angiospermas do Brasil. v.3, **UFV, Viçosa, Minas Gerais**, p. 237-315, 1991.

BATLLE-BAYER, L.; BATJES, N. H.; BINDRABAN, P. S. Changes in organic carbon stocks upon land use conversion in the Brazilian Cerrado: a review. **Agriculture Ecosystems Environment**, v. 137, p. 47–58, 2010.

BERTONI, M. S. Le Ka'a he'e Sa nature et ses proprietes. **Anales Científicos Paraguayos**, v. 5, n. 1, 1905.

BILIBIO, C.; CARVALHO, J. A.; MARTINS, M.; REZENDE, F. C.; FREITAS, E. A.; GOMES, L. A. A. Desenvolvimento vegetativo e produtivo da berinjela submetida a diferentes tensões de água no solo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental-Agriambi**, v. 14, n. 7, 2010.

BLUMENTHAL, M. FDA lifts import alert on stevia. Herb can be imported only as dietary supplement; future use as a sweetener is still unclear. **HerbalGram**, v.35, p. 17-18, 1995.

BONDAREV, N., SUKHANOVA, M., RESHETNYAK, O.; NOSOV, A. M. Conteúdo de glicosídeo de esteviol em diferentes órgãos de *Stevia rebaudiana* e sua dinâmica durante a ontogenia. **Biologia Plantarum**, v. 47, p. 261-264, 2003.

BRANDLE, J. E.; ROSA, N. Heritability for yield, leaf: stem ratio and stevioside content estimated from a landrace cultivar of *Stevia rebaudiana*. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 72, n. 4, p. 1263-1266, 1992.

BRANDLE, J. E.; STARRATT, A. N.; GIJZEN, M. *Stevia rebaudiana*: Its agricultural, biological, and chemical properties. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 78, n. 4, p. 527-536, 1998.

BUANA, L. Determination of the required growth variables in a stevia agronomic experiment. **Menara Perkebunan**, v. 57, p. 29-31, 1989.

BUANA, L.; GOENADI, D. H. A study on the correlation between growth and yield in *Stevia*. **Menara perkebunan**, v. 53, p. 68-71, 1985.

CABALLERO, R. E. G.; ALCARAZ, J. R. P.; MAYEREGGER, E. Necesidad de agua para el cultivo de estevia (*Stevia rebaudiana* Bert.), calculado sobre la base de lectura de microlisímetro. **Investigación Agraria**, v. 4, n. 2, p. 19 - 24, 2013.

CABRERA, A. L. **Flora de la Provincia de Jujuy**. Buenos Aires: Instituto Nacional de Tecnologia Agropecuaria, Cap. 10: Compositae, p. 726, 1978.

CABRERA, A. L.; HOLMES, W. C.; MCDANIEL, S. *Stevia*, Compositae III. **Flora del Paraguay**, v. 25, p. 302-330, 1996.

CALIGARI, P. Plant Breeding and Crop Improvement. **eLS**, [s.l.], p.1-8, 19 abr. 2001.

CAPONIO, I.; TORRES, S. C.; ANDERSSON, G.; NORRMANN, G. A. Aspectos de la biología reproductiva de *Stevia rebaudiana* (Asteraceae). **Bonplandia**, v. 25, n. 1, p. 59-72, 2016.

CARDELLO, H. M. A. D.; SILVA, M. A. A. P.; DAMÁSIO, M. H. Análise descritiva quantitativa de edulcorantes em diferentes concentrações. **Food Science and Technology**, v. 20, n. 3, 2000.

CARNEIRO, J. W. P. *Stevia rebaudiana* (Bert) Bertoni: produção de sementes. **Maringá: Fundação Universidade Estadual de Maringá**, 1990.

CARVALHO, F. I. F.; LORENCETTI, C.; BENIN, G. **Estimativas e implicações da correlação no melhoramento vegetal**. Pelotas: UFPel, 2004.

CASTRO, F. C. Variabilidade genética, morfológica e agronômica e seleção de genótipos elite de *Stevia rebaudiana* visando ao desenvolvimento de cultivares adaptadas para o Cerrado. **Dissertação** (Mestrado). Universidade de Brasília –UnB, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 138P, 2019.

CEUNEN, S.; WIM, B.; COMPERNOLLE, F.; MAI, A. H.; GENUS, J. M. C. Diterpene glycosides from *Stevia phlebophylla* A. Gray. **Carbohydrate research**, v. 379, p. 1-6, 2013.

CHALAPATHI, M. V.; THIMMEGOWDA, S.; SRIDHARA, S. Correlation studies in stevia. **The Indian Journal of Agricultural**, v. 42, p. 137-138, 1998.

CHANG, K. F.; HOWARD, R. J.; GAUDIEL, R. G.; HWANG, S. F. First Report of *Stevia* as a Host of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Disease**, [s.l.], v. 81, n. 3, p.311-311, mar. 1997.

CHANG, S. S., COOK, J. M. - Stability Studies of Stevioside and Rebaudioside A in Carbonated Beverages - **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 31, n. 1, p. 409-412, 1983.

CHESTER, K.; TAMBOLI, E. T.; PARVEEN, R.; AHMAD, S. Genetic and metabolic diversity in *Stevia rebaudiana* using RAPD and HPTLC analysis. **Pharmaceutical biology**, v. 51, n. 6, p. 771-777, 2013.

CIRIMINNA, R.; MENEGUZZO, F.; PECORAINO, M.; PAGLIARO, M. A bioeconomy perspective for natural sweetener *Stevia*. **Biofuels, Bioproducts and Biorefining**, v. 13, n. 3, p. 445-452, 2019.

CORREA, E., LEÓN, R., LOBATO, M., GARCÍA, M., MUÑOZ, C.; ARAMÉNDIZ, H. Caracterização morfo-agronômica da coleção de germoplasma de pimentão (*Capsicum* spp.) do Caribe colombiano. **Revista Temas Agrarios**, v. 24, n. 2, p. 81-95, 2019.

CORREIA, J. R.; REATTO, A.; SPERA, S. T. Solos e suas relações com o uso e o manejo. In: SOUZA, D. M. G., LOBATO, E. **Cerrado: correção do solo e adubação**. 2 ed. Brasília, DF: EMBRAPA Informação Tecnológica, 2004. p. 29-61.

COSSON, P., HASTOY, C., ERRAZZU, L., BUDEGUER, C., BOUTIÉ, P., ROLIN, D.; SCHURDI- LEVRAUD, V. Diversidade genética e estrutura populacional da erva-doce *Stevia rebaudiana* B., germoplasma cultivado e de variedades crioulas avaliadas por genotipagem de EST-SSRs e fenotipagem de glicosídeos de esteviol. **Plant Biology Journal**, v. 19, n. 436, p. 1-11, 2019.

COSTA, M.; GOLDBERGER, A. L.; PENG, C.-K. Multiscale entropy analysis of biological signals. **Physical review E**, v. 71, n. 2, p. 021906, 2005.

CRAMMER, B.; IKAN, R. Sweet glycosides from the Stevia plant. **Chemistry in Britain**, 22, 915–917, 1986.

COUSINS, F. G. Chance for the West: Growing the new sugar plant. **Western Morning News, Devon, January**, v. 6, 1942.

CRAMMER, B.; IKAN, R. Sweet glycosides from the Stevia plant. **Chemistry in Britain.**, v. 22, p. 915-917, 1986.

DAHER, R. F.; MORAES, C. F.; CRUZ, C. D.; PEREIRA, A. V.; XAVIER D. F. Seleção de caracteres morfológicos discriminantes em capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 26, n. 2, p. 247-258, 1997.

DE, S.; MONDAL, S.; BANERJEE, S. **Stevioside: technology, applications and health**. John Wiley & Sons, 2013.

DIETERICH, K. The constituents of Eupatorium rebaudianum, 'Kaa-he-e' and their pharmaceutical value. **Pharmazeutische Zentralhalle**, v. 50, p. 435-458, 1908.

EGBADZOR, K.; OFORI, K.; YEBOAH, M.; ABOAGYE, L.; OPOKU-AGYEMAN, M.; DANQUAH, E.; OFFEI, S. Diversidade em 113 feijão-fradinho (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) avaliados com 458 marcadores SNP. **Springerplus**, v. 3, n. 541, p. 1-15, 2014.

EITEN, G. Vegetação do cerrado. *In*: PINTO, M. N. **Cerrado: caracterização, ocupação e perspectivas**. 2 ed. Brasília: Editora Universidade de Brasília, 1993. p. 17-73.

FALEIRO, F. G.; FARIAS NETO, A. L. **Savanas: desafios e estratégias para o equilíbrio entre sociedade, agronegócio e recursos naturais**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2008, 1198P.

FALEIRO, F. G.; SPEHR, C.; PEREIRA, A. V.; PEREIRA, E. B. C.; BELLON, G.; BARROS, A. M.; JUNQUEIRA, N. T. V.; SILVA, L. C. Variabilidade em população de *Stevia rebaudiana* como subsídio para a seleção e melhoramento genético. **Embrapa Cerrados-Fôlder/Folheto/Cartilha (INFOTECA-E)**, 2006.

FALEIRO, F.G.; JESUS, O. N.; MACHADO, C. F.; SOARES, T. L.; GIRARDI, E. A.; OLIVEIRA, E. J. Importância da caracterização dos recursos genéticos do maracujazeiro. *In*: JESUS, O.N.; OLIVEIRA, E.J.; FALEIRO, F.G.; SOARES, T.L.; GIRARDI, E.A. (Eds.) **Descritores morfoagronômicos ilustrados para *Passiflora* spp.** Brasília, DF: Embrapa. p. 8-17, 2016.

FDA. **Agency Response Letter GRAS Notice No. GRN 000287 - Purified Steviol Glycosides with Rebaudioside A and Stevioside As the Principal Components**. 2009. Disponível em: <<http://wayback.archiveit.org/7993/20171031050944/https://www.fda.gov/downloads/Food/IngredientsPackagingLabeling/GRAS/NoticeInventory/UCM269264.pdf>>. Acesso em: 17 mar. 2019.

FELIPPE, G. M.; LUCAS, N. M. C.; BEHAR, L.; OLIVEIRA, M. A. C. Observações a respeito de germinação de *Stevia rebaudiana* Bert. **Hoehnea**, v. 1, p. 81–93, 1971.

FELIPPE, G. M.; LUCAS, N. M. C. Estudo da viabilidade dos frutos de *Stevia rebaudiana* Bert. **Hoehnea**, v. 1, p.95–105, 1971.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO), WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **List of Substances Scheduled for Evaluation and Request for Data**. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Seventy-Third Meeting, Food Additives and Contaminants, Geneva, 2009.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO), WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Steviol Glycosides**. FAO JECFA Monographs 5. Rome: Food and Agriculture Organization, 2008.

FRANCIA, E.; TACCONI, G.; CROSATTI, C.; BARABASCHI, D.; BULGARELLI, D.; DALL'AGLIO, E.; VALE, G. Marker assisted selection in crop plants. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 82, n. 3, p. 317-342, 2005.

FRANCISCO, F., PINTO, G., PEREIRA, M., KANIS, L.; DESCHAMPS, C. Caracterização de acessos de *Stevia rebaudiana* Bertoni cultivados no sul do Brasil. **Journal of Agricultural Science**, v. 10, n. 3, p. 353-363, 2018.

FREDERICO, A. P.; RUAS, P. M.; MARIN-MORALES, M. A.; RUAS, C. F.; NAKAJIMA, J. N. Chromosome studies in some *Stevia*. Cav.(Compositae) species from Southern Brazil. **Brazilian Journal of Genetics**, v. 19, n. 4, p. 605-609, 1996.

FRONZA, D. Consumo de água da cultura da estévia (*Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni) estimado por microlisímetro automático. **Tese** (Doutorado). Piracicaba, 2002.

FRONZA, D.; FOLEGATTI, M. V. Consumo de água da cultura de estévia (*Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni) estimado por microlisímetro. **Scientia Agricola**, v. 60, n. 3, p. 595-599, 2003.

GALIANO, N. G. Estudios cromosomicos en especies argentinas de *Stevia* (Compositae). **Darwiniana**, v. 28, p. 311-315, 1987.

GIANCARLO, R.; SCATURRO, D.; UTRO, F. Textual data compression in computational biology: a synopsis. **Bioinformatics**, v. 25, n. 13, p. 1575-1586, 2009.

GOEDERT, W. J. Potencial agrícola dos Cerrados. *In*: SIMPOSIO SOBRE O POTENCIAL AGRICOLA DOS CERRADOS, 1, 1985, Goiânia. **Trabalhos apresentados**. Goiânia: EMGOPA / Campinas: Fundação Cargill, 1985. p.1-2.

GOETTEMOELLER, J.; CHING, A. Seed germination in *Stevia rebaudiana*. **Perspectives on new crops and new uses**. ASHS Press, Alexandria, VA, p. 510-511, 1999.

GOMES, E. N.; MOTERLE, D.; BIASI, L. A.; KOEHLER, H. S.; KANIS, L. A.; DESCHAMPS, C. Plant densities and harvesting times on productive and physiological

aspects of *Stevia rebaudiana* Bertoni grown in southern Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, n. 4, p. 3249-3264, 2018.

GONZÁLEZ, R.E. Necesidad de agua para el cultivo de KA'A HE'E (*Stevia rebaudiana* Bert) bajo riego por goteo, calculado sobre la base de lectura de microlisímetro. San Lorenzo, 2000. 37p. **Monografía** (Graduação) - Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Asunción.

GOSLING, C. **Caá-ehe or azucá-caá**. **Kew Bulletin of Miscellaneous Information** **178**, v. 180, p. 173-194, 1901.

GOYAL, S. K.; SAMSHER; GOYAL, R. K. Stevia (*Stevia rebaudiana*) a bio-sweetener: a review. **Int J Food Sci Nutr**, v. 61, n. 1, p. 1-10, 2010.

GRASHOFF, J. L. Novelties in Stevia (Compositae: Eupatorieae). **Brittonia**, v. 26, n. 4, p. 347-384, 1974.

GUPTA, P.; SHARMA, S.; SAXENA, S. Callusing in *Stevia rebaudiana* (natural sweetener) for steviol glycoside production. **International Journal of Agricultural and Biological Sciences**, v. 4, n. 12, p. 893-897, 2010.

HASTINGS, M. B.; GONZÁLEZ, I.; KALLIN, A. B.; MELKO, R. G. Measuring Renyi entanglement entropy in quantum Monte Carlo simulations. **Physical review letters**, v. 104, n. 15, p. 157201, 2010.

HILL, M. O. Diversity and evenness: a unifying notation and its consequences. **Ecology**, v. 54, n. 2, p. 427-432, 1973.

HOSSAIN, M. F.; ISLAM, M. T.; ISLAM, M. A.; AKHTAR, S. Cultivation and uses of stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni): a review. **African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development**, v. 17, n. 4, p. 12745-12757, 2017.

KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. Conservation of the Brazilian Cerrado. **Conservation Biology**, v. 19, p. 707-713, 2005.

JAYARAMAN, S., MANOHARAN, M.; ILLANCHEZIAN, S. In-vitro antimicrobial and antitumor activities of *Stevia rebaudiana* (Asteraceae) leaf extracts. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, 7, 1143-1149, 2008.

JOST, L. Entropy and diversity. **Oikos**, v. 113, n. 2, p. 363-375, 2006.

KATAYAMA, O.; SUMIDA, T.; HAYASHI, H.; MITSUHASHI, H. The practical application of Stevia and research and development data. **I.S.U. Co.**, p. 747, 1976.

KENNELLY, E. J. Sweet and non-sweet constituents of *Stevia rebaudiana* (Bertoni). **Plants, Industrial Profiles**. Taylor and Francis, London, v. 19, p. 78-195, 2001.

KHAN, A. R.; CHOWDHURY, S. H.; KARIM, M. M. Effect of date of planting on the growth and leaf yield of Stevia (*Stevia rebaudiana*). **Journal of the Bangladesh Agricultural University**, v. 10, n. 2, p. 205-210, 2012.

KIM, I., YANG, M., LEE, O.; KANG, S. The antioxidant activity and the bioactive compound content of *Stevia rebaudiana* water extracts. **LWT – Food Science and Technology**, 44, 1328 – 1332, 2011.

KINGHORN, A. D.; SOEJARTO, D. D.; NANAYAKKARA, N. P. D.; COMPADRE, C. M.; MAKAPUGAY, H. C.; HOVANEC-BROWN, J. M.; MEDON, P. J.; KAMATH, S. K. A phytochemical screening procedure for sweet ent-kaurene glycosides in the genus *Stevia*. **Journal of natural products**, v. 47, n. 3, p. 439-444, 1984.

KINGHORN, A. Douglas (Eds.). **Stevia: the genus Stevia**. CRC Press, 2001.

KOHDÁ, H.; KASAI, R.; YAMASAKI, K.; MURAKAMI, K.; TANAKA, O. New sweet diterpene glucosides from *Stevia rebaudiana*. **Phytochemistry**, v. 15, n. 6, p. 981-983, 1976.

KOVYLYAEVA, G. I.; BAKALEINIK, G. A.; I. STROBYKINA, YU.; GUBSKAYA, V.I.; SHARIPOVA, R. R.; AL'FONSOV, V. A.; KATAEV, V. E., TOLSTIKOV, A. G. Glycosides from *Stevia rebaudiana*. **Chemistry of Natural Compounds**, v.43, n. 1, p. 81-85, 2007.

KUMARI, N., RAINA, R.; SHARMA, Y. Variações interpopulacionais nas características morfoquímicas de *Stevia rebaudiana* Bertoni. **Jornal Turco de Botânica**, v. 42, n. 4, p. 491-501, 2018.

LANDÁZURI, P. A. A.; TIGRERO, J. O. S. (Ed.). **Stevia rebaudiana Bertoni, una planta medicinal**. Bol. Téc. Edición Especial, ESPE, Sangolquí, 2009.

LEE, J. I.; KANG, K. K.; LEE, E. U. Studies on newsweetening resource plant *Stevia* (*Stevia rebaudiana* Bert.) in Korea. I. Effects of transplanting date shifting by cutting and seeding dates on agronomic characteristics and dry leaf yields of *Stevia*. **The Research Reports of the Office of Rural Development**, v. 21, p. 171-179, 1979.

LEE, J. I.; KANG, K. H.; PARK, H. W. New high rebaudioside-A stevia variety "Suweon 11". **The Research Reports of the Office of Rural Development**, v. 24, p. 186-188, 1982.

LEDO, C. A. S.; ALVES, A. A. C.; SILVEIRA, T. C.; OLIVEIRA, M. M.; SANTOS, A. S.; TAVARES FILHO, L. F. Q. Caracterização morfológica da coleção de espécies silvestres de *Manihot* (Euphorbiaceae-Magnoliophyta) da Embrapa Mandioca e Fruticultura. **Embrapa Mandioca e Fruticultura-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)**, 2011.

LEWIS, W. H. Early uses of *Stevia rebaudiana* (Asteraceae) leaves as a sweetener in Paraguay. **Economic Botany**, v. 46, n. 3, p. 336-337, 1992.

LI, L.; XIU, B.; CHANG, P.; NI, D. Observations Chromosomes of *Stevia rebaudiana* from tube seedling. **Journal Botanical**, v. 6 n.7, 1982.

LIMA FILHO, O. F.; VALOIS, A. C. C.; LUCAS, Z. M. (Ed.). **Estévia**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste; Steviafarma Industrial S/A, (Embrapa Agropecuária Oeste. Sistemas de Produção, 5), p. 1-59, 2004.

LIMA FILHO, O. F.; MALAVOLTA, E.; YABICO, H. Y. Influência de estresses nutricionais no teor e produção de esteviosídeo durante o desenvolvimento da estévia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.32, n.5, p.489-494, 1997.

LOVERING, N. M.; REELEDER, R. D. First report of *Septoria steviae* on stevia (*Stevia rebaudiana*) in North America. **Plant Disease**, v. 80, n. 8, p. 959, 1996.

MADAN, S.; SAHMAD, S.; SINGH, G. N.; KOHLI, K.; KUMAR, Y.; SINGH, R.; GARG, M. *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni – a review. **Indian Journal of Natural Products Resources**. v.1, n. 3, p. 267–286, 2010.

MARÍN, W. Sondeo de mercado de la Estevia. **Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt**. Bogotá, p. 15-20, 2004.

MARTINS, P. M.; LANCHOTE, A. D.; THORAT, B. N.; FREITAS, L. A. P. Turbo-extraction of glycosides from *Stevia rebaudiana* using a fractional factorial design. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 27, n. 4, p. 510-518, 2017.

MEGEJI, N. W.; KUMAR, J. K.; SINGH, V.; KAUL, V. K.; AHUJA, P. S. Introducing *Stevia rebaudiana*, a natural zero-calorie sweetener. **Current Science**, v. 88, n. 5, p. 801-804, 2005.

MENGESHA B.; GEJA W.; DAMTEW Z. Stevia Production Guideline. **Ethiopian Institute of Agricultural Research Center**, v. 1, p. 1-23, 2014.

METIVIER, J.; VIANA, A. M. Determination of microgram quantities of stevioside from leaves of *Stevia rebaudiana* Bert. By two-dimensional thin layer chromatography. **Journal of Experimental Botany**, v. 30, p. 805–810, 1979.

MITCHELL, H. **Sweeteners and Sugar Alternatives in Food Technology**. Blackwell Publishing Ltd: Oxford, 2006.

MIYAZAKI, Y.; WATANABE, H. Studies on the cultivation of *Stevia rebaudiana* Bertoni; On the propagation of the plant. **Japanese Journal of Tropical Agriculture**, v.17, n.3, p. 154–157, 1974.

MONTENEGRO, A. A.; BEZERRA, F. M.; LIMA, R. N. DE. Evapotranspiration and crop coefficients of papaya in the coastal region of Ceará state, Brazil. **Engenharia Agrícola**, v. 24, n. 2, p. 464–472, 2004.

MONTEIRO, R. Taxonomia e biologia da reprodução de *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni. **Dissertação** (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, Campinas, 1980.

MORITA, T. **Dried leaves**. JAP Patente n° 62-96025, 1987.

MOTA, T. R.; DACOME, A. S.; COSTA, S. C. Seleção de Clones de Elite de Stevia rebaudiana (Bert.) Bertonii com Ênfase no Teor do Rebaudiosídeo A e Atividade Antioxidante. Anais do Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar (Anais). Maringá. 2011.

MULLER, C. C.; MARTHA Jr., GERALDO B. **A Agropecuária e o Desenvolvimento Recente do Cerrado**. Simpósio Internacional sobre Savanas Tropicais, EMBRAPA: Brasília, 2008.

MURAI, N. **Stevia drying system**. JAP Patente nº 63-258553, 1988.

NAKAJIMA, J. N.; SEMIR, J. Asteraceae do Parque Nacional da Serra da Canastra, Minas Gerais, Brasil. **Brazilian Journal of Botany**, v. 24, n. 4, p. 471-478, 2001.

NAKAMURA, S.; TAMURA, Y. Variation in the main glycosides of Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni). **Japanese Journal of Tropical Agriculture**, v. 29, n. 2, p. 109–116, 1985.

NISHIYAMA, P.; KUSUMOTO, I. T.; COSTA, S. C.; ALVAREZ, M.; VIEIRA L. G. E. Correlation between the contents of total carbohydrates and steviosides in leaves of *stevia-rebaudiana*. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v. 34, n. 3-4, p. 425-434, 1991.

OLIVEIRA, V. M.; FORNI-MARTINS, E. R.; MAGALHÃES, P. M.; ALVES, M. N. Chromosomal and morphological studies of diploid and polyploid cytotypes of *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni (Eupatorieae, Asteraceae). **Genetics and Molecular Biology**, v. 27, n. 2, p. 215-222, 2004.

OMS - Organização Pan-Americana De Saúde. **OMS recomenda que os países reduzam o consumo de açúcar entre adultos e crianças**. 2023. Disponível em: <[https://pt.euronews.com/2015/03/06/oms-recomenda-o-consumo-de- apenas-50-g-de-acucar-por-dia#:~:text=produtos%20como%20o-,A%20Organiza%C3%A7%C3%A3o%20Mundial%20de%20Sa%C3%BAde%20recomendou%2C%20na%20quarta%2Dfeira%20\(,tanto%20por%20adultos%20como%20crian%C3%A7as](https://pt.euronews.com/2015/03/06/oms-recomenda-o-consumo-de- apenas-50-g-de-acucar-por-dia#:~:text=produtos%20como%20o-,A%20Organiza%C3%A7%C3%A3o%20Mundial%20de%20Sa%C3%BAde%20recomendou%2C%20na%20quarta%2Dfeira%20(,tanto%20por%20adultos%20como%20crian%C3%A7as)>. Acesso em: 05 de agosto de 2023.

OTHMAN, H.; OSMAN, M.; ZAINUDDIN, Z. Variabilidades genéticas de *Stevia rebaudiana* Bertoni cultivada na Malásia revelada por caracterizações morfológicas, químicas e moleculares. **Agrivita Journal of Agricultural Science**, v. 40, n. 2, p. 267-283, 2018.

PADILHA, H. K. M.; SOSINSKI J., E. E.; BARBIERI, R. L. Morphological diversity and entropy of peppers (*capsicum baccatum* and *capsicum chinense*, solanaceae). **Embrapa Clima Temperado-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2016.

PÁDUA, J. G.; ALBUQUERQUE, M. S. M.; MELLO, S. C. M. **Bancos e coleções de germoplasma da Embrapa: conservação e uso**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2020.

PAJAS, G. Niveles de Fertilización Orgánica en el Cultivo de la Estevia. En La Localidad de San Buenaventura. Universidad Mayor De San Andrés. Facultad de Agronomía, **Monografía**. La Paz, Bolívia, pp. 80 – 90, 2000.

PEREIRA, A.V.; VENCOVSKY, R.; CRUZ, C. D. Selection of botanical and agronomical descriptors for the characterization of cassava (*Manihot esculenta* Crantz.) germplasm. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v.15, p.115-124, 1992.

PEREIRA, E. Q.; VJANEIRO, V.; GUEDES, T. A.; CARNEIRO, J. W. P. *Stevia rebaudiana* (Bert) Bertoni: regression models with mixed effects for investigating seed germination data. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 41, n. 39609, 2019.

PINAYA, A. Densidades de Siembra en el Cultivo de Stevia en la Localidad de Palos Blancos. Universidad Mayor de San Andrés Facultad de Agronomía, **Monografía**. La Paz, Bolívia, pp. 60 – 75, 1996.

RAKIBUZZAMAN, M.; SHIMASAKI, K.; UDDIN, A. F. M. J. Influence of Cutting Position and Rooting Hormones on Rooting of Stevia (*Stevia rebaudiana*) Stem Cutting. **International Journal Business Social and Scientific Research**, v. 6, n. 4, p. 122-121, 2018.

RAMESH, K.; SINGH, V.; MEGEJI, N. W. Cultivation of stevia *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni: A comprehensive review. **Advances in Agronomy**, v. 89, p. 137-177, 2006.

RAZAK, U. N. A. A.; ONG, C. B.; YU, T. S.; LAU, L. K. In vitro micropropagation of *Stevia rebaudiana* Bertoni in Malaysia. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 57, n. 1, p. 23-28, 2014.

REATTO, A.; CORREIA, J. R.; SPERA, S. T.; Solos do bioma Cerrado: aspectos pedológicos. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. (Ed.) **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina, DF: EMBRAPA-CPAC, 1998. p. 47-83.

RENYI, A. **On measures of entropy and information**. Fourth Berkeley Symposium, Berkley, 1960. p. 547-561.1961.

RESENDE, M.; CURI, N.; REZENDE, S. B.; CORRÊA, G. F. **Pedologia: base para distinção de ambientes**. 5 ed. Lavras: Editora UFLA, 2007. 322 p.

RIBEIRO, J. F.; WALTER, B. M. T. Fitofisionomias do Bioma Cerrado. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. (Ed.). **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 1998. p. 87-166.

ROQUE, N.; BAUTISTA, H. P. Asteraceae: caracterização e morfologia floral. **EDUFBA**, 2008.

ROSSI, M. L.; SOUZA, E. H.; GRANER, E. M.; ALMEIDA, M.; MARTINELLI, A. P. Post-seminal development and morphoanatomy of vegetative and reproductive organs in *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni (Asteraceae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, n. 2, p. 2167-2177, 2018.

SAKAGUCHI, M.; KAN, T. Japanese researches on *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni and stevioside. **Ci Cult**, v. 34, p. 235-248, 1982.

SANO, E. E.; ROSA, R.; BRITO, J. L.; FERREIRA, L. G. Land cover mapping of the tropical savanna region in Brazil. **Environmental Monitoring Assessment**, v. 166, p. 113–124, 2010.

SANTOS, J. L. Edulcorantes em alimentos e seus possíveis efeitos na saúde. **Trabalho de conclusão de curso**. Universidade Federal do Rio de Janeiro. 88P. 2022.

SANTOS, M. G. A. Adaptação da *Stevia rebaudiana* Bertoni em modo de produção biológico em Ponte de Lima. **Dissertação** (mestrado) - Instituto Politécnico de Viana do Castelo, 2016.

SCHWONTKOWSKI, D. **Herbs of the Amazon: traditional and common uses**. Science Student BrainTrust Pub., 1995.

SHAFFERT, E. E.; CHETOBAR, A. A. Development of the male gametophyte in *Stevia rebaudiana*. **Buletinul Academiei de Schintse a Republica Moldova**, v. 6, p. 3-9, 1992.

SHAFFERT, E. E.; CHETOBAR, A. A. Development of the female gametophyte in *Stevia rebaudiana*. **Buletinul Academiei de Stiinte a Republicii Moldova Stiinte Biologice Si Chimice**. v. 2, 10–18, 1994.

SHARMA, S.; WALIA, S.; SINGH, B.; KUMAR, R. Comprehensive review on agro technologies of low calorie natural sweetener stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni): a boon to diabetic patients. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 6, p. 1867-1879, 2016.

SHIBATA, H.; SONOKE, S.; OCHIAI, H.; NISHIHASHI, H.; YAMADA, M. Glucosylation of steviol and steviol-glucosides in extracts from *Stevia rebaudiana* Bertoni. **Plant physiology**, v. 95, n. 1, p. 152-156, 1991.

SHIZHEN, S. A study on good variety selection in *Stevia rebaudiana*. **Scientia Agricultura Sinica**, v. 28, n. 2, 1995.

SHU, S. Z.; WANG, W. Z. Variation in quantitative characters in Stevia. **Acta Agronomica Sinica**, v. 14, n. 2, p. 167-173, 1988.

SHUPING, C.; SHIZHEN, S. Study on storage technique of *Stevia rebaudiana* seed. **Acta Agronomica Sinica**, v. 21, p. 102-105, 1995.

SHYU, Y. T.; LIU, S. Y.; LU, H. Y.; WU, W. K.; SU, C. G. Effects of harvesting dates on the characteristics, yield, and sweet. **Journal of Agricultural Research of China**, v. 43, n. 1, p. 29-39, 1994.

SIVARAM, L.; MUKUNDAN, U. In vitro culture studies on *Stevia rebaudiana*. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, v. 39, n. 5, p. 520-523, 2003.

SOEJARTO, D. D.; KINGHORN, A. D.; FARNSWORTH, N. R. Potential sweetening agents of plant origin. III. Organoleptic evaluation of Stevia leaf herbarium samples for sweetness. **Journal of natural products**, v. 45, n. 5, p. 590-599, 1982.

SOUZA, E. M. C. Caracterização morfológica, seleção de descritores e diversidade genética entre acessos de mangueira do banco ativo de germoplasma da Embrapa Semiárido. **Embrapa Semiárido-Tese/dissertação (ALICE)**, 2018.

STONES, M. **Stevia wins final EU approval**. 2011. Disponível em: <<https://www.foodmanufacture.co.uk/Article/2011/11/14/Stevia-wins-final-EU-approval>>. Acesso em: 19 jun. 2019

SUMIDA, T. Reports on *Stevia rebaudiana* Bertoni. Introduced from Brazil as a new sweetness resource in Japan. **Miscellaneous Publication of the Hokkaido National Agricultural Experiment Station**, v. 2, p. 79–83, 1973.

SUMIDA, T. Studies on *Stevia rebaudiana* (Bertoni): Introduced from Brazil as a new sweetness resource in Japan. **Journal of the Central Agricultural Experiment Station**, v. 31, p. 1-71, 1980.

TAMURA, Y.; NAKAMURA, S.; FUKUI, H.; TABATA, M. Clonal propagation of *Stevia rebaudiana* Bertoni by stem-tip culture. **Plant Cell Reports**, v. 3, n. 5, p. 183-185, 1984.

TANG, H., TIE, M., LUO, Q., ZHU, Y., LAI, J.; LI, H. Uma revisão de fabricantes de moléculas aplicadas em feijão-fradinho (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) (Revisão) Reprodução. **Journal of Life Sciences**, v. 6, n. 11, p. 1190-1199, 2012.

TATEO, F.; MARIOTTI, M. G.; BONONI, M. Stevioside content and morphological variability in a population of *Stevia rebaudiana* Bertoni from Paraguay. **Italian Journal of Food Science**, v. 10, n. 3, p. 261-267. 1998.

TAVARINI, S., PASSERA, B., ANGELINI, L. G. CHAPTER 1: Crop and Steviol Glycoside Improvement in Stevia by Breeding. **Food Chemistry, Function and Analysis**, p. 1-31, 2018.

THIYAGARAJAN, M.; VENKATACHALAM, P. Assessment of genetic and biochemical diversity of *Stevia rebaudiana* Bertoni by DNA fingerprinting and HPLC analysis. **Annals of Phytomedicine**, v. 4, n. 1, p. 79-85, 2015.

TIAN Y, DENG Y, ZHANG W. Isômeros de sacarose como adoçantes alternativos: propriedades, produção e aplicações. **Microbiologia aplicada e biotecnologia**, v. 103, p. 8677–8687, 2019.

TOFFLER, F.; ORIO, O. A. Acceni sulla pin ata tropicale ‘Kaa-he-e’ou ‘erba dolce’. **Rivista della Societa Italiana di Scienza dell'Alimentazione**, v. 4, p. 225-230, 1981.

- TRUONG, T. T.; VALÍCEK, P.; NEPOVÍM, A.; VANÉK, T. Correlation between stevioside content in leaves, their surface and the number of roots in the plant. **Scientia Agriculturae Bohemica**, v. 30, p. 249-258, 1999.
- UTUMI, M. M.; MONNERAT, P. H.; PEREIRA, P. R. G.; FONTES, P. C. R.; GODINHO, V. P. C. Deficiência de macronutrientes em estévia: sintomas visuais e efeitos no crescimento, composição química e produção de esteviosídeo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 6, p. 1039-1043, 1999.
- VALIO, I. F. M.; ROCHA, R. F. Effect of photoperiod and growth regulator on growth and flowering of *Stevia rebaudiana* Bertoni. **Japanese Journal of Crop Science**, v. 46, n. 2, p. 243-248, 1977.
- VALOIS, A. C. C. O excesso de açúcar nos alimentos. **Revista de Recursos Genéticos - RG News**, v. 5, n. 2, p. 28-30, 2019.
- VON SCHMELING, G. A. Caá-heé: edulcorante natural não calórico (*Stevia rebaudiana* Bert). **Boletim do Sanatório São Lucas**, v. 29, p. 67-78, 1967.
- WENG, X.; SUN, J.; ZANG, R. Study on the growth and physiological characteristics of *Stevia rebaudiana* SM4. **Acta Agriculturae Universitatis Chekianensis**, v. 22, n. 5, p. 538-540, 1996.
- WÖLWER-RIECK, U. Steviol Glycosides. **Food Chemistry, Function and Analysis**, Royal Society of Chemistry, p.1-32, 2018.
- WOOD JR, H. B.; ALLERTON, R.; DIEHL, H. W.; FLETCHER JR, H. G. Stevioside. I. The structure of the glucose moieties. **Journal of Organic Chemistry**, v. 20, n. 7, p. 875-883, 1955.
- WULFF, A. F.; HUNZIKER, J. H.; ESCOBAR, A. Estudios cariológicos en Compositae. VII. **Darwiniana**, v.34, p. 213-231, 1996.
- XIANG, Z. P. *Stevia*. General Bureau of State Farms, **Heilongjiang**, China, 1983.
- YADAV, A. K.; SINGH, S.; DHYANI, D.; AHUJA, P. S. A review on the improvement of stevia [*Stevia rebaudiana* (Bertoni)]. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 91, n. 1, p. 1-27, 2011.
- YAO, Y.; BAN, M.; BRANDLE, J. A genetic linkage map for *Stevia rebaudiana*. **Genome**, v. 42, n. 4, p. 657-661, 1999.
- ZAIDAN, L. B. P., DIETRICH, S. M. C.; FELIPPE, G. M. Effect of photoperiod on flowering and stevioside content in plants of *Stevia rebaudiana* Bertoni. **Japanese Journal of Crop Science**, v. 49, n. 4, p. 569-574, 1980.

**CAPÍTULO 1. PARÂMETROS GENÉTICOS E CARACTERIZAÇÃO
AGRONÔMICA DE GENÓTIPOS SUPERIORES DE ESTÉVIA EM
CONDIÇÕES DE CULTIVO NO CERRADO DO PLANALTO CENTRAL**

PARÂMETROS GENÉTICOS BASEADOS EM CARCTERES AGRONÔMICOS DE GENÓTIPOS SUPERIORES DE ESTÉVIA EM CONDIÇÕES DE CULTIVO NO CERRADO DO PLANALTO CENTRAL

Resumo: A *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni é uma espécie que vem ganhando destaque em todo o mundo. Nos últimos anos vem sendo crescente a sua utilização na indústria de alimentos. E com essa expansão se faz necessário o desenvolvimento de pesquisas que envolvam a caracterização e uso de germoplasma e melhoramento genético dessa espécie. A equipe técnica do programa de melhoramento da estévia conduzido na Embrapa Cerrados vem trabalhando no desenvolvimento de cultivares com características agronômicas que atendam às demandas atuais da indústria. Neste trabalho, objetivou-se estimar os parâmetros genéticos e caracterização agronômica de genótipos superiores de estévia em condições de cultivo no Cerrado do Planalto Central. O estudo foi desenvolvido na Embrapa Cerrados, Planaltina, DF. Foram avaliados 14 genótipos superiores de *S. rebaudiana* (propagados vegetativamente) no Delineamento Experimental de Blocos Casualizados, com quatro blocos, sendo três plantas para compor uma parcela experimental. Foram avaliadas as variáveis número de dias para o florescimento (NDF), altura de plantas em centímetros (ALT), número de perfilhos por planta (PER), fitomassa verde em gramas (FMV), fitomassa seca em gramas (FMS), fitomassa de folhas secas em gramas (FOS) em quatro épocas distintas de avaliação. Na primeira época de avaliação, os genótipos que apresentaram os melhores desempenhos agronômicos foram o CPAC-09, CPAC-10 e CPAC-16. Na segunda época de avaliação os genótipos CPAC-03, CPAC-09 e CPAC-10 foram os que mais se destacaram quanto as características avaliadas. Na terceira época de avaliação, os genótipos com melhores desempenhos foram o CPAC-05 e CPAC-10 e na quarta época de avaliação dos 14 genótipos avaliados 10 tiveram um destaque considerável para todas as características avaliadas. Dos 14 genótipos superiores de *S. rebaudiana* avaliados no programa de melhoramento genético de estévia da Embrapa Cerrados, os com melhores desempenhos agronômicos nas avaliações realizadas foram o CPAC-03, CPAC-09 e CPAC-10.

Palavras-chave: *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni, florescimento, rendimento de matéria seca, cultivares adaptadas, análise de crescimento.

GENETIC PARAMETERS AND AGRONOMIC CHARACTERIZATION OF SUPERIOR STEVIA GENOTYPES UNDER CULTIVATION CONDITIONS IN THE CERRADO OF THE CENTRAL PLATEAU

Abstract: *Stevia rebaudiana* Bertoni is a species that has been gaining prominence worldwide. In recent years, its use in the food industry has been increasing. This expansion has made it necessary to develop research involving the characterization and use of germplasm and genetic improvement of this species. The technical team of the stevia breeding program conducted at Embrapa Cerrados has been working on the development of cultivars with agronomic characteristics that meet the current demands of the industry. The objective of this study was to estimate the genetic parameters and agronomic characterization of superior stevia genotypes under cultivation conditions in the Cerrado of the Central Plateau. The study was developed at Embrapa Cerrados, Planaltina, DF. Fourteen superior genotypes of *S. rebaudiana* (vegetatively propagated) were evaluated in a Randomized Block Experimental Design, with four blocks, with three plants to compose an experimental plot. The following variables were evaluated: number of days to flowering (NDF), plant height in centimeters (ALT), number of tillers per plant (PER), green phytomass in grams (FMV), dry phytomass in grams (FMS), dry leaf phytomass in grams (FOS) in four different evaluation periods. In the first evaluation period, the genotypes that presented the best agronomic performances were CPAC-09, CPAC-10 and CPAC-16. In the second evaluation period, the genotypes CPAC-03, CPAC-09 and CPAC-10 were the ones that stood out the most regarding the evaluated characteristics. In the third evaluation period, the genotypes with the best performances were CPAC-05 and CPAC-10 and in the fourth evaluation period, of the 14 genotypes evaluated, 10 had considerable prominence for all evaluated characteristics. Of the 14 superior genotypes of *S. rebaudiana* evaluated in the Embrapa Cerrados stevia genetic improvement program, those with the best agronomic performances in the evaluations carried out were CPAC-03, CPAC-09 and CPAC-10.

Key words: *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni, flowering, dry matter yield, adapted cultivars, growth analysis.

1.1 INTRODUÇÃO

A estévia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) é um arbusto perene que vem alcançando uma grande popularidade em todo o mundo. É uma planta que pertence à família Compositae, originária da América do Sul que vem sendo cultivada em muitas regiões do mundo, incluindo Ásia, Europa e América do Norte (LEMUS-MONDACA et al., 2012). Mais de 200 espécies de estévia estão presentes em todo o mundo, mas a *S. rebaudiana* é a única com sabor doce (SHIVANNA et al., 2013).

Tem havido um interesse considerável em explorar os usos potenciais da estévia, e vários estudos de revisão relataram a composição bioquímica, propriedades nutricionais ou benefícios da estévia para a saúde (ROJAS et al., 2018; CARRERA-LANESTOSA et al., 2017; KOBUS-MORYSON e GRAMZA-MICHAŁOWSKA, 2015; MARCINEK e KREJPCIO, 2015; RUIZ-RUIZ et al., 2015a e 2015b). Devido a esse crescente interesse, os programas de melhoramento genético precisam desenvolver cultivares com uma maior plasticidade fenotípica, ou seja, uma maior capacidade adaptativa e conseqüentemente com maior produtividade de parte aérea, com o intuito de atender a esse mercado consumidor cada vez mais exigente em quantidade e qualidade.

A estévia tem várias aplicações, incluindo seu uso como açúcar alternativo para indústria de alimentos, também pode ser utilizada como ingrediente para produtos farmacêuticos e como solubilizante (NGUYEN et al., 2018). A estévia é amplamente conhecida por sua doçura e baixo teor calórico do glicosídeo de esteviol diterpenoide foliar (LOPES et al., 2016).

A estévia tornou-se comercialmente atraente devido ao seu potencial edulcorante e benefícios nutricionais. A estévia pode ser usada para a produção de alimentos nutracêuticos e funcionais devido à presença de constituintes ativos como polifenóis, clorofilas, carotenóides e taninos que podem ser extraídos (KOVAČEVIĆ et al., 2018; HOSSAIN et al., 2017).

Em países da América do Sul, Ásia, Japão e China, e em alguns países da União Européia a estévia tem sido utilizada há anos como adoçante de baixa caloria. Desde algum tempo, os maiores mercados para a estévia e seus produtos têm sido o Japão e a Coreia. No entanto, o maior produtor de estévia do mundo é a China, onde cerca de 80% de sua produção é exportada. A Índia também está cultivando estévia, que é usada principalmente como folha seca crua ou como adoçante processado. Já no Brasil, Coreia e Japão, folhas de estévia e extratos altamente refinados são usados como adoçante de

baixa caloria (PAL et al., 2013).

O crescimento vegetal, que pode ser definido como o aumento irreversível em massa seca, pode ser analisado sob vários aspectos. O mais comum, entretanto, é a medida do crescimento da fitomassa de comunidades de plantas, em casas de vegetação ou em condições de campo. A análise quantitativa do crescimento vegetal foi desenvolvida pelos fitofisiólogos Blackman (1919) e Briggs et al. (1920).

Os princípios e as práticas da análise quantitativa do crescimento vegetal têm como objetivo descrever e interpretar o desempenho de uma determinada espécie vegetal crescendo em condições de ambiente natural ou controlado (HUNT, 1978). Esta análise é uma aproximação explicativa, holística e integrativa usada para auxiliar na interpretação da forma das plantas que vem sendo empregada visando a auxiliar na melhor utilização dos vegetais pelo homem (HUNT, 1978).

Em vista da importância agrônômica da *Stevia rebaudiana* Bertoni e a necessidade do desenvolvimento de cultivares mais adaptadas às condições edafoclimáticas do Cerrado e com maior produção atrelada a um maior teor de glicosídeos, objetivou-se estimar os parâmetros genéticos e caracterização agrônômica de genótipos superiores de estévia, com período juvenil longo, adaptadas as condições de cultivo no Cerrado do Planalto Central.

1.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi instalado na área experimental da Embrapa Cerrados, em Planaltina - DF, em dezembro de 2020. Segundo a classificação de Köppen, o município, apresenta uma altitude de 1.007 m., segundo as coordenadas geográficas 15° 35' 30'' de latitude Sul e 47° 42'00'' de longitude a Oeste de Greenwich. Apresenta clima segundo a classificação de Köppen AW Tropical estacional de savana megatérmico com temperatura média do mês mais frio acima de 18,0° C. Tem precipitação média anual de 1.400 mm concentrada no período de outubro a março. O período seco varia de 5 a 6 meses (abril a setembro) as médias de temperatura máxima e mínima são de 26,4° C e 15,9° C, respectivamente. Possui declividade de 0 a 5%. Predominam os solos Latossolo Vermelho Escuro e, que juntos representam 84% da área.

Para a instalação do experimento, um total de 14 genótipos de estévia (oriundos do programa de melhoramento de estévia da Embrapa Cerrados), (CASTRO et al.,

2022), foi cultivado em campo no Delineamento Experimental de Blocos Casualizados (DBC) com quatro blocos, sendo três plantas para compor cada parcela experimental.

As mudas dos genótipos de *S. rebaudiana* foram obtidas por meio da propagação vegetativa, após o último ciclo de seleção das plantas de estévia que ocorreu no mês de abril de 2020. Esse tipo de propagação vegetativa por meio de estacas foi escolhido para manter a integridade dos genótipos selecionados em etapa anterior a presente experimentação, ou seja, no último ciclo de seleção dos genótipos.

As plantas de estévia selecionadas foram clonadas (estacas herbáceas variando de 5 a 8 com retiradas da parte aérea das plantas matrizes) e mantidas em casa de vegetação por 60 dias. Logo após esse período, as mudas foram aclimatadas fora da casa de vegetação por um período equivalente a 15 dias. Logo em seguida, as plantas foram transplantadas para o campo e distribuídas conforme o sorteio realizado para o delineamento dos blocos ao acaso.

Aproximadamente três meses após a implantação do experimento em campo foi realizada uma poda para homogeneização do tamanho das plantas em campo, o corte foi realizado a 5 cm do nível do solo. Essa poda foi realizada buscando minimizar alguma possível diferença que possa ter surgido a partir de algum estresse sofrido pelas plantas durante a formação das mudas e no momento da instalação do experimento em campo.

Aproximadamente quatro meses após a instalação do experimento em campo e um mês e meio após a poda de homogeneização foi realizada a primeira contagem do florescimento das plantas e essas avaliações foram realizadas por dois anos seguidos, de abril de 2021 até abril de 2022. Foram realizadas quatro avaliações durante todo período de experimentação, sendo cinco cortes, o primeiro para homogeneização e os demais foram cortes para avaliação das plantas.

O primeiro corte foi realizado cinco meses após a implantação do experimento, em 13/05/2021, o segundo após 10 meses, em 25/10/2021, o terceiro após 14 meses em 14/02/2022 e o quarto e último corte realizado após 16 meses em 12/04/2022.

Durante toda etapa de experimentação foram analisadas as seguintes variáveis resposta: NDF = Número de dias até o florescimento; ALT = Altura em cm; PER = número de Perfilhos; FMV = Fitomassa Verde em gramas; FMS = Fitomassa Seca em gramas e FOS = massa das folhas secas em gramas.

Para avaliação do período juvenil de cada genótipo foi considerado o número de dias requerido para o florescimento de cada genótipo (NDF). Foi realizado um acompanhamento em campo, a cada dois dias, para observação visual do florescimento

das plantas ou do aparecimento dos botões florais. O florescimento pleno era considerado a partir do lançamento de aproximadamente 50% das flores de uma mesma planta.

Imediatamente antes da realização de cada um dos quatro cortes, foi feita a mensuração da altura de plantas, por meio de medição direta das plantas, considerando a altura do nível do solo ao topo da planta. A avaliação do número de brotações ou de perfilhos por planta (PER) foi realizada por meio da contagem manual após cada corte das plantas realizado em campo. Assim, como a avaliação da fitomassa fresca (FMV) e fitomassa seca de plantas (FMS). Para avaliação da massa verde de plantas foi realizada uma pesagem de cada planta, em campo, no momento do corte. Após essa etapa, as plantas foram acondicionadas em sacos de papel e levadas para estufa de ventilação forçada a uma temperatura de 60 °C por 48 horas, aproximadamente. Após a mensuração da fitomassa seca de planta foi realizada a retirada de todas as folhas e feita a pesagem das mesmas para avaliação da fitomassa seca de folhas (FOS) em gramas. Em todas as etapas de pesagem foi utilizada balança de precisão (0,01g).

Ao longo do período de experimentação em campo, foram realizadas quatro avaliações (quatro cortes), sendo que em todas essas foram realizados cortes para estudo das plantas de estévia. Durante a avaliação, sendo cada corte representando um determinado momento da geração do dado de resposta dos genótipos analisados. Sendo a interação entre os genótipos nos diferentes cortes um resultado já esperado no presente estudo, a avaliação foi direcionada para uma análise comparativa do fator “genótipo” em cada momento, a fim de, posteriormente, destacar os melhores genótipos ao longo do tempo, pois espera-se que haja uma relação de respostas quanto a duração do dia.

Os dados obtidos foram analisados quanto à homogeneidade de variâncias para atendimento às pressuposições das análises estatísticas e, quando necessário, os dados foram submetidos à transformação. Após a transformação, os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F (ANOVA). Para a primeira época de avaliação, as variáveis ALT e FOS foram transformadas para Ln [Ln(x+k)]. Na terceira época de avaliação, as variáveis PER e FMS foram transformadas para Ln. Na quarta época de avaliação, as variáveis PER, FMV, FMS e FOS foram transformadas para Ln. As médias dos tratamentos foram agrupadas pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade. Todas as análises estatísticas dos dados foram realizadas com o auxílio do programa Genes (CRUZ, 2013).

A análise de variância foi realizada com o intuito de estimar parâmetros fenotípicos e genotípicos e detectar eventuais diferenças entre tratamentos, além da herdabilidade, no sentido amplo pela relação entre as variâncias genotípicas e fenotípicas. O modelo estatístico adotado para a análise de variância foi $Y_{ij} = m + G_i + R_j + e_{ij}$; em que: Y_{ij} é o valor fenotípico médio do caráter Y medido no material genético i, na repetição j; m é a média geral paramétrica dos dados em estudo; G_i é o efeito do i-ésimo genótipo, aleatório; R_j é o efeito da j-ésima repetição; e_{ij} é o erro médio associado à observação Y_{ij} , aleatório (VENCOVSKY; BARRIGA, 1992). Considerou-se como aleatório o efeito de genótipos, pois os materiais foram obtidos por propagação vegetativa, sendo representativas da população sob estudo.

1.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pelo resumo da análise de variância da primeira época de avaliação foi possível observar que houve efeito significativo para as variáveis número de dias para o florescimento (NDF), altura de plantas (ALT) e fitomassa verde (FMV) quanto aos genótipos estudados (Tabela 1). Esses resultados indicam que os genótipos diferem entre si para as variáveis NDF, ALT e FMV. Para as variáveis fitomassa seca (FMS) e fitomassa de folhas secas (FOS) não foi observado efeito significativo pelo teste F da análise de variância ($P > 0,05$). Esses resultados indicam que os 14 genótipos superiores de *Stevia rebaudiana* estudados foram similares quanto as variáveis FMS e FOS na primeira época de avaliação.

Tabela 1. Resumo da análise de variância, estatística descritiva, estimativas de parâmetros genéticos de 14 genótipos de *Stevia rebaudiana* Bertoni. para as variáveis número de dias para o florescimento (NDF), altura de plantas em centímetros (ALT), número de perfilhos por planta (PER), fitomassa verde em gramas (FMV), fitomassa seca em gramas (FMS), fitomassa de folhas secas em gramas (FOS), na primeira avaliação. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2023.

FV/Descrição	QM						
	GL	NDF	ALT	PER	FMV	FMS	FOS
Blocos	3	48,42	0,06	55,92	2.893,90	234,38	1,25
Genótipos	13	86,25*	0,09*	74,68*	1.199,76*	76,01 ^{ns}	0,53 ^{ns}
Resíduo	39	34,26	0,04	35,87	499,98	41,79	0,29
Média Geral		49,14	3,47	11,96	43,50	10,57	1,19
CV%		11,91	5,92	50,06	51,40	61,15	45,52
Mínimo		39,00	2,83	4,00	4,00	1,02	0,12
Máximo		60,00	3,97	39,00	110,00	40,13	2,52
DMS-Tukey (5%)		14,78	0,52	15,12	56,44	16,32	1,37

DMS-Tukey (1%)	17,31	0,61	17,71	66,12	19,12	1,60
CVg (%)	7,34	3,29	26,03	30,41	27,66	20,63
CVg/CVe	0,62	0,56	0,52	0,59	0,45	0,45
S ² genética	12,99	0,01	9,70	174,94	8,55	0,06
S ² ambiental	34,26	0,04	35,87	499,98	41,79	0,29
h ² (%)	60,28	55,33	51,96	58,33	45,02	45,10

Legenda: ** e * significativo a 1 e 5% de probabilidade de erro pelo teste F de Fischer, respectivamente; FV – Fonte de variação; QM – Quadrado médio; GL – Graus de liberdade; CV – Coeficiente de variação; DMS – Diferença Mínima Significativa; CVg – Coeficiente de variação genético; CVg/CVe – Relação entre o coeficiente de variação genético e o coeficiente de variação ambiental; S² - variância genética; S² - Variância ambiental; h² (%) – Coeficiente de determinação genético ou herdabilidade.

Para a segunda época de avaliação foi possível observar pela análise de variância que houve efeito significativo para as variáveis altura de plantas (ALT) e fitomassa de folhas secas (FOS) (Tabela 2). Observou-se também efeito significativo dos genótipos para as variáveis fitomassa verde (FMV) e fitomassa seca (FMS). Esses resultados indicam que os genótipos estudados diferem entre si quanto o estudo das características fenotípicas ALT, FOS, FMV e FMS na segunda época de avaliação. Os genótipos não diferiram entre si pelo teste F da análise de variância (P>0,05) quanto as características número de dias para o florescimento (NDF) e para o número de perfilhos (PER) na segunda época de avaliação.

Tabela 2. Resumo da análise de variância, estatística descritiva, estimativas de parâmetros genéticos de 14 genótipos de *Stevia rebaudiana* Bertoni, para as variáveis número de dias para o florescimento (NDF), altura de plantas em centímetros (ALT), número de perfilhos por planta (PER), fitomassa verde em gramas (FMV), fitomassa seca em gramas (FMS), fitomassa de folhas secas em gramas (FOS), na segunda avaliação. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2023.

FV/Descrição	QM						
	GL	NDF	ALT	PER	FMV	FMS	FOS
Blocos	3	487,92	307,71	660,64	34.278,53	4.256,68	1.281,04
Genótipos	13	665,16 ^{ns}	238,82 ^{**}	296,26 ^{ns}	6.994,8 [*]	4.986,47 [*]	1256 ^{**}
Resíduo	39	396,55	82,43	231,24	34.445,06	2.336,34	465,30
Média Geral		115,39	61,22	28,01	330,41	90,98	42,40
CV%		17,26	14,83	54,30	55,17	53,13	50,88
Mínimo		90,00	21,00	7,00	66,00	17,24	9,26
Máximo		161,00	80,00	73,00	1042,00	277,18	128,42
DMS-Tukey(5%)		50,27	22,92	38,39	468,49	122,01	54,45
DMS-Tukey(1%)		58,88	26,85	44,97	548,78	142,92	63,78
CVg(%)		7,10	10,21	14,40	28,51	28,29	33,18
CVg/CVe		0,41	0,69	0,27	0,51	0,53	0,65
S ² genética		67,15	39,09	16,25	8873,94	662,53	197,89
S ² ambiental		396,55	82,43	231,24	34.445,06	2.336,34	465,30
h ² (%)		40,38	65,48	21,94	50,75	53,15	62,98

Legenda: ** significativo a 1% de probabilidade de erro pelo teste F de Fischer; FV – Fonte de variação; QM – Quadrado médio; GL – Graus de liberdade; CV – Coeficiente de variação; DMS – Diferença Mínima Significativa; CVg – Coeficiente de variação genético; CVg/CVe – Relação entre o coeficiente de variação genético e o coeficiente de variação ambiental; S² - variância genética; S² - Variância ambiental; h² (%) – Coeficiente de determinação genético ou herdabilidade.

Na Tabela 3, foi possível observar que houve efeito altamente significativo para todas as variáveis estudadas ($P < 0,01$), com exceção da variável NDF, que não apresentou diferença significativa pelo teste F da análise de variância ($P > 0,05$). Os resultados observados indicam que os genótipos estudados diferem entre si, porém são similares em relação ao número de dias que requerem para o florescimento (NDF).

Tabela 3. Resumo da análise de variância, estatística descritiva, estimativas de parâmetros genéticos de 14 genótipos de *Stevia rebaudiana* Bertoni. para as variáveis número de dias para o florescimento (NDF), altura de plantas em centímetros (ALT), número de perfilhos por planta (PER), fitomassa verde em gramas (FMV), fitomassa seca em gramas (FMS), fitomassa de folhas secas em gramas (FOS), na terceira avaliação. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2023.

FV/Descrição	QM						
	GL	NDF	ALT	PER	FMV	FMS	FOS
Blocos	3	27,61	180,86	136,41	8.424,2	457,33	760,82
Genótipos	13	15,10 ^{ns}	651,99**	415,40**	27126 **	3104,80**	524,00**
Resíduo	39	10,58	127,74	138,39	11.120,90	1383,82	207,51
Média		78,21	75,24	25,85	221,56	75,38	29,73
CV%		4,16	15,02	45,51	47,60	49,35	48,45
Mínimo		75,82	35,42	4,46	28,86	6,11	3,63
Máximo		91,00	110,00	86,00	609,00	210,00	110,00
DMS-Tukey(5%)		8,75	30,41	31,65	283,74	100,09	38,76
DMS-Tukey(1%)		9,96	34,61	36,02	322,93	113,91	44,11
CVg(%)		1,36	15,22	32,20	28,55	27,52	29,92
CVg/CVe		0,33	1,01	0,71	0,60	0,56	0,62
S ² genética		1,13	131,06	69,25	4001,30	430,26	79,13
S ² ambiental		10,58	127,74	138,39	11.120,90	1.383,82	207,51
h ² (%)		29,94	80,41	66,69	59,00	55,43	60,40

Legenda: ** e ^{ns} significativo a 1% de probabilidade de erro e não significativo pelo teste F de Fischer, respectivamente; FV – Fonte de variação; QM – Quadrado médio; GL – Graus de liberdade; CV – Coeficiente de variação; DMS – Diferença Mínima Significativa; CVg – Coeficiente de variação genético; CVg/CVe – Relação entre o coeficiente de variação genético e o coeficiente de variação ambiental; S² - variância genética; S² - Variância ambiental; h² (%) – Coeficiente de determinação genético ou herdabilidade.

Pelo resumo da análise de variância apresentado na Tabela 4, observa-se que houve efeito altamente significativo para a variável número de dias para o florescimento (NDF). Houve efeito significativo dos genótipos para a variável altura de plantas (ALT). Esses resultados indicam que os genótipos superiores estudados diferem entre si na quarta época de avaliação apenas para as características NDF e ALT. Na quarta época de avaliação, pela análise de variância, não foi observado efeito significativo para as variáveis número de perfilhos por planta (PER), fitomassa verde (FMV), fitomassa seca (FMS) e fitomassa de folhas secas (FOS). Esses resultados indicam que na quarta época

de avaliação, os 14 genótipos estudados, não diferiram entre si para as características fenotípicas PER, FMV, FMS e FOS.

Tabela 4. Resumo da análise de variância, estatística descritiva, estimativas de parâmetros genéticos de 14 genótipos de *Stevia rebaudiana* Bertoni. para as variáveis número de dias para o florescimento (NDF), altura de plantas em centímetros (ALT), número de perfilhos por planta (PER), fitomassa verde em gramas (FMV), fitomassa seca em gramas (FMS), fitomassa de folhas secas em gramas (FOS), na quarta avaliação. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2023.

FV/Descrição	QM						
	GL	NDF	ALT	PER	FMV	FMS	FOS
Blocos	3	47,20	38,20	0,25	13.493,2	0,10	699,96
Tratamentos	13	58,28**	432,08*	0,46 ^{ns}	24.433,0 ^{ns}	0,57 ^{ns}	599,7 ^{ns}
Resíduo	39	18,06	179,52	0,27	18.224,9	0,42	341,31
Média Geral		80,48	75,33	3,27	260,63	4,29	33,77
CV%		5,28	17,79	16,07	51,80	15,12	54,71
Mínimo		71,00	45,30	1,61	38,00	2,43	4,11
Máximo		91,00	110,00	4,45	609,00	5,35	110,00
DMS-Tukey(5%)		10,73	33,82	1,32	340,77	1,64	46,63
DMS-Tukey(1%)		12,57	39,62	1,55	399,18	1,92	54,63
CVg(%)		3,94	10,55	6,69	15,12	4,52	23,80
CVg/CVe		0,75	0,59	0,42	0,29	0,30	0,44
S ² genética		10,05	63,14	0,04	1.552,02	0,03	64,60
S ² ambiental		18,06	179,52	0,27	18.224,96	0,42	341,31
h ² (%)		69,00	58,45	40,94	25,41	26,30	43,09

Legenda: ** significativo a 1% de probabilidade de erro pelo teste F de Fischer; FV – Fonte de variação; QM – Quadrado médio; GL – Graus de liberdade; CV – Coeficiente de variação; DMS – Diferença Mínima Significativa; CVg – Coeficiente de variação genético; CVg/CVe – Relação entre o coeficiente de variação genético e o coeficiente de variação ambiental; S² - variância genética; S² - Variância ambiental; h² (%) – Coeficiente de determinação genético ou herdabilidade.

O coeficiente de variação (%) variou de 5,28% para a variável NDF até 61,15% para a variável FMS (Tabelas 1, 2, 3 e 4). Para algumas culturas como soja, trigo, feijão, milho e sorgo já existem critérios para aceitação dos ensaios de VCU (Valor de Cultivo e Uso). Entre as normas que devem ser atendidas, está uma que afirma que só devem ser considerados os experimentos cujos coeficientes de variação experimental (CV) sejam inferiores ou iguais a 20% (BRASIL, 2012). Para a cultura da estévia ainda não existe essa recomendação de coeficiente de variação.

O CV constituiu-se numa estimativa do erro experimental em relação à média geral do experimento. Admite-se que, quanto menor a estimativa do CV maior será a precisão experimental e vice-versa, e, quanto maior a precisão, maior a qualidade experimental e menores diferenças entre estimativas de médias serão significativas (FILHO CARGNELUTTI e STORCK, 2007).

Como medida de dispersão, a principal vantagem do CV é a possibilidade de comparar variáveis que apresetam naturezas distintas, bem como resultados de diferentes experimentos que envolvem a mesma variável resposta, permitindo quantificar a precisão dos ensaios nas diversas pesquisas (JUDICE et al. 2002). Contudo, Pimentel-Gomes (1991), salienta que o número de repetições interfere nos valores de CV, sobretudo pelo fato de que mesmo havendo um experimento com CV maior em relação a outro, porém, por possuir menor número de repetições, aqueles com maiores valores de CV seriam considerados os mais precisos. O autor sugere ainda como alternativa a utilização do índice de variação, a relação entre o CV e a raiz quadrada do número de repetições.

Para avaliar a precisão dos experimentos tanto em campo quanto em laboratório, a maioria dos pesquisadores tem utilizado o coeficiente de variação (CV). Gomes (1985) considera os coeficientes de variação como baixos quando são inferiores a 10%, médios quando estão entre 10% e 20%, altos quando estão entre 20% e 30% e muito altos quando são superiores a 30%; valores esses sugeridos para experimentos de campo com culturas agrícolas. Entretanto, segundo Steel et al. (1997), saber se um CV em particular é excessivamente alto ou baixo requer experiência com dados similares, ou seja, utilizando a mesma cultura e as mesmas variáveis estudadas.

De maneira geral, o CV (%) foi sempre menor para as variáveis ALT e NDF, isso foi observado para todas as épocas de avaliação, da primeira até a quarta avaliação (Tabelas 1, 2, 3 e 4). E da mesma forma os maiores valores de CV (%) foram apresentados pelas variáveis ligadas a fitomassa de planta, sendo FMS (Tabelas 1 e 3), FMV (Tabela 2) e FOS (Tabela 4).

De acordo com Garcia (1989), a classificação proposta por Gomes (1985) é muito abrangente por não levar em consideração as particularidades da espécie estudada e também por não fazer distinção entre a natureza das variáveis observadas. Portanto, é necessária uma nova classificação, servindo como referência para os pesquisadores de cada área. Pois, está muito evidente que o coeficiente de variação está muito ligado a espécie em particular e as características intrínsecas de cada variável.

De modo geral nestes estudos, os valores críticos de precisão variam conforme as características avaliadas, os critérios utilizados, os tratamentos avaliados, o manejo e o conjunto de experimentos analisados. E ainda, o coeficiente de variação que recebe a classificação de alto ou baixo, para determinada variável, não necessariamente receberá a classificação de alto ou baixo para outra variável analisada (COSTA, 2008).

No presente estudo, essa grande variação no coeficiente de variação, observada para as variáveis estudadas, pode estar diretamente ligada a resposta diferenciada dos genótipos a poda, pois a poda é uma operação tanto de manejo quanto de avaliação realizada com frequência na área. No entanto, a indisponibilidade de tabelas de classificação específicas para as diversas condições experimentais e para cada variável resposta, dificulta a classificação de experimentos quanto à precisão experimental. Logo, estudos que permitam estabelecer faixas de valores de CV específicas para a estévia, sob diferentes sistemas de cultivo nos diversos ambientes avaliando diferentes características, seriam importantes por possibilitarem a orientação dos pesquisadores sobre a validade dos seus experimentos, com base em experimentos mais precisos.

Rufino (2008), estudando a característica número de brotações em clones de *Lippia alba*, observou uma forte ação do ambiente para essa característica. A possível causa foi em relação às estacas e aos clones doadores como: tamanho da estaca, estágio de desenvolvimento, espessura da estaca, nível hormonal e a posição de corte da estaca na planta (RUFINO, 2008).

Rezende et al. (2017), estudando a propagação de miniestacas de *C. arabica*, ponderaram que mudas clonais que apresentaram maior altura, não resultou o mesmo comportamento para a massa de folhas secas. Miniestacas advinda da região semiapical obtiveram maior massa de folhas secas em relação a miniestacas basais (REZENDE et al., 2017).

As estimativas dos componentes de variância e de parâmetros genéticos são necessárias para a predição de valores genéticos. Dentre os parâmetros genéticos quantitativos que mais interessam ao melhorista e que são objetos de estudos em testes de progênies, se destacam as variâncias genéticas, a herdabilidade, o ganho genético e as associações entre os caracteres estudados das plantas nos diferentes estádios de desenvolvimento (COSTA, 1999).

De acordo com Fernandes et al. (2004) e Resende (1991), as estimativas de parâmetros genéticos e predição de ganhos a partir dos testes de progênies têm sido utilizadas como subsídio na definição de estratégias de melhoramento mais adequadas por gerarem informações sobre o potencial genético de indivíduos, famílias e clones, entre outros, a serem selecionados e/ou, recombinados para um novo ciclo de seleção.

O sucesso de um programa de melhoramento depende, basicamente, da quantidade de variação genética e, sobretudo, do valor relativo desta em relação ao valor fenotípico total. A presença de variabilidade genética pode ser confirmada e

quantificada pelo coeficiente de variação genética, que expressa a magnitude da variação genética em relação à média do caráter (RESENDE, 1991). Os coeficientes de variação genética acima de 7% são considerados altos por Sebbenn et al. (1998). Com isso, o coeficiente de variação genético é um parâmetro importante que permite inferir sobre a magnitude da variabilidade presente na população em diferentes caracteres, possibilitando comparar os níveis de variabilidade genética presente em diferentes genótipos, ambientes e caracteres. No presente estudo, o coeficiente de variação genético CVg (%) variou de 3,29% para a variável ALT até 33,18% para a variável FOS (Tabelas 1, 2, 3 e 4). De modo geral no presente estudo, o CVg(%), apresentou os menores valores sempre para a variável NDF (Tabelas 1, 2, 3 e 4) em todas as épocas de avaliação.

O coeficiente de variação genético é um parâmetro que infere sobre a magnitude da variabilidade genética nos caracteres em estudo tendo implicações diretas no ganho da seleção (FERRÃO et al., 2008). Assim, os valores altos de CVg detectados na maioria das características avaliadas caracterizam a existência de variabilidade genética entre as progênes, e reforçam os indicativos de que grande parte da variação total é de natureza genética.

Quanto maior a magnitude de valor apresentado pelo CVg, mais heterogêneos são os genótipos avaliados e maior a possibilidade de selecionar materiais genéticos superiores (FERRÃO et al., 2008). Esses genótipos superiores podem ser encaminhados para novos ciclos de seleção ou ainda direcionados para a utilização como genitores no programa de melhoramento. A manifestação do genótipo de um indivíduo é resultado da contribuição trazida pelos gametas e de um efeito da combinação de dois gametas específicos que o originaram. O genótipo pode ser avaliado a partir de mensurações realizadas nos seus fenótipos, onde o seu desempenho representa o valor genotípico no ambiente que ocupa. Desse modo, o valor de um genótipo pode ser definido como o seu valor fenotípico médio quando os genótipos se desenvolvem em diversos ambientes (COSTA, 1999).

Segundo Resende e Duarte (2007), por meio da relação entre as variâncias genéticas e fenotípicas pode-se estimar a herdabilidade e a acurácia que quantificam a precisão nas inferências das médias genotípicas a partir das médias fenotípicas observadas em um determinado experimento. No presente estudo, os valores da relação CVg/CVe variaram de 0,27 a 0,85, ambos para a variável PER, na segunda e na quarta época de avaliação, respectivamente (Tabelas 1, 2, 3 e 4). A relação CVg/Cve é

utilizada como um índice indicativo no grau de facilidade de seleção de cada caráter. Para todos os caracteres estudados, em todas as épocas de avaliação, esse valor foi inferior a um (1). Esses resultados indicam um menor efeito dos componentes genéticos em relação aos componentes ambientais, não sendo favoráveis às condições de seleção no melhoramento de genético, uma vez que a variância genética foi menor que a variância ambiental. De acordo com Veconvsky (1978) e confirmado por Faleiro et al. (2002) a razão CV_g/CV_e maior (>1), indica situação favorável à seleção dos genótipos superiores da população estudada. Essa situação não foi verificada no presente estudo.

O erro experimental constitui na variação não controlada entre as unidades experimentais que recebem o mesmo tratamento. A relevância do erro experimental se dá no efeito da precisão experimental que é estimada pelo coeficiente de variação experimental (CV_e) que é medida pelo erro padrão em relação à média (RAMALHO, 2012). No momento da realização da estimativa do erro experimental, deve-se considerar as particularidades da cultura avaliada e do caráter que está sendo estudado para melhor compreender os resultados dos coeficientes de variação ambiental (CV_e). É uma característica na qual o ambiente tem grande influência e os valores de pequena magnitude evidenciam uma adequada precisão do ensaio.

A herdabilidade (h^2) é um parâmetro genético essencial para analisar as estratégias de seleção e tal análise é de suma importância, especialmente para os caracteres quantitativos, uma vez que são altamente influenciáveis pelo ambiente. A herdabilidade (h^2) no presente estudo variou de 21,94% para a característica PER na segunda avaliação até 74,14% também para PER na quarta avaliação (Tabelas 1, 2, 3 e 4).

A herdabilidade é um parâmetro que reflete a proporção da variação fenotípica que pode ser herdada, ou seja, quantifica a confiabilidade do valor fenotípico com guia para o valor genotípico. Portanto, torna-se importante o conhecimento de quanto da variação fenotípica é atribuída à variação genotípica (FALCONER e MACKAY, 1996). Além da herdabilidade, as correlações fenotípicas têm grande importância no processo de melhoramento, pois permite ao melhorista o conhecimento das mudanças que ocorrem em um caráter quando se realiza a seleção em outro caráter a ele correlacionado (RAMALHO et al., 1993).

Os altos valores de herdabilidade (h^2) observados no presente estudo podem indicar uma variabilidade genética existente entre os genótipos superiores de estévia avaliados, reforçando a possibilidade de ganhos de seleção nos genótipos promissores.

Corroborando o que foi registrado por Resende (2002), que afirmou que altos valores de herdabilidade e coeficiente de variação genético (CVg) são determinantes para uma eficaz inferência sobre o valor genotípico do material genético a partir das avaliações fenotípicas.

A herdabilidade é um parâmetro genético que expressa a relação entre a variância genotípica e a variância fenotípica, ou seja, externa o grau de confiança no fenótipo, de modo que, quanto maior a variação genética de origem, maior a probabilidade de herdabilidade nas progênes. Dessa forma verifica-se a alta herdabilidade para a maioria dos caracteres avaliados (acima de 50%) indicando que há possibilidade de ganho com a seleção dos genótipos avaliados no presente experimento (Tabelas 1, 2, 3 e 4).

O avanço no melhoramento genético, em grande parte, depende de uma seleção precisa dos genótipos sob avaliação, ou seja, que se obtenha ganhos com a seleção. E esse ganho com a seleção é consequência direta da intensidade de seleção adotada em cada programa, da variabilidade existente na população a ser selecionada e da herdabilidade da característica sob seleção (h^2). A resposta à seleção é, portanto, consequência da herdabilidade da característica a ser melhorada e da variabilidade existente.

A intensidade de seleção dependerá da escolha do melhorista e de seu conhecimento sobre a população que está sendo melhorada. A herdabilidade, que é a fração da variância fenotípica atribuída à variância genética, indica em que escala uma característica pode ser influenciada pelo ambiente.

Quanto maior for a herdabilidade dessa característica maior a chance de sucesso com a seleção dos genótipos selecionados. Sendo assim, os resultados encontrados no presente estudo indicam que a seleção de genótipos superiores de *S. rebaudiana* pode ser efetiva utilizando métodos simples de melhoramento e baseada nas características avaliadas.

Na cultura da soja, as plantas adaptadas às baixas latitudes apresentam um componente genético que as diferem das plantas que são cultivadas em regiões tradicionais de cultivo, ou seja, em regiões com maiores latitudes. Trata-se do período juvenil longo, que alonga a fase vegetativa da soja sob condições de dias curtos (SPEHAR et al., 2014). Em estévia isso precisa ser melhor definido, no presente estudo essa característica não apresentou altos valores de herdabilidade (h^2) que favorecessem uma seleção segura dos genótipos. Pois a maior variação observada nessa característica,

NDF em todas as épocas de avaliação, pode ser atribuída a variação nas condições ambientais, ou seja, variância ambiental.

As variações observadas para os valores de herdabilidade (h^2) observados no presente estudo, para todas as características estudadas, em praticamente todas as épocas de avaliação, podem estar relacionados a uma maior quantidade de genes controlando o caráter, período juvenil das plantas, aqui mensurados como NDF, por exemplo. Assim como para outras características fenotípicas como PER e os caracteres ligados a fitomassa da planta. Porque, geralmente, os caracteres controlados por um menor número de genes apresentam uma maior herdabilidade (h^2). Porém a herdabilidade de uma característica pode variar inclusive entre as épocas de avaliação.

Brandle e Rosa (1992), na província de Ontário no Canadá, estudando a herdabilidade de características agrônômicas e bioquímicas em *S. rebaudina*, encontraram herança para rendimento, relação folha, caule e conteúdo de esteviosídeo. Portanto, é importante e interessante, o uso de uma ferramenta, que consiga inferir, de forma mais objetiva, independentemente de influências ambientais, a característica do genoma no material analisado. Atualmente, os esforços do melhoramento genético têm sido concentrados, na busca por plantas com maiores proporções de composto rebaudiosídeo-A/Esteviosídeo, sendo que a característica, de maior produção de composto rebaudiosídeo-A, é uma herança monogênica (BRANDLE e ROSA, 1992).

Esta informação caracteriza a importância de se conhecer a estrutura alélica da estévia, na tentativa de se buscar correlacionar estes com os fenótipos de maiores proporções de composto rebaudiosídeo-A. Para que estes indivíduos sejam direcionados, para análises de quantificação de teores, e encaminhados dentro do programa de melhoramento genético para o desenvolvimento de cultivares com características mais desejadas pela indústria atualmente.

Como no presente estudo, os maiores valores de herdabilidade (h^2) foram observados para a característica NDF (60,28%), ALT (65,48%), NDF (69,00%) e PER (74,14%), na primeira, segunda, terceira e quarta avaliação, respectivamente (Tabelas 1, 2, 3 e 4). Seria um grande passo para o programa de melhoramento de estévia da Embrapa Cerrados correlacionar essas características (NDF, ALT e PER), que já a maioria (ALT e PER) está diretamente ligada a uma maior produção de parte aérea por planta, com uma maior produção de composto rebaudiosídeo-A nos genótipos superiores de *S. rebaudina*. Além de utilizar a característica NDF na seleção de

genótipos com período juvenil mais longo buscando, assim, selecionar plantas que tenham um maior período vegetativo e que produzam mais matéria seca de folhas.

Pela sua importância, a herdabilidade deve ser conhecida para a condução de um programa de melhoramento, e muitas decisões práticas são tomadas em função de sua magnitude. A predição do ganho com seleção antes da sua realização, servindo de subsídio para a definição da estratégia de seleção, é uma utilidade direta do valor da herdabilidade no sentido restrito (FEHR, 1987; RAMALHO et al., 1993).

A avaliação da herdabilidade, como indicativo da predição, é importante para se conhecer quanto do diferencial de seleção se espera ganhar, em virtude da seleção, na geração seguinte. Assim, para os caracteres que apresentam alto coeficiente de herdabilidade restrita associado a um diferencial de seleção elevado, espera-se maior ganho com seleção. Normalmente a herdabilidade é estimada a partir de uma análise de variância. É normal a ocorrência de erros associados às estimativas de herdabilidade e de outros componentes da variância genética. Sendo assim, as estimativas devem ser avaliadas com cuidado. Existe grande faixa de variação nas estimativas da herdabilidade de um mesmo caráter e que pode ser parcialmente atribuída à amostragem, às diferenças populacionais e às diferenças ambientais (PESEK e BAKER, 1971; RAMALHO et al., 1993). Assim, experimentos com a finalidade de obtenção de estimativas de herdabilidade devem ser conduzidos em um ambiente semelhante ao qual as estimativas serão aplicadas. Neste caso, as estimativas da variância genética não serão inflacionadas pelos componentes da variância da interação entre genótipo e ambiente, componentes que estarão incluídos na variância fenotípica (BORÉM, 1998).

De acordo com Falconer e Mackay (1996), a estimativa de um parâmetro pode ser variável, pois depende da variabilidade genética existente na população e das condições ambientais. Na população estudada ainda existe variação genética suficiente que possibilita a realização de seleção com ganho genético para o desenvolvimento de pelo menos uma cultivar promissora de estévia. As estimativas dos parâmetros genéticos podem ser influenciadas pelos diferentes métodos de melhoramento, pelo tipo de material genético avaliado, pelas diferentes condições edafoclimáticas, pela época e idade de avaliação, entre outros fatores.

Observa-se na Tabela 5, que houve a formação de dois grupos distintos entre os genótipos superiores de *S. rebaudiana* pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro na primeira avaliação. O primeiro grupo (a) foi formado pelos genótipos com maior requerimento em número de dias para atingir o florescimento pleno, maior NDF,

ou maior período juvenil. Esse grupo foi formado pelos genótipos que requerem 51 dias ou mais para atingir a plena floração. O segundo grupo (b) foi formado pelos genótipos que chegaram mais rápido ao florescimento pleno, ou seja, menor NDF, menor período juvenil. Para esse grupo, o dois, os genótipos requereram no máximo 48 dias para a floração plena.

No programa de melhoramento da estévia na Embrapa Cerrados, dentre outros objetivos, busca-se selecionar genótipos com um período juvenil mais longo, ou seja, maior NDF. Almejando, neste caso, desenvolver plantas de estévia com um maior período juvenil e que isso esteja ligado a uma maior produção da parte aérea da planta. O programa busca plantas com maior altura, com maior produção de massa seca de parte aérea, especialmente de folhas, onde existe a possibilidade de maior produção do composto mais desejado pela indústria, que é o composto rebaudiosídeo-A.

Tabela 5. Valores médios para as variáveis número de dias para o florescimento (NDF), altura de plantas em centímetros (ALT), número de perfilhos por planta (PER), fitomassa fresca ou verde em gramas (FMV), fitomassa seca em gramas (FMS), fitomassa de folhas secas em gramas (FOS) de 14 genótipos selecionados de *Stevia rebaudiana* Bertoni. na primeira avaliação. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2023.

Genótipos	NDF	ALT	PER	FMV
CPAC-02	51,25 a	3,44 a	10,50 a	33,25 b
CPAC-03	53,00 a	3,53 a	12,25 a	45,50 b
CPAC-05	56,50 a	3,21 a	12,25 a	20,50 b
CPAC-07	44,25 b	3,50 a	12,75 a	37,25 b
CPAC-09	51,25 a	3,52 a	14,00 a	57,50 a
CPAC-10	51,25 a	3,73 a	12,75 a	82,75 a
CPAC-11	51,25 a	3,65 a	10,50 a	35,50 b
CPAC-13	42,00 b	3,55 a	17,25 a	34,25 b
CPAC-14	42,50 b	3,58 a	9,75 a	33,50 b
CPAC-15	54,75 a	3,42 a	7,25 a	24,00 b
CPAC-16	51,25 a	3,42 a	22,00 a	70,75 a
CPAC-18	47,75 b	3,38 a	8,75 a	52,75 a
CPAC-19	47,75 b	3,15 a	8,75 a	38,25 b
CPAC-21	43,25 b	3,48 a	15,00 a	43,25 b

Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas colunas pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Legenda: Número de dias para o florescimento (NDF); Altura de Plantas em centímetros (ALT); número de perfilhos por planta (PER); Fitomassa verde em gramas (FMV); Fitomassa seca em gramas (FMS); Fitomassa de folhas secas em gramas (FOS).

Para a variável altura de plantas (ALT), na primeira avaliação, não foram formados grupos distintos entre os genótipos de estévia. Assim como para a variável ALT, a variável PER não separou os 14 genótipos de estévia em grupos distintos pelo teste de agrupamento Skott-Knott.

Ainda quanto a primeira avaliação, a variável FMV, separou os genótipos de estévia estudados em dois diferentes grupos. Sendo o primeiro grupo (a) formados pelos genótipos com valores médios superiores a 52,75 g. E o segundo grupo (b) agrupou os genótipos com valores médios de FMV menores ou iguais a 45,50 g.

Na primeira época de avaliação, os genótipos que mais se destacaram foram os genótipos CPAC-09, CPAC-10 e CPAC-16. Esses genótipos ficaram no grupo dos genótipos com um maior período juvenil e, também apresentaram maiores valores médios para FMV (Tabela 5).

Na Tabela 6, observa-se os valores médios para as variáveis ALT, FMV, FMS e FOS referente a segunda época de avaliação para os 14 genótipos superiores de estévia. A segunda avaliação foi realizada no dia 25 de outubro de 2021. As plantas atravessaram um maior período seco após a primeira avaliação que ocorreu no dia 13 de maio de 2021.

Tabela 6. Valores médios para as variáveis altura de plantas em centímetros (ALT), fitomassa fresca ou verde em gramas (FMV), fitomassa seca em gramas (FMS), fitomassa de folhas secas em gramas (FOS) de 14 genótipos selecionados de *Stevia rebaudiana* Bertoni. na segunda avaliação. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2023.

Genótipos	ALT	FMV	FMS	FOS
CPAC-02	58,25 b	441,45 a	122,61 a	56,50 a
CPAC-03	69,50 a	541,07 a	139,12 a	68,07 a
CPAC-05	54,57 b	246,95 b	68,91 b	28,00 b
CPAC-07	52,75 b	191,00 b	57,92 b	32,40 b
CPAC-09	69,50 a	571,50 a	162,49 a	74,70 a
CPAC-10	66,50 a	461,00 a	123,17 a	65,87 a
CPAC-11	47,50 b	222,50 b	68,43 b	39,36 b
CPAC-13	63,02 a	310,03 b	84,89 b	44,31 b
CPAC-14	71,00 a	360,25 a	99,83 a	42,04 b
CPAC-15	68,50 a	187,25 b	49,97 b	23,53 b
CPAC-16	60,25 b	372,25 a	103,75 a	42,43 b

CPAC-18	67,50 a	259,75 b	66,27 b	23,44 b
CPAC-19	55,75 b	296,67 b	79,49 b	33,09 b
CPAC-21	52,50 b	164,00 b	46,86 b	19,81 b

Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas colunas pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Legenda: Altura de Plantas em centímetros (ALT); Fitomassa verde em gramas (FMV); Fitomassa seca em gramas (FMS); Fitomassa de folhas secas em gramas (FOS).

Para a variável ALT houve a formação de dois grupos distintos pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro. O grupo um (a) com genótipos que atingiram altura média máxima de 71 cm e o grupo dois (b) ficaram os genótipos com altura média inferior a 63,02 cm (Tabela 6).

Ainda na segunda avaliação, para a variáveis FMV e FMS, os genótipos de estévia se agruparam em dois grupos distintos. O grupo um (a) os genótipos apresentaram valores médios iguais ou superiores a 372,25 e 99,83 g, para FMV e FMS, respectivamente. O segundo grupo (b) agruparam genótipos de estévia que apresentaram valores médios iguais ou inferiores a 310,03 e 84,89 g, para a FMV e a FMS, respectivamente. Bondarev et al. (2003), argumentam a favor de um possível acúmulo variando de 30 a 170% de glicosídeos nas folhas jovens superiores em comparação com as senescentes inferiores. Dependendo do clone, a porção do composto rebaudiosídeo-A no conteúdo total de glicosídeos também pode aumentar (BONDAREV et al. 2003).

Para a FOS, na segunda época de avaliação, observa-se na Tabela 6, que os valores médios dessa característica possibilitaram a formação de dois grupos distintos pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro. No primeiro grupo (a) aparecem genótipos de estévia com valores médios de FOS iguais ou superiores a 56,50 g. A maior magnitude em rendimento médio de FOS foi observado para a segunda época de avaliação dos genótipos selecionados de estévia. Sekaran et al. (2007) relataram que os tecidos individuais da estévia parecem diferir significativamente, com o conteúdo de esteviosídeo diminuindo em uma ordem diferente: folhas>brotos>raízes>flores. O fato de o maior teor de esteviosídeo ser encontrado nas folhas sugere que elas servem como o principal tecido tanto para a síntese quanto para o acúmulo primário de compostos de esteviosídeo.

Na terceira época de avaliação dos genótipos superiores de estévia, Tabela 7, observa-se que a variável NDF separou os 14 genótipos de estévia em dois grupos distintos, os que necessitaram de uma quantidade maior de dias para atingirem o

florescimento pleno e os que necessitaram de menos dias. Dos 14 genótipos avaliados apenas seis precisaram de uma quantidade maior de dias para atingirem o florescimento pleno, ou seja, apresentaram um maior NDF.

Tabela 7. Valores médios para as variáveis número de dias para o florescimento (NDF) e altura de plantas em centímetros (ALT) de 14 genótipos selecionados de *Stevia rebaudiana* Bertoni, na terceira avaliação. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2023.

Genótipos	NDF	ALT
CPAC-02	82,25 a	76,20 b
CPAC-03	76,25 b	74,37 b
CPAC-05	82,25 a	91,54 a
CPAC-07	79,25 b	61,77 b
CPAC-09	75,75 b	61,75 b
CPAC-10	85,50 a	81,65 a
CPAC-11	83,75 a	64,30 b
CPAC-13	76,50 b	86,33 a
CPAC-14	78,00 b	90,42 a
CPAC-15	79,50 b	85,15 a
CPAC-16	80,00 b	75,27 b
CPAC-18	76,75 b	65,20 b
CPAC-19	82,50 a	69,87 b
CPAC-21	88,50 a	61,14 b

Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas colunas pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Legenda: Número de dias para o florescimento (NDF); Altura de Plantas em centímetros (ALT).

Por meio da avaliação dos 14 genótipos superiores de estévia baseado na variável ALT foi possível a separação dos mesmos em dois grupos distintos. O primeiro grupo (a) foi formado pelos genótipos que apresentaram valores médios de ALT iguais ou superiores a 81,65 cm.

Na terceira época de avaliação os genótipos que mais se destacaram foram os genótipos CPAC-05 e CPAC-10. Esses genótipos ficaram no grupo dos genótipos com um maior período juvenil e, também, apresentaram os maiores valores médios de ALT (Tabela 7).

Durante as fases de seleção dos genótipos superiores em cada ciclo, observou-se sempre que quando as plantas de estévia, no campo, entravam na fase reprodutiva, fase

caracterizada pelo aparecimento dos primeiros botões florais e primeiras flores, as mesmas reduzem o crescimento vegetativo e conseqüentemente reduzem o crescimento da parte aérea da planta. Bondarev et al. (2003) relataram que durante a ontogenia houve um aumento gradual na concentração de esteviosídeo. Esse aumento foi observado tanto nas folhas maduras quanto nos caules, e esse processo durou até a fase de brotação no início da floração.

Os genótipos superiores de estévia aqui avaliados foram oriundos de rigorosos ciclos de seleção dentro do programa de melhoramento da estévia da Embrapa Cerrados. Dentre as principais características avaliadas no programa, foi dada uma atenção especial ao crescimento vegetativo. Priorizou-se, sempre que possível, a seleção de genótipos mais tardios, quanto à fase reprodutiva, ou seja, os melhores genótipos eram escolhidos levando em consideração, dentre outras coisas, o período juvenil mais longo baseado no maior NDF, ou seja, uma maior quantidade de dias para o florescimento. Foram selecionados genótipos que necessitaram de mais tempo em dias para atingir a floração plena.

Por meio da avaliação dos 14 genótipos de estévia baseada na avaliação das variáveis ALT, PER, FMV, FMS e FOS na quarta época de avaliação, observa-se na Tabela 8, que houve a separação dos genótipos em dois grupos distintos com base em cada um dos caracteres avaliados. Esses resultados demonstram e reforçam a existência de variabilidade entre os genótipos selecionados pelo programa de melhoramento de estévia desenvolvido na Embrapa Cerrados, que tem como um dos objetivos principais selecionar genótipos mais produtivos e adaptados as condições edafoclimáticas da região do Cerrado do Brasil.

Tabela 8. Valores médios para as variáveis altura de plantas em centímetros (ALT), número de perfilhos por planta (PER), fitomassa fresca ou verde em gramas (FMV), fitomassa seca em gramas (FMS), fitomassa de folhas secas em gramas (FOS) de 14 genótipos selecionados de *Stevia rebaudiana* Bertoni. na quarta avaliação. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2023.

Genótipo	ALT	PER	FMV	FMS	FOS
CPAC-02	54,52 a	3,78 a	5,29 a	3,71 a	3,20 a
CPAC-03	55,10 a	3,57 a	5,57 a	3,85 a	2,30 a
CPAC-05	47,92 b	2,61 b	4,84 b	3,25 b	2,31 b
CPAC-07	40,99 b	3,02 b	4,23 b	2,75 b	2,01 b

CPAC-09	58,32 a	4,46 a	6,00 a	4,47 a	3,93 a
CPAC-10	55,02 a	3,69 a	5,56 a	4,12 a	3,52 a
CPAC-11	40,79 b	2,81 b	4,18 b	2,71 b	1,96 b
CPAC-13	56,19 a	3,46 a	5,14 a	3,62 a	2,92 a
CPAC-14	61,35 a	3,85 a	5,54 a	4,08 a	3,51 a
CPAC-15	61,92 a	3,61 a	5,29 a	3,79 a	3,21 a
CPAC-16	50,67 a	3,57 a	5,06 a	3,61 a	2,82 a
CPAC-18	56,82 a	3,70 a	5,47 a	3,97 a	3,13 a
CPAC-19	50,42 a	3,75 a	5,60 a	4,05 a	3,45 a
CPAC-21	40,62 b	3,54 a	5,30 a	3,35 b	2,70 b

Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas colunas pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Legenda: Altura de Plantas em centímetros (ALT); número de perfilhos por planta (PER); Fitomassa verde em gramas (FMV); Fitomassa seca em gramas (FMS); Fitomassa de folhas secas em gramas (FOS).

De acordo com Sekaran et al. (2007), a maior quantidade de esteviosídeo foi encontrada nas seções superiores de brotos jovens e em crescimento ativo, enquanto as seções de brotos senescentes mais baixas exibiram a menor quantidade de tais compostos. Baseado nesse princípio buscou-se, no presente estudo, selecionar plantas de estévia com um melhor desenvolvimento vegetativo da parte aérea, priorizando sempre uma maior produção de folhas jovens. Sendo a ALT e o PER das plantas as características com importância destacada no momento da decisão para selecionar os melhores genótipos de estévia. Alinhado a tudo isso, a característica PER apresentou uma maior herdabilidade (h^2), o que favoreceu a seleção dos genótipos.

A produção da parte aérea sempre foi priorizada nos vários ciclos de seleção na Embrapa Cerrados visando o desenvolvimento de cultivares de estévia que possam atender a demanda da indústria. A indústria tem buscado materiais com uma maior produção de composto rebaudiosídeo-A em detrimento do esteviosídeo nas folhas da planta de estévia. Isso está diretamente ligado a plantas com maiores quantidades do composto rebaudiosídeo-A, mas essa produção está atrelada a uma maior produção de parte aérea por planta.

A realização da seleção de genótipos superiores não é uma tarefa fácil, uma vez que a maioria dos caracteres agrônômicos são quantitativos, ou seja, controlados por vários genes e muito influenciados pelo ambiente. Dessa forma, o melhorista deve possuir ou lançar mão de estratégias que possibilitem realizar uma seleção efetiva. Com isso, conhecer sobre a herança dos caracteres e estimar os parâmetros genéticos permite

conhecer o potencial genético da população e direcionar a seleção de genótipos superiores (ROCHA, 2018). Portanto, o estudo dos parâmetros genéticos da estévia e a identificação das melhores estratégias de seleção é de extrema importância para ter eficiência no processo de seleção para o desenvolvimento de cultivares geneticamente superiores que possuam um conjunto de caracteres favoráveis para se obter elevados rendimentos de parte aérea por planta.

De maneira geral, nos genótipos superiores selecionados observa-se, ainda, uma variabilidade genética considerável, que pode ser comprovada pela variação fenotípica observada nos genótipos. Essa variabilidade é observada sobretudo nas características de crescimento da planta, como altura de planta, número de perfilhos, massa verde e seca da parte aérea das plantas.

Para Higa et al., (1997), a restrição da base genética é um fator limitante para os programas de melhoramento, e por isso, a escolha adequada do número e caracteres dos genitores deve ser um fator importante a considerar, evitando o comprometimento futuro do programa. E também, a obtenção de estimativa de parâmetros genéticos e fenotípicos tem grande importância em programas de melhoramento genético, pois possibilitam a tomada de decisões relacionadas com a escolha do método apropriado, os caracteres que devem ser selecionados em etapas iniciais e avançadas de um programa de melhoramento e também ao peso que se deve atribuir a cada caráter, separadamente ou em conjunto.

O melhoramento genético da estévia vem sendo possível através da caracterização agrônômica das plantas e da seleção dos melhores genótipos baseado na variabilidade existente no germoplasma da espécie. A planta ideal é difícil de ser alcançada em qualquer cultura, porém os melhoristas buscam desenvolver as cultivares com as características mais desejadas pelo mercado. Desenvolver cultivares de estévia adaptadas as condições de cultivo do Cerrado do Brasil aliado a um maior período juvenil e com maior produção da parte aérea vem sendo o objetivo constante do melhoramento genético de estévia na Embrapa Cerrados.

1.4 CONCLUSÕES

Os genótipos com melhor desempenho agronômico em pelo menos duas avaliações realizadas foram o CPAC-02, CPAC-03, CPAC-09, CPAC-10, CPAC-16 e CPAC-18. Com base nessa seleção esses genótipos seguirão no programa de melhoramento genético a fim de buscar o desenvolvimento de novas populações com genótipos superiores para obtenção de cultivares melhoradas e adaptadas às condições do Cerrado e com características que atendam à demanda industrial, como rendimento da parte aérea, especialmente o rendimento de folhas.

1.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BLACKMAN, V. H. The compound interest law and plant growth. **Annals of Botany**, v. 33, p. 353-360, 1919.
- BONDAREV, N. I.; SUKHAMOVA, M. A.; RESHETNYAK, O. V.; NOSOV, A. M. 2003. Steviol glycoside content in different organs of *Stevia rebaudiana* and its dynamics through ontogeny. **Biology Plant**, v. 47, p. 261 -264
- BORÉM, A. **Melhoramento de Plantas**. 2.ed. Viçosa: Editora UFV, 1998. 453p.
- BRANDLE, J. E.; ROSA, N. Heritability for yield, leaf: stem ratio and stevioside content estimated from a landrace cultivar of *Stevia rebaudiana*. **Canadian Journal of Plant Science**. v.72, p.1263-1266, 1992.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Requisitos mínimos para determinação do valor de cultivo e uso de feijão para inscrição no registro nacional de cultivares – RNC. Disponível em: < http://www.cisoja.com.br/downloads/legislacao/anexo_PT_294_4.pdf. Acesso em: 14 abril de 2023.
- BRIGGS, G. E.; KIDD, F. A.; WEST, C. A quantitative analysis of plant growth. **Annals of applied Biology**, v. 7, p. 202-223, 1920.
- CARRERA-LANESTOSA, A.; MOGUEL-ORDÓÑEZ, Y.; SEGURA-CAMPOS, M. (2017). *Stevia rebaudiana* Bertoni: a natural alternative for treating diseases associated with metabolic syndrome. **Journal of Medicinal Food**, v. 20, n. 10, p. 933–943.
- CASTRO, F. C.; FALEIRO, F. G.; OLIVEIRA, J. S.; AMABILE, R. F.; MELO, J. V. P. Selection of stevia elite genotypes aiming at the development of cultivars adapted to the Brazilian Savanna. **Revista colombiana de ciencias hortícolas**, v. 16, n. 3, e14727, 2022.
- COSTA, F. M.; OLIVEIRA, J. M.; GUIMARÃES, E. C.; TAVARES, M. Classificação do coeficiente de variação da umidade do solo em experimentação agrícola. **Revista Científica Eletrônica da Faculdade de Matemática – FAMAT** [online], 2008.
- COSTA, N. H. A. D.; SERAPHIN, J. C.; ZIMMERMANN, F. J. P. Novo método de classificação de coeficientes de variação para a cultura do arroz de terras altas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 3, p. 243-249, mar. 2002.
- COSTA, R.B. Métodos de seleção, interação genótipo x ambiente e ganho genético para o melhoramento de seringueira no Estado de São Paulo. 1999. 145f. **Tese** (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1999.
- CRUZ, C. D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013.
- FALCONER, D. S. **Introdução á genética quantitativa**. Viçosa MG: UFV,1981.

279p.

FALCONER, D. S.; MACKAY, T.F.C. Introduction to quantitative genetics. 4.ed. London: Longman Green, 1996. 464p.

FALEIRO, F. G.; ARAÚJO, I. S.; BAHIA, R. C. S.; SANTOS, R.F.; YAMADA, M. M.; ANHERT, D. Otimização da extração e amplificação de DNA de *Theobroma cacao* L. visando obtenção de marcadores. **RAPD. Agrorópica**, Ilhéus, v. 14, p. 31-34, 2002.

FEHR, W. R. **Principles of cultivar development**. New York: Macmillan Publishing Company, 1987. 536p.

FERNANDES, J. S. C.; RESENDE, M. D. V.; STURION, J. A.; MACCARI Jr., A. Estudo comparativo de delineamentos experimentais para estimativas de parâmetros genéticos em erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St. – Hil.). **Revista Árvore**, Viçosa, v.28, n.5, p.663- 671, 2004.

FERRÃO, R. G.; CRUZ, C. D.; FERREIRA, A.; CECON, P. R.; MARIA AMÉLIA GAVA FERRÃO, M. A. G.; FONSECA, A. F. A.; CARNEIRO, P. C. S.; SILVA, M. F. Parâmetros genéticos em café Conilon. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.43, n.1, p.61-69, 2008.

FILHO CARGNELUTTI, A.; STORCK, L. Estatísticas de avaliação da precisão experimental em ensaios de cultivares de milho. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 42, n. 1, p. 17-24, jan. 2007.

GARCIA, C. H. Tabelas para classificação do coeficiente de variação. Piracicaba: IPEF, 1989. 12 p. (IPEF. **Circular técnica**, 171).

GOMES, F. P. **Curso de estatística experimental**. São Paulo: Nobel, 1985. 467 p.

HIGA, A. R.; RESENDE, M. D. V.; KODAMA, A. S.; LAVORANTI, O. J. Programa de melhoramento de eucalipto na Embrapa, *In*: Iufro Conference on sulciculture and improvement of eucalyptus, 1997, Salvador, **Proceedings**, Colombo: EMBRAPA-CNPF, 1997, v.1, p.377-385.

HOSSAIN, F.; ISLAM, M. T.; ISLAM, M. A.; AKHTA, S. (2017). Cultivation and uses of stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni): A review. **African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development**, v.17, n. 4, p. 12745–12757.

HUNT, R. **Plant growth analysis**. London, Edward Arnold, 1978. 69 p.

JUDICE, M. G.; MUNIZ, J. A.; AQUINO, L. H.; BEARZOTI, E. Avaliação da precisão experimental em ensaios com bovinos de corte. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras: UFLA, v. 26, n. 5, p. 1035-1040, set./out. 2002.

KOBUS-MORYSON, M.; GRAMZA-MICHAŁOWSKA, A. (2015). Directions on the use of stevia leaves (*Stevia rebaudiana*) as an additive food products. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 14(1), 5–13.

KOVAČEVIĆ, D. B.; MARAS, M.; BARBA, F. J.; GRANATO, D.; ROOHINEJAD, S.; MALLIKARJUNAN, K.; PUTNIK, P. (2018). Innovative technologies for the recovery of phytochemicals from *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves: A review. **Food Chemistry**, v. 268, p. 513–521.

LEMUS-MONDACA, R.; VEGA-GÁLVEZ, A.; ZURA-BRAVO, L.; AH-HEN, K. (2012). *Stevia rebaudiana* Bertoni, source of a high-potency natural sweetener: A comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. **Food Chemistry**, v. 132, n. 3, p. 1121–1132.

LOPES, S. M. S.; FRANCISCO, M. G.; HIGASHI, B.; DE ALMEIDA, R. T. R.; KRAUSOVÁ, G.; PILAU, E. J.; DE OLIVEIRA, A. J. B. (2016). Chemical characterization and prebiotic activity of fructo-oligosaccharides from *Stevia rebaudiana* (Bertoni) roots and in vitro adventitious root cultures. **Carbohydrate Polymers**, v. 152, p. 718–725.

MARCINEK, K.; KREJPCIO, Z. *Stevia rebaudiana* Bertoni: health promoting properties and therapeutic applications. **Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit**, v. 11, v. 1, p. 3–8, 2015.

NGUYEN, T. T. H.; SEO, C.; KWAK, S.; KIM, J.; KANG, H.; KIM, S.; KIM, D. (2018). Enzymatic production of steviol glucosides using β -glucosidase and their applications. **Enzymes in food Biotechnology**. Elsevier, 405–418.

OLIVEIRA, F. D. Limites de confiança para variáveis em análises de sementes de espécies florestais. 2008. 70f. **Dissertação** (Mestrado em Engenharia Florestal)-Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul.

PAL, P. K.; PRASAD, R.; PATHANIA, V. Effect of decapitation and nutrient applications on shoot branching, yield, and accumulation of secondary metabolites in leaves of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Journal of Plant Physiology*, v. 170, n. 17, p. 1526–1535, 2013.

PESEK, J.; BAKER, R. J. Comparison of predicted and observed responses to selection for yield in wheat. **Canadian Journal of Plant Sciences**, Ottawa, v.51, n.3, p.187-192, 1971.

RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B.; SANTOS, J. B.; NUNES, J. A. R.; **Aplicações de genética quantitativa no melhoramento de plantas autógamas**. Lavras: Ed. UFLA, 2012, 522p.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; ZIMMERMANN, M. J. O. **Genética quantitativa em plantas autógamas: aplicações ao melhoramento do feijoeiro**. Editora UFG, Goiânia, 1993. 271p.

RESENDE, M. D. V. Correções nas expressões do progresso genético com seleção em função da amostragem finita dentro de famílias de populações e implicações no melhoramento florestal. **Boletim Pesquisa Florestal**, Colombo, n.22/23, p.61-77, 1991

RESENDE, M. D. V. **Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas**

perenes. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2002. 975 p.

RESENDE, M. D. V.; DUARTE, J. B. Precisão e controle de qualidade em experimentos de avaliação de cultivares. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 37, n. 3, p. 182-194, 2007.

REZENDE, T. T.; BALIZA, D. P.; OLIVEIRA, D. H.; CARVALHO, S. P.; ÁVILA, F. W.; PASSOS, A. M. A.; GUIMARÃES, R. J. Types of stem cuttings and environments on the growth of coffee stem shoots. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 11, n. 5, p. 387-391, 2010.

REZENDE, T. T.; CARVALHO, S. P.; BUENO FILHO, J. S. S.; HONDA FILHO, C. P.; SIMÕES, L. C.; PAULINO, R. N. L.; OLIVEIRA, L. L.; NASCIMENTO, T. L. C. Propagação vegetativa do cafeeiro (*Coffea arabica* L.) por miniestacas. **Coffee Science**, Lavras, v. 12, n. 1, p. 91 – 99, 2017.

ROCHA, M. R. Parâmetros genéticos, métodos de condução de população segregante e estratégias de seleção de genótipos de soja. 2018. 138f. **Tese** (Doutorado em fitotecnia) –Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Uberlândia.

ROJAS, E.; BERMUDEZ, V.; MOTLAGHZADEH, Y.; MATHEW, J.; FIDILIO, E.; FARIA, J.; KUZMAR, I. (2018). *Stevia rebaudiana* Bertoni and its effects in human disease: emphasizing its role in inflammation, atherosclerosis and metabolic syndrome. **Current Nutrition Reports**, v. 7, n. 3, p. 161–170.

RUFINO, E. R. Genetics parameters estimative and new clone selection linalol in *Lippia alba*. 2008. 38f. **Dissertação** (Mestrado em Genética, Melhoramento Vegetal e Biotecnologia) – Pós-Graduação – IAC.

RUIZ-RUIZ, J. C.; MOGUEL-ORDOÑEZ, Y. B.; MATUS-BASTO, A. J.; SEGURA-CAMPOS, M. R. (2015b). Nutritional, amyolytic enzymes inhibition and antioxidant properties of bread incorporated with *Stevia rebaudiana*. **International Journal of Food Sciences & Nutrition**, v. 66, n. 6, p. 649–656.

RUIZ-RUIZ, J. C.; MOGUEL-ORDONEZ, Y. B.; SEGURA-CAMPOS, M. R. (2015a). Biological activity of *Stevia rebaudiana* Bertoni and their relationship to health. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, n. 12, p. 2680–2690.

SEBBENN, A. M.; SIQUEIRA, A. C. M. F.; KAGEYAMA, P. Y.; MACHADO, J. A. R. Parâmetros genéticos na conservação da cabreúva – *Myroxylon peruiferum* L.F. Allemão. **Scientia Forestalis**, n. 53, p. 31-38, 1998.

SEKARAN, T.; GIRIDHAR, P.; RAVISHANKAR, G. A. Production of steviosides in *ex vitro* and *in vitro* grown *Stevia rebaudiana* Bertoni. **Journal Science Food Agriculture**, v. 87, p. 420 -424, 2007.

SHIVANNA, N.; NAIKA, M.; KHANUM, F.; KAUL, V. K. (2013). Antioxidant, anti-diabetic and renal protective properties of *Stevia rebaudiana*. **Journal of Diabetes and Its Complications**, v. 27, n. 2, p. 103–113.

SPEHAR, C. R.; FRANCISCO, E. R.; PEREIRA, E. A. Yield stability of soybean cultivars in crop seasons and sowing dates at low latitude Brazilian Savannah Highlands. **Journal of Agricultural Science**, v.153, n.6, p.1059-1068, 2014.

STEEL, R. G. D.; TORRIE, J. H.; DICKEY, D. A. **Principles and procedures of statistics: a biometrical approach**. New York: McGraw-Hill, 1997. 666 p.

**CAPÍTULO 2. PARÂMETROS GENÉTICOS, CARACTERIZAÇÃO E
SELEÇÃO DE GENÓTIPOS SUPERIORES DE ESTÉVIA COM BASE NA
PRODUÇÃO DE COMPOSTO REBAUDIOSÍDEO-A**

PARÂMETROS GENÉTICOS, CARACTERIZAÇÃO E SELEÇÃO DE GENÓTIPOS SUPERIORES DE ESTÉVIA COM BASE NA PRODUÇÃO DE COMPOSTO REBAUDIOSÍDEO-A.

Resumo: A planta de estévia apresenta propriedades adoçantes naturais que vem despertando o interesse das pessoas em todo o mundo. Em vista da grande importância dessa planta, objetivou-se estimar parâmetros genéticos, caracterizar e selecionar genótipos superiores de estévia com base na produção de composto rebaudiosídeo-A. Para tanto, foram avaliados nove genótipos superiores selecionados (oriundos do programa de melhoramento de estévia da Embrapa Cerrados) para o cultivo na região do Cerrado. As plantas foram cultivadas na área experimental da Embrapa Cerrados em Planaltina no Distrito Federal. As plantas oriundas de propagação vegetativa foram levadas para o campo em janeiro de 2021 e foram mantidas com cortes periódicos para avaliação e manutenção. Foram avaliadas as características produção de Composto rebaudiosídeo-A e Total glicosídeos de esteviol (TSG) na fitomassa seca de folhas. Após a obtenção dos dados, esses foram submetidos a análise de variância e médias foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro. Houve efeito altamente significativo dos genótipos para as características avaliadas, indicando que os nove genótipos superiores de estévia estudados diferem entre si quanto os teores desses componentes químicos. Os genótipos superiores de *S. rebaudiana* quanto as características nível de composto rebaudiosídeo-A e TSG (%) apresentaram altos valores de herdabilidade. O genótipo cinco (CPAC 10) é o genótipo mais promissor quanto a produção de Composto rebaudiosídeo-A sendo selecionado para dar origem a novas populações para o programa de melhoramento genético da estévia conduzido na Embrapa Cerrados.

Palavras-chave: Melhoramento genético, produção no Cerrado, edulcorante, *Stevia rebaudiana*, qualidade industrial.

GENETIC PARAMETERS, CHARACTERIZATION AND SELECTION OF SUPERIOR STEVIA GENOTYPES BASED ON REBAUDIOSIDE-A PRODUCTION

Abstract: The stevia plant has natural sweetening properties that have aroused the interest of people around the world. In view of the great importance of this plant, the objective was to estimate genetic parameters, and characterize and select superior stevia genotypes based on the production of rebaudioside-A. For this purpose, nine superior genotypes selected for cultivation in the Cerrado region. The plants were cultivated in the experimental area of Embrapa Cerrados in Planaltina in the Federal District. Plants from vegetative propagation were taken to the field in January 2021 and kept in the field with periodic cuts for evaluation and maintenance. The characteristics production of Rebaudioside-A and Total Steviol Glucoside (TSG) were evaluated. The data evaluated by analyses of variance and means were compared using the Tukey test at a 5% probability of error. There was a highly significant effect of the genotypes for the characteristics evaluated, indicating that the nine superior stevia genotypes studied differ among themselves in terms of the contents of these chemical components. The superior genotypes of *S. rebaudiana* regarding the production of rebaudioside-A and TSG (%) showed high heritability values. Genotype five (CPAC 10) is the most promising genotype in terms of Rebaudioside-A production being selected to give rise to new populations for the stevia genetic improvement program conducted at Embrapa Cerrados.

Key words: Genetic improvement, production in the Cerrado, rebaudioside, sweetener, *Stevia rebaudiana*, industrial quality.

2.1 INTRODUÇÃO

A espécie *Stevia rebaudiana* Bertoni. é originária do Paraguai, podendo ser encontrada na Argentina, sul dos Estados Unidos, México, América Central e Brasil (KINGHORN, 2002). A *S. rebaudiana* é uma espécie vegetal herbácea pertencente ao gênero *Stevia* e a família botânica Asteraceae. Pela doçura de suas folhas, é também conhecida como folha de mel, folha de doce ou erva de folha de doce. De acordo com García et al. (2017), é uma planta de reprodução sexual cruzada tipo alógama. As flores possuem autoincompatibilidade e necessitam de polinização entomófila para formação de frutos. A dispersão das sementes se dá pelo vento (GOETTEMÖLLER e CHING, 1999). Os poucos produtores que vem utilizando a estévia em plantios comerciais tem utilizado as mudas multiplicadas por meio de suas sementes.

A estévia é usada regularmente no preparo de alimentos e produtos farmacêuticos em países como China, Coreia e Japão. Técnicas de extração e refinamento dos edulcorantes presentes na estévia foram desenvolvidas por pesquisadores japoneses partir da década de 1970, resultando em um aumento no seu consumo neste país, desde então. Há cerca de 15 anos, o Japão já demandava cerca de 200 toneladas por ano de folhas secas de estévia (RAJASEKARAN et al., 2007). As principais áreas produtivas de estévia se encontram no Norte da China e Sul da Ásia (TAVARINI e ANGELINI, 2013).

Nos tempos atuais, pesquisas a respeito de adoçantes têm se tornado cada dia mais frequentes, fato esse comprovado pelos numerosos produtos dietéticos oferecidos no mercado. A busca por esses produtos não-calóricos está relacionada com o estilo de vida mais sedentário da maioria das pessoas e a ausência de atividades físicas.

Ainda no século XX, Dufty fez um estudo e demonstrou os possíveis efeitos maléficos do excesso do açúcar na saúde, deixando claro o crescimento do diabetes, obesidade e outras doenças na mesma proporção que foi aumentando o consumo do açúcar (STEWART, 1998).

O aumento do consumo de açúcar já foi relacionado a vários problemas de saúde, como o desgaste do esmalte dentário, obesidade, diabetes, entre outros problemas. A produção de alimentos processados que tem alto teor de açúcar como biscoito, refrigerante, balas e chocolate vêm crescendo ao longo dos anos. Apesar dos estudos evidenciarem que há um descontrole no consumo de açúcar, o estilo de vida da maioria dos adolescentes é marcado por alimentos ultra processados que vêm causando efeitos danosos à saúde, o alto consumo de açúcar está sobrecarregando as células

pancreáticas causando uma concentração sanguínea de glicose resultando em diabetes mellitus tipo 2 (LYRA et al., 2016).

O grande interesse das pessoas por produtos naturalmente de baixa caloria possibilitou que a planta de estévia fosse difundida mundialmente, e nos últimos anos vem sendo consumida e aprovada em muitos países, entre eles Japão, Brasil, Colômbia, China e Paraguai. Os edulcorantes presentes na estévia são classificados como glicosídeos diterpênicos, sendo o esteviosídeo, rebaudiosídeo A e rebaudiosídeo C os compostos encontrados em maior concentração nas folhas (CEUNEN e GEUNS, 2011; ANGELINI et al., 2013; TAVARINI e ANGELINI, 2013).

No ano de 2011, o consumo da planta de estévia como edulcorante foi aprovado pela União Européia. Essa aprovação só aumentou a demanda por estévia, gerando dessa forma um mercado com alto potencial de produção e consumo (BARBET-MASSIN et al., 2013). Os glicosídeos extraídos das folhas de estévia podem ser adicionados em cafés, chás, bolos, biscoitos e comidas processadas, além de serem também utilizados na produção de pasta de dentes e enxaguantes bucais (AHMED et al., 2007).

Por esses motivos, a indústria alimentícia tem procurado desenvolver, ao longo dos últimos anos, agentes edulcorantes oriundos de fontes naturais que contenham as propriedades e características capazes de adoçar alimentos (GONZÁLEZ et al., 2014). Com base nessa demanda da sociedade e consequentemente da indústria, os programas de melhoramento genético tem buscado desenvolver cultivares para serem disponibilizadas para a sociedade visando a atender essa demanda. A estévia é uma planta versátil, pois vem sendo cultivada em vários países com diferentes condições meteorológicas com resultados positivos e crescentes de produtividade (OROZCO, 2008; TAVARINI e ANGELINI, 2013; SERFATY et al, 2013).

O melhoramento genético é o ajustamento genético aos componentes físicos, químicos, biológicos, econômicos e sociais do ambiente, o que implica uma atividade dinâmica, exigindo ajustes para se adaptar ao ambiente, que é dinâmico em função dos diferentes fatores que o compõem (MIRANDA FILHO, 1994). Nesse sentido, a Embrapa Cerrados vem trabalhando no melhoramento genético da *Stevia rebaudiana* visando a adaptação da espécie para o Cerrado central. O trabalho do grupo de pesquisa busca alcançar genótipos produtivos, quanto a produção de fitomassa de parte aérea, bem adaptados e que apresentem elevada produção de rebaudiosídeo-A.

Para obtenção de genótipos melhorados é necessário à caracterização e posterior seleção com base nos atributos desejados em cada espécie vegetal. As atividades de caracterização são fundamentais para que a variabilidade genética conservada seja utilizada e aproveitada de forma prática nos programas de melhoramento genético. Diferentes grupos de características são utilizados na caracterização de acessos conservados em bancos de germoplasma, destacando-se as características ecológicas, morfológicas, agronômicas e moleculares (FALEIRO e JUNQUEIRA, 2011). Em vista do exposto, objetivou-se estimar parâmetros genéticos, caracterizar e selecionar genótipos superiores de estévia com base na produção de composto rebaudiosídeo-A.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliados nove genótipos de *Stevia rebaudiana* Bertoni, selecionados (ao longo das etapas no programa de melhoramento de estévia da Embrapa Cerrados) para a produção na região do Cerrado do Planalto Central. As plantas foram cultivadas na área experimental da Embrapa Cerrados em Planaltina no Distrito Federal. De acordo com a classificação de Köppen, o município de Planaltina-DF, apresenta uma altitude de 1.007 m., com coordenadas geográficas 15° 35' 30'' de latitude Sul e 47° 42'00'' de longitude a Oeste de Greenwich. Apresentando clima segundo a classificação de Köppen AW Tropical estacional de savana megatérmico com temperatura média do mês mais frio acima de 18,0° C. Tem precipitação média anual de 1.400 mm concentrada no período de outubro a março. O período seco varia de 5 a 6 meses (abril a setembro) as médias de temperatura máxima e mínima são de 26,4° C e 15,9° C, respectivamente. Possui declividade de 0 a 5%. Predominam os solos Latossolo Vermelho Escuro e Latossolo Vermelho Amarelo, que juntos representam 84% da área.

Para implantação do experimento, as plantas oriundas de propagação vegetativa foram levadas para o campo em janeiro de 2021 e foram mantidas com cortes periódicos para avaliação e manutenção. Todos os cortes foram realizados a 5 cm do nível do solo. Um total de 25 genótipos superiores de estévia foram cultivados em campo no Delineamento Experimento de Blocos Casualizados com quatro repetições, sendo três plantas para compor cada parcela experimental. Desse total de genótipos superiores (25) foi realizada uma seleção prévia (CASTRO et al., 2022) e foi realizada a análise química de nove genótipos superiores de *S. rebaudiana*.

Material vegetal

Foram enviadas folhas secas dos nove genótipos para avaliação do rendimento de rebaudiosídeo A em porcentagem e TSG (Total Glicosídeos de Esteviol) em porcentagem/peso. Para compor cada amostra dos nove genótipos avaliados, coletou-se em campo a parte aérea dos mesmos em cada um dos quatro blocos de forma individual.

As folhas enviadas para análise foram previamente secas em estufa de ventilação forçada por 72 horas a uma temperatura de 60 °C e acondicionadas em sacos de papel.

Determinação de reb por HPLC-UV

Procedimento

Para preparação dos reagentes e eluentes usou-se o formulário de preparação de eluente para determinação de TSG por HPLC-UV da Stevia Soul[®] (método REBM, LabX-Light, 2018).

Solução estoque de Tampão Fosfato (Tampão)

Para a preparação da solução estoque de Tampão Fosfato (Tampão) procedeu-se da seguinte forma: Em uma garrafa de vidro de 2 L, adicionou-se 1 L de água Milli-Q, com auxílio de uma proveta graduada; pesou-se em um béquer, em balança analítica, 1,38 g de dihidrogenofosfato de monohidrato de sódio; transferiu-se cuidadosamente o reagente para o frasco de 2 L; encheu-se um tubo de ensaio com 1 L de água Milli-Q; lavou-se o béquer com pequenos volumes da água contida no tubo de ensaio e transferir as lavagens para o balão de 2 L, até que não haja mais reagente no béquer; guardou-se o restante de 1 L de água no cilindro graduado; adicionou-se ao frasco de 2 L, 0,68 mL de ácido fosfórico, com auxílio de uma micropipeta; adicionou-se o restante da água contida no cilindro graduado à garrafa de 2 L; homogeneizou-se a solução formada com auxílio de barra magnética e agitador; filtrou-se a solução tampão com um sistema de filtração isento de óleo, usando uma membrana de filtração de 0,45 mm.

Solução Solvente Água/Acetonitrila (70:30)

Para a preparação da solução Solvente Água/Acetonitrila (70:30). Utilizando um cilindro graduado, mediu-se 600 mL de acetonitrila; transferiu-se o acetonitrilo para um frasco de vidro de 2 L; em outro cilindro graduado, mediu-se 1400 mL de Água Milli-Q; transferiu-se a água para a garrafa de 2 L; homogeneizou-se a solução formada com auxílio de barra magnética e agitador.

Preparação da Fase Móvel A

Para preparação da Fase móvel A: 25% de acetonitrila e 75% de tampão; desconectou-se o frasco identificado como “A” do equipamento; em um cilindro graduado, mediu-se 250 mL de acetonitrila; transferiu-se para a garrafa A do equipamento; em outro cilindro graduado, mediu-se 750 mL de Buffer; transferiu-se para a garrafa A do equipamento; homogeneizou-se a solução no frasco, com tampa; retirou-se a tampa da garrafa, envolvendo-se sua boca com filme plástico e fez um orifício nela; colocou-se o frasco em ultrassom por 15 minutos; reconectou-se a garrafa ao equipamento.

Preparação da Fase Móvel B

Para preparação da Fase móvel B: 32% de acetonitrila e 68% de tampão, primeiramente, desconectou-se o frasco identificado como “B” do equipamento; em um cilindro graduado, mediu-se 320 mL de acetonitrila; transferiu-se para a garrafa B do equipamento; em outro cilindro graduado, mediu-se 680 mL de Buffer; transferiu-se para a garrafa B do equipamento; homogeneizou-se a solução no frasco, com tampa; retirou-se a tampa da garrafa, envolva sua boca com filme plástico e fez um orifício nela; colocou-se o frasco em ultrassom por 15 minutos; reconectou-se a garrafa ao equipamento.

Preparação da Fase Móvel C

Para preparação da Fase Móvel C: 100% Acetonitrila, primeiro passo foi desconectar o frasco identificado como “C” do equipamento; encheu-se a garrafa com acetonitrila; enrolou-se a boca da garrafa com filme plástico e fazendo-se um pequeno furo no mesmo; colocou-se o frasco em ultrassom por 15 minutos; reconectou-se a garrafa ao equipamento.

Preparação da Fase Móvel D

Para preparação da Fase Móvel D: 100% Água, desconectou-se o frasco identificado como “D” do equipamento; encheu-se a garrafa com água Milli-Q; enrolou-se a boca da garrafa com filme plástico e fez-se um orifício no mesmo; colocou-se o frasco em ultrassom por 15 minutos; reconectou-se a garrafa ao equipamento.

Solução de lavagem de seringa

Para preparação da Solução de lavagem de seringa, em um cilindro graduado, mediu-se 320 mL de acetonitrila; transferiu-se o acetonitrilo para um frasco de vidro de 1 ou 2 L; em um segundo tubo de ensaio, mediu-se 680 mL de água Milli-Q; transferiu-se a água para o mesmo frasco de vidro contendo o acetonitrila; agitou-se a solução para homogeneizá-la; cobriu-se a boca do frasco de vidro com filme plástico e fez-se um orifício, o suficiente para a passagem da tubulação de lavagem das seringas do equipamento; inseriu-se o tubo de lavagem da seringa na solução com filme plástico.

Solução de lavagem da bomba

Para preparação da Solução de lavagem da bomba, em um cilindro graduado, mediu-se 300 mL de isopropanol; transferiu-se o isopropanol para um frasco de vidro de 1 ou 2 L; em um segundo cilindro graduado, mediu-se 700 mL de água Milli-Q; transferiu-se a água para a mesma garrafa de vidro contendo isopropanol; agitou-se a solução para homogeneizá-la; cobriu-se a boca da garrafa de vidro com filme plástico, e fez-se um orifício nela, o suficiente para a passagem do tubo de lavagem da bomba do equipamento; inseriu-se o tubo de lavagem da bomba na solução com filme plástico.

Para preparação das amostras líquidas e em pó:

Preparação de amostras líquidas

Identificou-se dois tubos cônicos de centrífuga de 15 mL como as duas réplicas de uma amostra; pesou-se os tubos cônicos vazios, registrou-se suas massas; homogeneizou-se a amostra em agitador magnético por 10 minutos ou manualmente, dependendo das características da amostra; adicionou-se cerca de 1 mL ou g de amostra homogeneizada a cada tubo cônico de centrífuga; pesar os tubos novamente; registrou-se suas massas; adicionou-se a cada tubo, com uma micropipeta, 5 mL do solvente Água/Acetonitrila (70:30); pesou-se os tubos novamente; registrou-se suas massas; passou-se no vortex as soluções do tubo por aproximadamente 20 segundos; centrifugou-se as soluções contidas nos tubos por 5 minutos a 14000 rpm; transferiu-se cerca de 1 mL do sobrenadante para frascos de 2 mL, devidamente identificados com as repetições que representar; manteve-se os frascos no frigorífico até à análise.

Preparação de amostras em pó

Em uma placa de petri (ou outro recipiente similar), adicionou-se cerca de 0,6 a 0,8 g de amostra e espalhe bem (quanto maior a superfície de contato da amostra espalhada, melhor); manteve-se a placa contendo a amostra aberta e exposta ao ambiente por pelo menos 60 minutos, para balanceá-la com as condições ambientais; usou-se a amostra balanceada para realizar os procedimentos: (análise do teor de água da amostra, conforme a Análise de Água; identificou-se três frascos de 125 ou 150 mL como réplicas de uma amostra; pesou-se os frascos vazios com tampas, registrou-se suas massas; homogeneizou-se a amostra de pó a ser preparada, agitando com as mãos o frasco que contém, sem esmagá-lo; adicionou-se aproximadamente 100 mg de amostra a cada frasco; pesou-se novamente os frascos com tampa e registrou-se suas massas; utilizando balões volumétricos de 100 mL, adicionou-se 100 mL de solvente água/acetonitrila (70:30) a cada frasco; pesou-se os frascos novamente e registrou-se suas massas; colocou-se os frascos com amostra e solvente em banho ultrassônico por aproximadamente 30 minutos, mexendo-os em movimentos circulares de vez em quando, para que o sólido se dissolva no solvente; agitou-se vigorosamente as soluções nos frascos, após a dissolução de todo o sólido nelas contido; transferiu-se pelo menos 1 mL da solução amostral dos frascos para frascos de 2 mL; conservou-se os frascos em geladeira até o momento de sua análise;

Análise de água

O local de análise deve estar livre de umidade; portanto, um desumidificador foi usado durante o Karl.

Preparou-se o titulador Karl Fischer, adicionando aproximadamente 100 mL de solvente de titulação Hydranal em o copo de titulação no equipamento, e aguardando para estabilização o mesmo (deriva menor que 25); agitou-se um frasco de padrão 0,1% e quebre sua tampa; com o auxílio de uma seringa com agulha acoplada, drenou-se cerca de 2 mL do padrão; registrou-se o resultado padrão (ppm) em seu respectivo gráfico de controle.

Adicionou-se 1000 µL de metanol a um frasco de 2 mL, usando uma micropipeta de 1 mL e ponta; tampou-se o frasco e agite-o em um agitador vórtex por 60 segundos; preparou-se o titulador Karl Fischer com o método de aquisição e registrou-se o resultado da água em branco em %;

Análise de Amostras/Padrões

Para o padrão RebA e amostras, não há necessidade de equilibrá-los previamente para análise da água; identificou-se 3 frascos de 2 mL com a identificação da amostra/padrão, para que o procedimento seja realizado em triplicata, e realizar o procedimento abaixo; adicionou-se 10 a 15 mg de amostra/padrão ao frasco; registrou-se a amostra pesada/massa padrão, em gramas; tampou-se o frasco e coloque alcatrão novamente; adicionou-se 1000 µL de metanol ao frasco; pesou-se novamente o frasco e anotou-se a massa pesada de metanol, em gramas; agitou-se a solução em um agitador de vórtice por 60 segundos; deixou-se a solução descansar por 15 minutos.

Preparou-se o titulador Karl Fischer, que já deve ter o método que foi executado em branco. Quando o equipamento habilitar o início da análise da amostra, a análise pode ser iniciada e registrou-se o resultado da água na solução da amostra em %.

Análise dos dados

Após a obtenção dos dados, esses foram submetidos a análise de variância (ANOVA). A variável resposta nível de rebaudiosídeo-A foi transformada para $\ln [Y' = \ln (Y)]$. Em seguida, as medias dos tratamentos foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro. Todas as análises estatísticas dos dados foram realizadas utilizando o programa Genes (CRUZ, 2013).

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observa-se pelo resumo da análise de variância que houve efeito altamente significativo para as variáveis analisadas, porcentagem de composto rebaudiosídeo-A e Total Glicosídeos de Esteviol (TSG) (Tabela 1). Esses resultados indicam que os nove genótipos superiores de *S. rebaudiana* estudados apresentam diferenças entre si quanto a produção desses compostos. Essas diferenças observadas entre os genótipos superiores de estévia, provavelmente, se deve a diferenças genéticas entre os acessos. Esses resultados demonstram a diversidade genética existente na população, o que ainda torna favorável o processo de seleção das plantas.

Os compostos, presentes em plantas de estévia, possuem propriedades químicas relevantes para a indústria alimentícia (UDDIN et al., 2006) e o que justifica a preocupação crescente dos melhoristas em direcionar a seleção de genótipos superiores de estévia cada vez mais produtivos em relação a esses componentes químicos, visando a atender esse mercado industrial em expansão. A crescente demanda mundial por

adoçantes de baixa caloria oriundos de fontes naturais tem estimulado cada vez mais a procura pelos glicosídeos de esteviol (SERFATY et al., 2013).

Tabela 1. Resumo da análise de variância das características do composto rebaudiosídeo (Reb-A) e Total Glicosídeos de Esteviol (TSG % peso) de nove genótipos selecionados de *Stevia rebaudiana* Bertoni. Planaltina, DF, 2023.

FV	GL	Reb (A) %	TSG (% peso)
Blocos	3	65,81	3,59
Tratamentos	8	553,68**	10,68**
Resíduo	24	9,27	1,28
Média Geral		40,02	7,35
CV%		7,61	15,42
Mínimo		24,39	3,95
Máximo		68,06	11,78
DMS-Tukey(5%)		7,32	2,73
DMS-Tukey(1%)		8,85	3,29
CVg(%)		29,15	20,85
CVg/CVe		3,83	1,35
S ² genética		136,10	2,34
S ² ambiental		9,27	1,28
h ² (%)		98,32	87,96

Legenda: ** e * significativo a 1 e 5% de probabilidade de erro pelo teste F de Fischer, respectivamente; FV – Fonte de variação; QM – Quadrado médio; GL – Graus de liberdade; CV – Coeficiente de variação; DMS – Diferença Mínima Significativa; CVg – Coeficiente de variação genético; CVg/CVe – Relação entre o coeficiente de variação genético e o coeficiente de variação ambiental; S² - variância genética; S² - Variância ambiental; h² (%) – Coeficiente de determinação genético ou herdabilidade.

O coeficiente de variação (CV%) apresentado pela variável Composto rebaudiosídeo-A foi de 7,61% e o TSG obteve CV de 15,42%. As duas variáveis analisadas apresentaram CV (%) abaixo de 20%. Esses valores são considerados ótimos e bons (GOMES, 2000), sendo indicativos de uma precisão experimental variando de ótima a regular, segundo Ferreira (1991).

O coeficiente de variação genético (CVg%) foi de 29,15 para o composto rebaudiosídeo-A e de 20,85 para o TSG (%). Para a variável porcentagem de composto rebaudiosídeo-A foi observado um maior valor de CVg. Essa maior magnitude de valor indica que os genótipos de estévia avaliados são mais heterogêneos para essa característica, resultando assim em uma maior possibilidade de selecionar materiais genéticos superiores (FERRÃO et al., 2008). Após a seleção, esses genótipos superiores podem ser encaminhados para novos ciclos de seleção ou ainda direcionados para a utilização como genitores no programa de melhoramento visando a alcançar genótipos com elevados níveis de composto rebaudiosídeo-A.

A relação coeficiente de variação genético/coeficiente de variação ambiental (CVg/CVe) foi de 3,83 para o composto rebaudiosídeo-A e 1,35 para o TSG (%). Para

as características estudadas, composto rebaudiosídeo-A e TSG (%), a relação CVg/CVe foi superior a um (1). Esses resultados indicam uma maior importância ou maior efeito dos componentes genéticos em relação aos componentes ambientais, sendo favoráveis as condições de seleção no melhoramento genético, uma vez que a variância genética foi maior que a variância ambiental.

A herdabilidade foi de 98,32 para a característica composto rebaudiosídeo-A e de 87,96 para TSG (%). Os altos valores de herdabilidade (h^2) observados no presente estudo indicam uma alta acurácia na avaliação das características e que as variações fenotípicas observadas entre os genótipos possuem origem genética. Esses resultados reforçam a possibilidade de seleção e obtenção de ganhos genéticos nos genótipos promissores na população avaliada.

As características avaliadas no presente estudo, porcentagem de composto rebaudiosídeo-A e TSG (%) apresentaram uma alta herdabilidade. Quanto maior a herdabilidade de uma determinada característica maior será a chance de sucesso e obtenção de ganhos genéticos com a seleção dos genótipos selecionados. Sendo assim, os resultados encontrados no presente estudo indicam que a seleção de genótipos superiores de *S. rebaudiana* pode ser efetiva utilizando métodos simples de melhoramento e baseada nas características avaliadas.

Dentre os nove genótipos superiores avaliados quanto ao conteúdo de composto rebaudiosídeo-A e TSG (%), observou-se que o genótipo CPAC-10 foi o que apresentou o maior conteúdo de composto rebaudiosídeo-A (Tabela 2). E quanto o conteúdo de TSG (%), os genótipos CPAC-01, CPAC-10 e CPAC-14 não diferiram entre si na produção desse pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro.

A seleção de genótipos superiores de estévia que apresentem uma boa adaptação as condições produtivas da região do Cerrado e que produzam maiores teores de Composto rebaudiosídeo-A é de extrema importância, pois em média, os glicosídeos de esteviol são 250-300 vezes mais doces do que a sacarose, não calóricos e atualmente estão sendo utilizados como substitutos do açúcar em muitos tipos de alimentos, bebidas e em diversas áreas da indústria alimentícia (AHMAD et al., 2018). Essa demanda por produtos mais naturais tende a crescer no mundo, pois a cada dia as pessoas estão mais preocupadas com a saúde, de modo geral.

Embora no presente estudo só tenha sido realizada a avaliação dos genótipos superiores de *S. rebaudiana* quanto a produção de composto rebaudiosídeo-A e TSG (%), já foi relatado que existem mais de 20 glicosídeos de esteviol identificados, no

entanto, os majoritários presentes nas folhas de estévia são os esteviosídeos (5-10%), rebaudiosídeo A (2 a 4%), rebaudiosídeo C (1 a 2%) e dulcosídeo A (0,4 a 0,7%), sendo que essas concentrações se referem à concentração dos glicosídeos em relação às folhas ao natural (FERRAZZANO et al., 2015).

Tabela 2. Valores médios de Composto rebaudiosídeo-A e Total glicosídeos de esteviol (TSG) de nove genótipos superiores de *Stevia rebaudiana* Bertoni. Planaltina, DF, 2022.

Genótipo	Rebaudiosídeo (A) %	TSG (% peso)
CPAC-01	38,90 c	8,06 a
CPAC-02	44,35 b	7,51 b
CPAC-03	29,31 d	6,79 b
CPAC-07	34,55 c	6,62 b
CPAC-10	64,11 a	9,25 a
CPAC-11	47,13 b	4,82 c
CPAC-13	29,55 d	7,23 b
CPAC-14	26,84 d	10,08 a
CPAC-16	45,37 b	5,77 c

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Os genótipos CPAC-03, CPAC-13 e CPAC-14 foram os que produziram as menores quantidades de composto rebaudiosídeo-A em suas folhas. Esses acessos não serão levados para uma próxima geração do programa de melhoramento. Esses serão conservados por meio de propagação vegetativa e mantidos na coleção de germoplasma de *S. rebaudiana* da Embrapa Cerrados, pois poderão ser usados em outros cruzamentos. Os menores valores de TSG (%) foram observados para os genótipos CPAC-11 e CPAC-16.

Os glicosídeos que são isolados das folhas de *S. rebaudiana* possuem o mesmo esqueleto de esteviol e o que irá diferenciá-los é o conteúdo de resíduos de carboidratos mono, di e trissacarídeos contendo ramnose e/ou glicose nos carbonos 13 (C13) e 19 (C19) (KOCHIKYAN et al., 2006).

Os diferentes tipos de glicosídeos possuem propriedades edulcorantes distintas, como exemplo tem-se que o composto rebaudiosídeo-A que contém uma unidade de glicose extra em relação ao esteviosídeo, acarretando um aumento na doçura e

qualidade do sabor e conseqüentemente um produto edulcorante com uma maior qualidade. Já o esteviosídeo, quando puro, apresenta um sabor amargo, porém, é 300 vezes mais doce do que o açúcar (DE OLIVEIRA et al., 2007).

Na seleção de plantas de estévia deve-se considerar a produção da parte aérea em campo, porém, sempre que possível, a realização de uma análise dos componentes químicos da planta deve-se priorizar a seleção de plantas com maior conteúdo de composto rebaudiosídeo-A. Além disso, conforme aumenta-se a quantidade de unidades de açúcares ligadas ao esteviol na estrutura dos rebaudiosídeos, aumenta-se também a doçura do mesmo, todavia, a quantidade destes compostos diminui da mesma maneira no material vegetal da estévia (KOVYLYAEVA et al., 2007).

A seleção de plantas superiores de estévia é uma estratégia do melhoramento genético para obtenção mais rapidamente de cultivares adaptadas as diversas condições de cultivo e com maiores conteúdos de composto rebaudiosídeo-A nas folhas para serem disponibilizadas para a sociedade. Seu uso é adequado para pessoas portadores de diabetes, especificamente do tipo 2 e pessoas obesas, que podem utilizar como uma melhor alternativa de adoçante (HOSSAIN et al., 2017; MAHMUD et al., 2015). A busca por populações mais produtivas quanto ao composto rebaudiosídeo-A será aliada sempre que possível a maior produtividade de massa seca da parte aérea.

2.4 CONCLUSÃO

O genótipo CPAC-10 foi o genótipo com valores superiores para produção de Rebaudiosídeo e esteve no grupo com maiores níveis para Total Glicosídeos de Esteviol. Desta forma apresenta-se como mais promissor para dar origem a novas populações dentro do programa de melhoramento genético da Embrapa Cerrados. -A.

2.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMAD, U.; AHMAD, R. S.; ARSHAD, M. S.; MUSHTAQ, Z.; HUSSAIN, S. M.; HAMEED, A. Antihyperlipidemic efficacy of aqueous extract of *Stevia rebaudiana* Bertoni in albino rats. **Lipids in Health and Disease**, v. 17, n. 1, p. 1-8, 2018.

AHMED, M. B.; SALAHIN, M.; KARIM, R.; RAZVY, M. A. An efficient method for *in vitro* clonal propagation of a newly introduced sweetener plant (*Stevia rebaudiana* Bertoni.) in Bangladesh. **American Eurasian Journal of Scientific Research**, v. 2, n. 2, p. 121-125, 2007.

ANGELINI, L. G.; LEONE, G. P.; ROSSO, C.; TAVARINI, S. Sustainable production chain of stevia in Italy: Agronomy, phytochemical assessment and downstream processing. Proceedings of 7th Stevia Symposium, EUSTAS, **Knowledge on tour in Europe**, 212 p. 2013.

BARBET-MASSIN, C.; GIULIANO, S.; ALLETTO, L.; DAYDÉ, J. Effect of genotype and environment on steviol glycosides content and composition in stevia at flower budding stage, **Proceedings of the 7th Stevia symposium, organized by EUSTAS 2013 – Knowledge on tour in Europe**, 212 p, 2013.

BORÉM, A. **Melhoramento de plantas**. 20. ed. Viçosa: Editora UFV, 1997. 547 p.

CASTRO, F. C.; FALEIRO, F. G.; OLIVEIRA, J. S.; AMABILE, R. F.; MELO, J. V. P. Selection of stevia elite genotypes aiming at the development of cultivars adapted to the Brazilian Savanna. **Revista colombiana de ciencias hortícolas**, v. 16, n. 3, e14727, 2022.

CEUNEN, S.; GEUNS, J. Accumulation pattern of steviol glycosides in *Stevia rebaudiana* Bertoni and its stimulation by red light. Proceedings of the 5th Stevia symposium, organized by EUSTAS 2011 — **Stevia: Break-through in Europe**. 209 p. 2011.

CRUZ, C. D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013.

DE OLIVEIRA, B. H.; PACKER, J. F.; CHIMELLI, M.; DE JESUS, D. A. Enzymatic modification of stevioside by cell-free extract of *Gibberella fujikuroi*. **Journal of Biotechnology**, v. 131, n. 1, p. 92–96, 2007.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V. Recursos genéticos: conservação, caracterização e uso. *In*: FALEIRO, F. G.; ANDRADE, S. R. M.; REIS JÚNIOR, F. B. **Biologia: estado da arte e aplicações na agropecuária**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2011. p. 513-551.

FERRÃO, R. G.; CRUZ, C. D.; FERREIRA, A.; CECON, P. R.; FERRÃO, M. A. G.; FONSECA, A. F. A.; SOUZA CARNEIRO, P. C. S.; SILVA, M. F. Parâmetros

genéticos em café Conilon. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.43, n.1, p.61-69, 2008.

FERRAZZANO, G. F.; CANTILE, T.; ALCIDI, B.; CODA, M.; INGENITO, A.; ZARRELLI, A.; DI FABIO, G.; POLLIO, A. Is *Stevia rebaudiana* Bertoni a non cariogenic sweetener? **A Review. Molecules**, v. 21, n. 1, p. 38, 2015.

FERREIRA, P. V. **Estatística experimental aplicada à agronomia**. Maceió: EDUFAL, 1991.

GARCÍA, Y. S.; HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, R. M.; RAMÍREZ, E.; SÁNCHEZ, M. E.; BELOSEVIC, C.; GONZÁLEZ, I.; CASTRO, I.; CARBALLO, A.; VILLARROEL, L.; VAANDOME, R. Caracterización de un cultivar de *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni (Asteraceae-Eupatorieae) a partir de morfología vegetativa, reproductiva y morfoanatomía foliar. **Revista de Investigación**, n. 92, v. 41, p. 95-114, 2017.

GOETTEMOELLER, J.; CHING, A. Seed germination in *Stevia rebaudiana*. In: JANICK, J. (ed.), **Perspectives on new crops and new uses**. ASHS Press, Alexandria, VA. p. 510–511, 1999.

GOMES, F. P. **Curso de estatística experimental**. Piracicaba: Degaspari, 2000.

GONZÁLEZ, C.; TAPIA, M. S.; PÉREZ, E.; DORNIER, M.; MOREL, G. Caracterización de cultivares de *Stevia rebaudiana* Bertoni de diferentes procedencias. **Bioagro**, v. 26, n. 2, p. 79-88, 2014.

HOSSAIN, F. M.; ISLAM, M. T.; ISLAM, M. A.; AKHTAR, S. Cultivation and uses of stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni): A review. **African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development**, v. 17, n. 04, p. 12745–12757, 2017.

KINGHORN, A. D. The genus *Stevia*, Medicinal and aromatic plants — Industrial Profiles. **Department of Medicinal Chemistry and Pharmacognosy University of Chicago, USA**, v.19, 211p. 2002.

KOCHIKYAN, V. T.; MARKOSYAN, A. A.; ABELYAN, L. A.; BALAYAN, A. M.; ABELYAN, V. A. Combined enzymatic modification of stevioside and rebaudioside A. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 42, n. 1, p. 31–37, 2006.

KOVYLYAEVA, G. I.; BAKALEINIK, G. A.; STROBYKINA, I. Y.; GUBSKAYA, V. I.; SHARIPOVA, R. R.; AL'FONSOV, V. A.; KATAEV, V. E.; TOLSTIKOV, A. G. Glycosides from *Stevia rebaudiana*. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 43, n. 1, p. 81–85, 2007.

LYRA, R.; AZEVEDO JUNIOR, L. G. G.; DINIZ, E. T.; IBIAPINA, G. R.; VELOSO, I. G. L.; FRASÃO, K. Diabetes melito: classificação e diagnóstico. In: VILAR, L. editor. **Endocrinologia clínica**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2016. p. 641-56.

MAHMUD, S.; AKTER, S.; JAHAN, I. A.; KHAN, S.; KHALEQUE, A.; ISLAM, S. Comparative analyses of stevioside between fresh leaves and in-vitro derived callus

tissue from *Stevia rebaudiana* Bert. using HPLC. **Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research**, v. 49, n. 4, p. 199–204, 2015.

MIRANDA FILHO, J. B. Melhoramento genético vegetal: princípios e métodos; melhoramento genético e melhoramento ambiental. Piracicaba: ESALQ/ Departamento de Genética, 1994. p. 1-6 (**Publicação Didática**).

OROZCO, J. A. Estudios de adaptación y manejo integrado de estevia (*Stevia rebaudiana* Bert.): nueva alternativa agroindustrial del Caribe colombiano. Una revisión. **Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas**, v. 2, n. 1, p. 110-121, 2008.

RAJASEKARAN, T.; GIRIDHAR, P.; RAVISHANKAR, G. A. Production of steviosides *ex vitro* and *in vitro* grown *Stevia rebaudiana* (Bertoni). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 87, p. 420-424, 2007.

SERFATY, M.; IBDAH, M.; FISCHER, R.; CHAIMOVITSH, D.; SARANGA, Y.; DUDAI, N. Dynamics of yield components and stevioside production in *Stevia rebaudiana* grown under different planting times, plant stands and harvest regime. **Industrial Crops and Products**, v. 50, p. 731-736, 2013.

STEWART, H. L.; ANDREWS, S. S.; BALART, L. A.; BETHEA, M. C. **Sugar busters: como reduzir o colesterol e perder peso eliminando o açúcar**. Maurette Brandt (Tradução). Rio de Janeiro: Campus, 1998.

TAVARINI, S.; ANGELINI, L. G. *Stevia rebaudiana* Bertoni as a source of bioactive compounds: the effect of harvest time, experimental site and crop age on steviol glycoside content and antioxidant properties. **Journal Science Food Agriculture** v. 93, p. 2121-2129, 2013.

UDDIN, M. S.; CHOWDHUR, M. S. H.; KHAN, M. M. M.; UDDIN, M. B.; AHMED, R.; BATEN, M. D. A. *In vitro* propagation of *Stevia rebaudiana* Bert in Bangladesh. **Afriacan Journal of Biotechnology**, v. 5, n.1 3, p. 1238-1240, 2006.

YADAV, A. K.; SINGH, S.; DHYANI, D.; AHUJA, P. S. A review on the improvement of stevia [*Stevia rebaudiana* (Bertoni)], **Canadian Journal of Plant Science**, v. 91, n. 1, p. 1–27, 2011.

**CAPÍTULO 3. SELEÇÃO DE GENÓTIPOS SUPERIORES DE ESTÉVIA PARA
CULTIVO NO CERRADO COM BASE EM CARACTERÍSTICAS
AGRONÔMICAS**

SELEÇÃO DE GENÓTIPOS SUPERIORES DE ESTÉVIA PARA CULTIVO NO CERRADO COM BASE EM CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS

Resumo: A *Stevia rebaudiana* (Bertoni) 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. Devido à importância econômica e social e o crescente interesse científico da *S. rebaudiana*, objetivou-se selecionar genótipos superiores de estévia para cultivo no Cerrado com base na combinação de características agronômicas. O experimento foi instalado na área experimental da Embrapa Cerrados em Planaltina, DF. Um total de 25 genótipos superiores de estévia foram cultivados em campo no Delineamento Experimental de Blocos Casualizados (DBC) com quatro blocos e três plantas por parcela. Foram avaliadas as variáveis número de dias para o florescimento (NDF), altura de plantas em centímetros (ALT), número de perfilhos por planta (PER), fitomassa verde em gramas (FMV), fitomassa seca em gramas (FMS) e fitomassa de folhas secas em gramas (FOS) em quatro épocas distintas de avaliação. Para todas as variáveis estudadas com exceção da NDF, para todas as épocas de avaliação, a seleção revelou-se positiva, quando se observa os valores da estatística descritiva. Com base nas características agronômicas avaliadas utilizando o índice de Mulamba e Mock os genótipos elite selecionados foram o CPAC-03, CPAC-09, CPAC-10, CPAC14 e CPAC16.

Palavras-chave: Melhoramento genético, produção no Cerrado, soma de ranks, produtividade, *Stevia rebaudiana*, Índice de Mulamba e Mock.

SELECTION OF SUPERIOR STEVIA GENOTYPES FOR CERRADO CULTURE BASED ON AGRONOMIC CHARACTERISTICS

Abstract: *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni is a small perennial shrub whose leaves contain steviol glycosides, which have a sweetening capacity 300 times greater than that of sucrose. Due to the economic and social importance and the growing scientific interest of *S. rebaudiana*, the objective was to select superior stevia genotypes for cultivation in the Cerrado based on the combination of agronomic characteristics. The experiment was carried out in the experimental area of Embrapa Cerrados in Planaltina, DF. A total of 25 superior stevia genotypes were cultivated in the field in a Randomized Block Experimental Design (DBC) with four blocks and three plants per plot. The variables number of days to flowering (NDF), plant height in centimeters (ALT), number of tillers per plant (PER), green phytomass in grams (FMV), dry phytomass in grams (FMS) and dry leaf phytomass in grams (FOS) were evaluated in four different evaluation periods. For all variables studied except NDF, for all evaluation periods, the selection was positive, when observing the values of descriptive statistics. Based on the agronomic characteristics evaluated using the Mulamba and Mock index, the elite genotypes selected were CPAC-03, CPAC-09, CPAC-10, CPAC14 and CPAC16.

Key words: Genetic improvement, production in the Cerrado, sum of ranks, productivity, *Stevia rebaudiana*, Mulamba e Mock index.

3.1 INTRODUÇÃO

A *Stevia rebaudiana* Bertoni é uma planta nativa das montanhas do Amambay que estão localizadas entre o norte do Paraguai e o sul do Brasil. Nesta região habitavam índios Guaranis que desde antigamente usufruíram desta planta como adoçante e artifício medicinal, onde eles a denominam como erva doce (CARRERA-LANESTOSA et al., 2017).

A estévia pertence à família Asteraceae, que engloba cerca de 240 espécies. Dentre estas, existem diversas que possuem vários compostos com potencial adoçante, todavia, a *S. rebaudiana* é considerada a mais doce de todas (SINGH et al., 2012). A planta de estévia pode ser multiplicada tanto por sementes quanto por meio da propagação vegetativa, usando estacas herbáceas. Mas a forma mais utilizada de propagação de plantas de estévias para o plantio comercial tem sido realizada de forma seminífera. As folhas brutas dessa planta são de 10 a 15 vezes mais doce do que a sacarose e folhas com uma boa qualidade apresentam poder de dulçor estimado em 30 vezes maior que o da sacarose (SAVITA et al., 2004).

Nas espécies vegetais que apresentam potencial para produzir adoçantes naturais, a estévia tem sido a planta que tem atraído os maiores interesses econômicos e científicos. Esse interesse deve-se principalmente às suas características e propriedades terapêuticas das suas folhas (MONDACA et al., 2012).

Ainda no final da década de 90, Brandle et al. (1998), já consideravam que a estévia representava uma nova e grande oportunidade para a agricultura. Os mesmos autores, já recomendavam ter atenção com o manejo e gestão da cultura para que fosse possível a obtenção de uma produção satisfatória das plantas de estévia. Os edulcorantes ou adoçantes são produtos químicos de origem sintética ou natural, que têm a propriedade de adoçar um alimento em substituição total ou parcial do açúcar comercial. Os indivíduos que, por diversas razões, precisam substituir a sacarose por adoçantes não calóricos procuram por produtos que sejam dotados de gosto e características próximas às da sacarose (FERNANDES et al., 2009).

Os adoçantes artificiais ou sintéticos correspondem aos não-nutritivos. Eles são também chamados de adoçantes intensos, uma vez que possuem um alto poder adoçante, muito maior que o da sacarose, sendo necessárias pequenas doses para obter doçura intensa (CAROCHO et al., 2017). Apesar de parecer oferecer vantagens, os reais efeitos causados no organismo pela ingestão de adoçantes são controversos. A existência efetiva de benefícios no tratamento da obesidade e do *Diabetes Mellitus*

associados ao seu consumo é alvo de diversas investigações científicas, além de também serem apurados outros efeitos fisiológicos associados ao seu consumo. Alguns dados sugerem, inclusive, que os adoçantes podem ter efeitos similares aos dos açúcares comuns no desarranjo metabólico e na homeostase da glicose (MEJIA e PEARLMAN, 2019).

Com a demanda crescente do mercado faz-se necessário o desenvolvimento de estudos para o desenvolvimento de cultivares adaptadas as condições de cultivos nas mais diversas regiões com potencial para produzir a estévia. O desenvolvimento de cultivares de estévia adaptadas ao Cerrado envolve a seleção de genótipos com alta produção de fitomassa e com período juvenil longo. Visando ao alcance de genótipos que apresentem um maior período vegetativo, ou seja, sem que apresentem florescimento. E que com isso, conseqüentemente, apresentem um maior rendimento de parte aérea.

No melhoramento genético de plantas, os melhoristas na maioria das vezes, desejam-se obter indivíduos geneticamente superiores aos pré-existentes, considerando várias características simultaneamente. Existem vários métodos que permitem realizar a seleção múltipla, sendo o método dos índices de seleção a alternativa mais eficiente e utilizada pelos melhoristas, no qual o índice de soma dos postos ou índice de soma de ranks, proposto por Mulamba e Mock (1978), apresenta resultados satisfatórios para diversas culturas (AMARAL JÚNIOR et al., 2010; ROSADO et al., 2012; LUZ et al., 2018).

Mulamba e Mock (1978), envolve o ranqueamento e a soma dos ranques para os genótipos utilizados, considerando os caracteres envolvidos. Ele hierarquiza os genótipos, inicialmente, para cada característica, por meio da atribuição de valores absolutos àqueles de melhor desempenho. O procedimento consiste em classificar as linhagens, em relação a cada um dos caracteres em ordem favorável ao melhoramento, estabelecida previamente pelo melhorista. Uma vez classificadas, são somadas as ordens de cada linhagem, referentes a cada caráter, resultando numa medida adicional tomada como índice de seleção. Adicionalmente, é permitido ajuste na ordem de classificação das variáveis, bastando atribuir pesos distintos a cada variável.

O uso de índices de seleção torna-se uma alternativa vantajosa nos programas de melhoramento e vem ocupando lugar de destaque, visto que a demanda por novas cultivares que atendam às exigências, cada vez mais variadas do mercado, é crescente e

necessita de menor tempo para seu lançamento, logo a seleção de vários caracteres simultaneamente destaca-se nesse mercado (TORRES, 2015).

Com base em toda importância econômica e social e o crescente interesse científico da *S. rebaudiana*, objetivou-se selecionar genótipos superiores de estévia para cultivo no Cerrado com base em índice de seleção englobando características agronômicas.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Embrapa Cerrados em Planaltina no Distrito Federal em 02 de dezembro de 2020. Pela classificação de Köppen, o município de Planaltina-DF, apresenta uma altitude de 1.007 m., com coordenadas geográficas 15° 35' 30'' de latitude Sul e 47° 42'00'' de longitude a Oeste de Greenwich. Apresentando clima segundo a classificação de Köppen AW Tropical estacional de savana megatérmico com temperatura média do mês mais frio acima de 18,0 °C. Tem precipitação média anual de 1.400 mm concentrada no período de outubro a março. O período seco varia de 5 a 6 meses (abril a setembro) as médias de temperatura máxima e mínima são de 26,4° C e 15,9° C, respectivamente. Predominam os solos Latossolo Vermelho Escuro.

Um total de 25 genótipos superiores de estévia foi implantado em campo no Delineamento Experimental de Blocos Casualizados (DBC) com quatro blocos, sendo três plantas para constituir cada parcela experimental.

As plantas de *S. rebaudiana* foram obtidas em abril de 2020 por meio da propagação vegetativa, após o ciclo final de seleção das plantas de estévia. Os genótipos selecionados foram clonados e conduzidos em casa de vegetação por 60 dias. Após esse período, os mesmos foram aclimatados em condições do ambiente por 15 dias. Posteriormente foram transplantadas seguindo o sorteio realizado para o delineamento dos blocos casualizados.

A área experimental foi preparada de modo convencional, com duas gradagens e correção do solo utilizando como base os resultados da análise de solo. Durante todo o tempo de preparação da área e manutenção do experimento a área recebeu irrigação de modo artificial por aspersão, sendo realizada de acordo com as condições climáticas da região do Cerrado e próximo da capacidade de campo. A área foi mantida livre de ervas

daninhas através de capina manual quinzenalmente e não foi feito nenhum controle de pragas.

Aproximadamente 90 dias após o transplante das mudas no campo foi realizada uma poda para homogeneização.

Aproximadamente 120 dias após a instalação do experimento em campo e 45 dias após a poda de homogeneização, foi realizada a primeira avaliação de contagem do florescimento das plantas e essas avaliações foram realizadas por dois anos seguidos, de abril de 2020 até abril de 2022. Foram realizadas na sua totalidade quatro avaliações durante o período de experimentação, sendo realizados cinco cortes, o primeiro para homogeneização e os demais foram cortes para avaliação dos genótipos.

Durante o experimento foram avaliadas as variáveis época de florescimento dos genótipos, número de brotações por planta, massa fresca e massa seca das plantas. Foram realizados quatro cortes ao longo do experimento. O primeiro corte foi realizado cinco meses após a implantação do experimento, em 13/05/2021, o segundo após 10 meses, em 25/10/2021, o terceiro após 14 meses em 14/02/2022 e o quarto e último corte realizado após 16 meses em 12/04/2022.

Durante a etapa de experimentação foram analisadas as seguintes variáveis: NDF = Número de dias até o florescimento; ALT = Altura em cm; PER = número de Perfilhos; FMV = Fitomassa Verde em gramas; FMS = Fitomassa Seca em gramas e FOS = massa das folhas secas em gramas.

Para avaliação do período juvenil de cada genótipo foi avaliado o número de dias requerido para o florescimento de cada genótipo (NDF), foi realizado um acompanhamento em campo, a cada dois dias, para observação visual do florescimento das plantas ou do aparecimento dos botões florais. O florescimento pleno era considerado a partir do lançamento de aproximadamente 50% das flores de uma mesma planta.

Logo antes da realização de cada um dos quatro cortes foi feita a mensuração da altura de plantas, por meio de medição direta das plantas, considerando a altura do nível do solo ao topo da planta. A avaliação do número de brotações ou de perfilhos por planta (PER) foi realizada por meio da contagem manual após cada corte das plantas realizado em campo. Assim, como a avaliação da fitomassa fresca (FMV) e fitomassa seca de plantas (FMS). Para avaliação da massa fresca de plantas foi realizada uma pesagem de cada planta, em campo, no momento do corte. Após essa etapa, as plantas foram acondicionadas em sacos de papel e levadas para estufa de ventilação forçada a

uma temperatura de 60°C por 48 horas, aproximadamente. Em seguida a mensuração da fitomassa seca de planta foi realizada a retirada de todas as folhas e feita a pesagem das mesmas para avaliação da fitomassa seca de folhas (FOS) em gramas. As pesagens foram realizadas com uma balança de precisão (0,01g).

Após a obtenção dos dados foi realizada a análise da estatística descritiva para todas as variáveis estudadas. Em seguida, procedeu-se a seleção simultânea para os múltiplos caracteres utilizando o índice da soma de postos (IMM) de Mulamba & Mock (1978). O índice de Mulamba & Mock (1978) foi obtido a partir da transformação das observações fenotípicas das progênies em postos (ou ranks), de acordo com o estimador (RAMALHO et al., 2012). Para a variável FOS em todas as épocas de avaliação foi aplicado um peso econômico de 2, diferindo do praticado para as demais variáveis, que foi de 1, em todas as épocas de avaliação.

Todas as análises estatísticas dos dados foram realizadas com o auxílio do programa Genes (CRUZ, 2013).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observa-se na Tabela 1, a distribuição dos valores médios, mínimos e máximos dos 25 genótipos superiores de *S. rebaudiana*, do programa de melhoramento da Embrapa Cerrados, para as variáveis número de dias para o florescimento (NDF), altura (ALT) em centímetros, perfilhamento (PERF), fitomassa verde em gramas (FMV), fitomassa seca em gramas (FMS) e folhas secas em gramas (FOS), nas quatro épocas distintas de avaliação nas condições do Cerrado do Distrito Federal.

Tabela 1. Média da soma das variáveis número de dias para o florescimento (NDF), altura (ALT) em centímetros, perfilhamento (PERF), fitomassa verde em gramas (FMV), fitomassa seca em gramas (FMS), folhas secas em gramas (FOS) das populações inicial e selecionada (X_o e X_s). Valores mínimo e máximo em relação aos 25 genótipos. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2023.

Variável	Média X_o	Média X_s	Mínimo	Máximo
NDF (1;2;3;4)	73 (dias)	72 (dias)	38 (dias)	161 (dias)
ALT (1;2;3;4)	54,84 (cm)	59,35 (cm)	15 (cm)	110 (cm)
PERF(1;2;3;4)	25	29	1	122
FMV (1;2;3;4)	175,18 (gr)	251,81 (gr)	1 (gr)	1042 (gr)
FMS (1;2;3;4)	49,48	70,46	0,2 (gr)	277 gr
FOS (1;2;3;4)	22,42 (gr)	32,19 (gr)	0,1 (gr)	128 (gr)

A variável NDF, considerando todas as épocas de avaliação, não apresentou um valor positivo, levando em consideração o que se almeja alcançar com a seleção no programa de melhoramento da Embrapa Cerrados. Pois a equipe busca selecionar genótipos com maior NDF, visando a alcançar genótipos com maior período vegetativo e conseqüentemente com maior produção de biomassa seca.

Para as demais variáveis em todas as épocas de avaliação, altura de planta (ALT) em centímetros, perfilhamento (PERF), fitomassa verde em gramas (FMV), fitomassa seca em gramas (FMS), folhas secas em gramas (FOS), a seleção revelou-se positiva, quando se observa os valores da estatística descritiva (Tabela 1).

Na Tabela 2, pode-se observar as médias originais da população (X_0), os 25 genótipos superiores de estévia. E pode-se observar, também, as novas médias estimadas com base no diferencial de seleção para cada característica estudada ao longo das quatro épocas distintas de avaliação com base nos 10 genótipos elite selecionados pelo índice de seleção baseado na soma de ranks de Mulamba e Mock.

Tabela 2. Estimativas de ganho de seleção (GS e GS%) e médias da população inicial (X_0) e da população selecionada (X_s), obtidas através do índice de seleção baseado na soma de ranks (MULAMBA e MOCK, 1978) de uma população de genótipos elite de *S. rebaudiana* para as variáveis número de dias para o florescimento (NDF), altura (ALT) em centímetros, perfilhamento (PERF), fitomassa verde em gramas (FMV), fitomassa seca em gramas (FMS) e folhas secas em gramas (FOS), sendo as numerações 1,2,3 e 4 relativas a cada período de avaliação (épocas distintas). Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2023.

Variável	X_0	X_s	GS	GS %
NDF_1	48,55	47,74	70,2	0,57 [#]
ALT_1	31,03	35,07	51,19	2,06
PERF_1	9,51	13,58	69,52	2,83
FMV_1	30,26	49,44	76,43	14,66
FMS_1	7,43	12,24	69,5	3,34
FOS_1	2,74	4,46	74,55	1,28
NDF_2	119,39	115,21	74,26	-3,1
ALT_2	57,32	63,27	86,35	5,13
PERF_2	24,26	30,85	64,21	4,23
FMV_2	272,28	399,60	68,57	87,3
FMS_2	76,35	110,79	70,62	24,32
FOS_2	36,02	52,04	73,51	11,78
NDF_3	78,20	77,43	29,93	0,22 [#]
ALT_3	75,23	81,13	80,4	4,74
PERF_3	25,84	29,58	66,68	2,49
FMV_3	221,56	298,97	59,00	45,67
FMS_3	75,37	100,25	55,43	13,79
FOS_3	29,73	40,10	60,40	6,26

NDF_4	47,25	47,42	66,29	0,11
ALT_4	51,80	57,95	82,39	5,06
PERF_4	34,28	44,25	78,87	7,86
FMV_4	176,62	259,23	77,69	64,18
FMS_4	38,79	58,58	69,27	13,70
FOS_4	21,20	32,16	69,12	7,57
Ganho Total:			1.644,38	324,47

Variável assinalada com o símbolo # apresenta variância genética negativa.

Considerando a primeira época de seleção, apenas a variável NDF1 dentre as variáveis estudadas, apresentou média dos 10 genótipos elite selecionados inferior à média original da população. As demais características, ALT1, PERF1, FMV1, FMS1 e FOS1, apresentaram médias dos genótipos selecionados superiores as médias originais da população. O maior ganho de seleção (GS) na primeira avaliação foi observado para a característica FMV1.

Em todas as épocas de avaliação as características FMV, FMV1, FMV2, FMV3 e FMV4, apresentaram os maiores valores de ganho de seleção, obtendo sempre as maiores diferenças entre as médias das populações selecionadas e as médias da população original, de forma positiva.

A variável FMS em todas as épocas de avaliação, FMS1, FMS2, FMS3 e FMS4, foi a variável que alcançou em todas as avaliações o segundo lugar, ficando apenas atrás da variável FMV, em todas as distintas épocas de avaliação. O que é esperado, tendo em vista, que a variável FMS está diretamente relacionada a variável FMV. Ou seja, quanto maior massa verde e/ou fresca a planta de estévia apresenta, maior também será a massa seca dessa planta. Conseqüentemente, quando uma dessas variáveis apresenta um maior diferencial de seleção positivo, média selecionada maior do que a média original, a outra variável, também, acompanha esse desempenho, mesmo que em magnitude menor.

É importante que a seleção seja dirigida para a obtenção de populações homogêneas, com resistência a doenças e pragas, com maiores teores de edulcorantes, maior massa foliar, produção de sementes viáveis, menos exigentes em nutrientes, com tolerância à seca e insensíveis ao fotoperíodo e altitude, assim como maior número de hastes e ramificações na parte aérea da planta, dentre outras características (LIMA FILHO et al., 2004).

A característica NDF só apresentou ganho de seleção positivo na quarta época de avaliação, NDF4. Essa é uma característica de extrema importância no melhoramento da estévia para obtenção de plantas com maior NDF, para adaptação nas

condições do cerrado. O melhoramento vem buscando selecionar plantas com maior NDF, para que vegetem mais e com isso produzam maior quantidade de matéria seca.

No Canadá, a *Royal-Sweet International Technologies Ltd* informou ter obtido uma variedade de estévia não sensível ao fotoperíodo, por meio de indução genética, cujo genótipo foi patenteado. Nos Estados Unidos, foram obtidos clones de estévia pelo tratamento de sementes com colchicina, com boas características fenotípicas para a produção de esteviosídeo/rebaudiosídeo. E no Brasil, por enquanto, os plantios comerciais existentes ainda são oriundos de semente de meio irmãos, sem identificação de uma cultivar recomendada para o plantio nas várias condições ecológicas de adaptação da estévia (LIMA FILHO et al., 2004).

Todas as características avaliadas, com exceção do NDF1, NFD2 e NDF3, apresentaram diferencial de seleção positivo, e atingiram um expressivo ganho de seleção (GS) em todas as épocas de avaliação. De acordo com os resultados observados no presente estudo, para essa variável se faz necessários mais pesquisas e de preferência com genótipos superiores já selecionados nessa pesquisa, que são oriundos do programa de melhoramento de estévia da Embrapa Cerrados, afim, de atingir mais rapidamente cultivares geneticamente superiores e adaptadas as condições do Cerrado do Distrito Federal.

Dentre os 25 genótipos superiores avaliados foram selecionados os 10 melhores genótipos e dentre esses foram ranqueados os cinco melhores genótipos, considerados elite (TOP 5), (Tabela 3). Essa etapa foi realizada por meio do índice de seleção baseado na soma de ranks de Mulamba e Mock (IMM). Esse índice mostrou-se eficiente para os ganhos de seleção e para realizar seleção simultânea mais acurada de genótipos superiores na população em estudo.

Tabela 3. Ranqueamento dos genótipos de obtidas através do índice de seleção baseado na soma de ranks (MULAMBA e MOCK, 1978) dos 25 genótipos elite de *S. rebaudiana* relativo a cada período de avaliação (épocas distintas). Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2023.

Genótipos	Época1	Época2	Época3	Época4
Genótipo1	-	8	-	9
Genótipo2	-	4	7	-
Genótipo3	4	2	5	5
Genótipo5	-	-	1	-

Genótipo6	-	5	-	-
Genótipo7	8	-	-	-
Genótipo8	-	-	8	-
Genótipo9	2	1	9	1
Genótipo10	1	3	2	3
Genótipo11	5	-	-	-
Genótipo13	9	9	-	-
Genótipo14	10	6	6	2
Genótipo15	-	-	10	4
Genótipo16	3	7	4	8
Genótipo18	6	-	-	6
Genótipo19	-	-	3	7
Genótipo21	7	-	-	-
Genótipo24	-	10	-	-
Genótipo25	-	-	-	10

Cruz et al. (1993) e Costa et al. (2004), encontraram resultados positivos e ganhos superiores com a utilização dos índices de Mulamba e Mock (IMM) em milho e soja, respectivamente. Vilarinho et al. (2003) verificaram que este índice (IMM) proporcionou as melhores estimativas de ganhos em progênies endogâmicas, de milho pipoca. Santos et al. (2007) obtiveram ganhos satisfatórios com o índice para a seleção de famílias de meios-irmãos de milho. A utilização do índice de Mulamba e Mock, permitiu a Rangel et al. (2011) a predição de ganhos simultâneos nas duas principais características (produção e expansão) relacionadas ao melhoramento de milho de pipoca. Também Cunha (2010) observou ganhos elevados em seleção recorrente recíproca de famílias de irmãos completos em milho, utilizando este índice (IMM).

Com base no ranqueamento, em primeiro lugar ficou o genótipo CPAC-10. Esse genótipo foi considerado entre os genótipos elite, pois apareceu em primeiro lugar com base na seleção simultânea das características avaliadas, no somatório dos ranks (IMM). O genótipo CPAC-10 ficou em 1º, 3º, 2º e 3º lugar nas quatro épocas distintas de avaliação, respectivamente.

Em segundo lugar ficou o genótipo CPAC-09. Esse genótipo foi considerado entre os genótipos elite no somatório dos ranks (IMM). O genótipo CPAC-09 ficou em 2º, 1º, 9º e 1º lugar nas quatro épocas distintas de avaliação, respectivamente.

O genótipo CPAC-03 foi considerado entre os genótipos elite, pois apareceu em terceiro lugar com base na seleção simultânea das características avaliadas, no somatório dos ranks (IMM). O genótipo CPAC-03 ficou em 4º, 2º, 5º e 5º lugar nas quatro épocas distintas de avaliação, respectivamente.

Na quarta posição apareceu o genótipo CPAC-16 pela soma de ranks (IMM). Esse genótipo atingiu as posições de 3º, 7º, 4º e 8º lugar nas quatro diferentes avaliações, respectivamente.

Fechando a seleção em quinto lugar pela soma de ranks (IMM) ficou o genótipo CPAC-14. Esse genótipo elite ficou em 10º, 6º, 6º e 2º lugar nas quatro distintas épocas de avaliação, respectivamente.

Garcia e Souza Junior (1999) afirmaram que a utilização do índice de seleção baseado na soma de ranks de Mulamba e Mock (IMM) é muito simples, já que não se utiliza valores fenotípicos diretamente, e sim um número associado a cada um deles. Assim, a variância é a mesma para todos os caracteres, evitando transformações de dados. Isso que facilita e dá celeridade ao processo de análise dos dados e obtenção dos resultados. As interpretações desses resultados darão suporte às tomadas de decisões no avanço das etapas dentro do programa de melhoramento.

A estratégia utilizada no presente estudo possibilitou um ganho de seleção total (GS) de 324,47%, sendo esse um valor muito alto. Esse valor observado indica que a estratégia utilizada foi eficiente para a obtenção de genótipos superiores, por permitir obter simultaneamente ganhos para caracteres de importância agrônoma para a estérvia nas condições do Cerrado. Esse alto ganho de seleção, também, é reflexo da alta variabilidade genética, ainda, presente na população. A variabilidade genética pode ser considerada a base para obtenção do sucesso, avanço, no melhoramento genético de qualquer espécie.

A herdabilidade de uma característica está fortemente relacionada com o ganho de seleção obtido para essa característica. Com isso, cabe resaltar que quanto maior o valor de herdabilidade maiores serão as chances do sucesso de seleção (TEIXEIRA, 2017). A herdabilidade pode variar de zero a um, quando a herdabilidade é igual a zero, a variação que houve entre os indivíduos é exclusivamente atribuída a causas ambientais, já quando os valores de herdabilidade são próximos ou iguais a um, pode se dizer que a variação que houve na população é atribuída a causas genéticas (CRUZ, 2016). Os valores de herdabilidade podem ser influenciados de acordo com alguns fatores como: variação genética de cada população para cada caráter, o ambiente em que

os genótipos estão inseridos, o método utilizado para estimar o valor da herdabilidade, o tamanho da amostra avaliada e a precisão na condução do experimento e da coleta de dados (BORÉM e MIRANDA, 2013).

Nos programas de melhoramento, a seleção de genótipos superiores tem sido realizada com base em índices, por permitir obter ganhos para diversos caracteres de importância agronômica e econômica, simultaneamente. Os índices de seleção funcionam como um caráter adicional, resultante de uma combinação de diversas características sobre as quais se deseja obter respostas à seleção (SANTOS et al., 2007), permitindo melhorar diversos caracteres simultaneamente, independentemente da existência ou não de correlação entre estes (CRUZ e REGAZZI, 2001; VILARINHO et al., 2003).

No melhoramento genético, de qualquer espécie vegetal, depende do acerto na escolha dos melhores indivíduos para serem os genitores das próximas gerações, de modo a reduzir esforços e abreviar o tempo necessário para obtenção dos genótipos superiores. Uma das maneiras de identificar os indivíduos portadores de genes desejáveis se faz com a avaliação das características agronômicas de interesse, para cada cultura, nos candidatos à seleção. Com isso, uma eficiente estimativa dos parâmetros genéticos constitui base fundamental para o sucesso de qualquer programa de melhoramento. Uma seleção só é eficiente se recai sobre caracteres herdáveis dos indivíduos de uma população, ou seja, acessando ganhos genéticos suficientes para a formação da próxima geração.

É importante frisar que o avanço de gerações bem-sucedido em um programa de melhoramento é primordial, pois só assim é possível obter genótipos superiores com boa produtividade e bem adaptados as condições de cultivo do cerrado. Entretanto, é necessário conhecer, explorar e manusear a variabilidade genética existente na população segregante e compreender como os genes se comportam para chegar aos genótipos superiores desejados. Posteriormente, atingir o desenvolvimento de cultivares que possam ser recomendadas para as condições do Cerrado do Distrito Federal.

A presença de variabilidade é a ferramenta principal para o sucesso no programa de melhoramento de qualquer espécie. E além da existência de variabilidade em níveis adequados, Borém e Miranda (2013) ressaltam, ainda, que para o desenvolvimento de novas cultivares com características desejáveis é crucial a escolha de indivíduos com boas características agronômicas.

O sucesso da seleção depende não apenas da variabilidade dos genótipos experimentais, mas da acurácia dos métodos de seleção usados. Considerando a crescente importância econômica da cultura da estévia, pesquisas voltadas para dar suporte na obtenção de genótipos superiores e posteriormente cultivares adaptadas as condições de produção no país são de extrema necessidade.

É imprescindível que no processo de seleção seja considerada as observações realizadas pelos melhoristas sobre o desempenho dos genótipos durante o período de avaliação do experimento. O melhorista deve planejar a melhor estratégia de seleção para garantir ganho genético expressivo e selecionar genitores eficientes. Além disso, foram consideradas observações feitas pelo melhorista ao longo das avaliações de campo, pois algumas dessas observações não conseguem ser expressa na análise estatística.

No programa de melhoramento da estévia desenvolvida na Embrapa Cerrados, a seleção de genótipos superiores vem sendo realizada com base em índices, por permitir obter ganhos para diversos caracteres de importância agrônômica e econômica, simultaneamente. De acordo com Santos et al. (2007), os índices de seleção funcionam como um caráter adicional, resultante de uma combinação de diversas características sobre as quais se deseja obter respostas à seleção, permitindo melhorar diversos caracteres simultaneamente, independentemente da existência ou não de correlação entre estes (CRUZ et al., 2004; VILARINHO et al., 2003).

3.4 CONCLUSÃO

Com base nas características agrônômicas avaliadas utilizando o índice de Mulamba e Mock os genótipos elite selecionados foram o CPAC-03, CPAC-09, CPAC-10, CPAC14 e CPAC16.

3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL JÚNIOR, A. T.; FREITAS JÚNIOR, S. P.; RANGEL, R. M.; PENA, G. F.; RIBEIRO, R. M.; MORAIS, R. C.; SCHUELTER, A. R. Improvement of a popcorn population using selection indexes from a fourth cycle of recurrent selection program carried out in two different environments. **Genetics and Molecular Research**, v. 9, n. 1, p. 340-347, 2010.

BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. **Melhoramento de Plantas**. Viçosa, 523p., 2013.

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

CARRERA-LANESTOSA, A.; MOGUEL-ORDÓÑEZ, Y.; SEGURA-CAMPOS, M. *Stevia rebaudiana* Bertoni: A natural alternative for treating diseases associated with metabolic syndrome. **Journal of Medicinal Food**, v. 20, n. 10, p. 933-943, 2017.

CAROCHO, M.; MORALES, P.; FERREIRA, I. C. F. R. Adoçantes como aditivos alimentares no século XXI: uma revisão do que se sabe e do que está por vir. **Químico Toxicológico Alimentar**, 107, P. 302-317, 2017.

COSTA, M. M.; DI MAURO, A. O.; UNÊDA-TREVISOLI, S. H.; ARRIEL, N. H. C.; BÁRBARO, I. M.; MUNIZ, F. R. S. Ganho genético por diferentes critérios de seleção em populações segregantes de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 11, p. 1095-1102, 2004.

CRUZ, C. D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013.

CRUZ, C. D. Genes Software-extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 38, n. 4, p. 547-552, 2016.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 3. ed. Viçosa: UFV, 2004. v. 1. 480 p.

CRUZ, C. D.; VENCOVSKY, R.; SILVA, S. O. e; TOSELLO, G. A. Comparison of gains from selection among corn progenies, based on different criteria. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 16, n. 1, p. 79-89, 1993.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. 2006. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 4ª ed., v. 2, Viçosa: Editora UFV. 585p.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. (2001) **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 2ª Edição, UFV, Viçosa.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. 2012. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 4 ed., v. 1, Viçosa: Editora UFV. 514p.

CUNHA, K. S. Marcadores moleculares aplicados à seleção recorrente recíproca de famílias de irmãos completos em milho (*Zea mays*, L.). 2010. 73 f. **Dissertação** (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Estadual do Norte Fluminense “Darcy Ribeiro”, Campos do Goytacazes, 2010.

FERNANDES, A. G.; SOUSA, P. H. M.; MAIA, G. A.; SILVA, D. S.; SANTOS, S. M. L. 2009. Avaliação sensorial de bebidas de goiaba adoçadas com diferentes agentes adoçantes. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 2, p. 358-364, 2009.

LIMA FILHO, O. F.; VALOIS, A. C. C.; LUCAS, Z. M. **Estévia**. Embrapa Agropecuária Oeste. Dourados, MS, 55p., 2004

LUZ, P. B.; SANTOS, A. A. B.; AMBROSIO, V. C.; NEVES, L. G.; TAVARES, A. R. Selection of indexes to evaluate the genetic variability aiming ornamental use of peppers accessions. **Ornamental Horticulture**, v. 24, n. 1, p. 7-11, 2018.

MEJIA, E.; PEARLMAN, M. Natural alternative sweeteners and diabetes management. **Current diabetes reports**, v. 19, n. 12, p. 1-10, 2019.

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

MULAMBA, N. N.; MOCK, J. J. Improvement of yield potential of the Eto Blanco maize (*Zea mays* L.) population by breeding for plant traits. **Egyptian Journal of Genetics and Cytology**, Giza, v. 7, p. 40–51. 1978.

RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B.; SANTOS, J. B.; NUNES, J. A. R. **Aplicações da genética quantitativa no melhoramento de plantas autógamas**. Lavras: Editora UFLA, 2012. 522p.

RANGEL, R. M.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; GONÇALVES, L. S. A.; FREITAS JÚNIOR, S. P.; CANDIDO, L. S. Análise biométrica de ganhos por seleção em população de milho pipoca de quinto ciclo de seleção recorrente. **Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 42, n. 2, p. 473-481, 2011.

ROSADO, L. D. S.; SANTOS, C. E. M.; BRUCKNER, C. H.; NUNES, E. S.; CRUZ, C. D. Simultaneous selection in progenies of yellow passion fruit using selection indices. **Revista Ceres**, v. 59, p. 95-101, 2012.

SANTOS, F. S.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; FREITAS JÚNIOR, S. P.; RANGEL, R. M.; PEREIRA, M. G. Predição de ganhos genéticos por índice de seleção na população de Milho-Pipoca UNB-2U sob Seleção Recorrente. **Brangantia**, Campinas, v. 66, n. 3, p. 389-396, 2007.

SAVITA, S. M.; SHEELA, K.; SUNANDA, S.; SHANKAR, A. G.; RAMAKRISHNA, P. *Stevia rebaudiana* – A functional component for food industry. **Journal of Human Ecology**, v. 15, n. 4, p. 261–264, 2004.

SINGH, S.; GARG, V.; YADAV, D.; BEG, M. N. In-vitro antioxidative and antibacterial activities of various parts of *Stevia rebaudiana* (Bertoni). **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 3, p. 468-473, 2012.

TEIXEIRA, F. G. Herança da precocidade e de caracteres agronômicos em soja e seleção de linhagens com base em índices de seleção. 2017. 96f. **Dissertação** (Mestrado em fitotecnia)- Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia-MG, 2017.

TORRES, M. H. R. M. 2015. Progresso genético com base na seleção simultânea de caracteres em linhagens elite de feijão-caupi. 82p. **Dissertação** (Mestrado/Genética e Melhoramento) – UFPI, Teresina.

VILARINHO, A. A.; VIANA, J. M. S.; CÂMARA, T. M. M.; SANTOS, J. F. Seleção de progênies endogâmicas S1 e S2 em um programa de melhoramento intrapopulacional de milho pipoca. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 24, n. 5, p. 1419-1425. 2003.

**CAPITULO 4. SELEÇÃO DE GENÓTIPOS SUPERIORES DE ESTÉVIA COM
BASE NA DISTÂNCIA GENÉTICA**

SELEÇÃO DE GENÓTIPOS SUPERIORES DE ESTÉVIA COM BASE NA DISTÂNCIA GENÉTICA

Resumo: Dentre as espécies vegetais que apresentam potencial para produzir adoçantes naturais, a *Stevia rebaudiana* tem atraído interesses econômicos e científicos relacionados às suas características e propriedades terapêuticas dos seus compostos. A *S. rebaudiana* é conhecida por ser uma planta de folhas adocicadas. As folhas contêm metabólitos secundários de glicosídeos de esteviol que são muito doces, sem calorias e com índice glicêmico igual a zero. Em vista da grande importância da *S. rebaudiana*, objetivou-se com este estudo selecionar genótipos superiores de estévia para obter novas populações de melhoramento com base na distância genética. Para tanto, foi estabelecido experimento em campo na área experimental da Embrapa Cerrados, em Planaltina, no Distrito Federal em dezembro de 2020. As mudas dos genótipos superiores de *S. rebaudiana* foram obtidas, utilizando a propagação do tipo vegetativa pela técnica da estaquia. Foram avaliadas oito características agronômicas, a partir das quais foram calculadas as distâncias euclidianas médias entre cada par de genótipo. As características analisadas foram variáveis quantitativas. Foi calculada a estatística descritiva das variáveis estudadas e estimada a contribuição relativa dos caracteres para divergência. Foi confeccionada a matriz de dissimilaridade entre os 24 genótipos a partir das oito variáveis analisadas. Pelos resultados obtidos observou-se que existe uma diversidade genética significativa que possibilitou a formação de três grupos distintos entre os genótipos favorecendo o desenvolvimento de novas populações de polinização aberta tendo em vista o avanço do programa de melhoramento genético da estévia.

Palavras-chave: *Stevia rebaudiana* Bertoni, Diversidade genética, distância euclidiana média, melhoramento genético.

SELECTION OF SUPERIOR STEVIA GENOTYPES FOR FORMATION OF NEW IMPROVEMENT POPULATIONS BASED ON GENETIC DISTANCE

Abstract: Among the plant species that have the potential to produce natural sweeteners, *Stevia rebaudiana* has attracted economic and scientific interest related to its characteristics and therapeutic properties of its compounds. *S. rebaudiana* is known for being a plant with sweet leaves. The leaves contain secondary metabolites of steviol glycosides that are very sweet, calorie-free, and have a glycemic index of zero. In view of the great importance of *S. rebaudiana*, the objective of this study was to select superior stevia genotypes to obtain new breeding populations based on genetic distance. To this end, a field experiment was established in the experimental area of Embrapa Cerrados, in Planaltina, in the Federal District, in December 2020. Seedlings of the superior genotypes of *S. rebaudiana* were obtained using vegetative propagation by the cutting technique. Eight agronomic characteristics were evaluated, from which the average Euclidean distances between each pair of genotypes were calculated. The characteristics analyzed were quantitative variables. Descriptive statistics of the variables studied were calculated and the relative contribution of the characters to divergence was estimated. The dissimilarity matrix was prepared between the 24 genotypes from the eight variables analyzed. The results obtained showed that there is significant genetic diversity that allowed the formation of three distinct groups among the genotypes, favoring the development of new open-pollinated populations with a view to advancing the stevia genetic improvement program.

Palavras-chave: *Stevia rebaudiana* Bertoni, genetic diversity, mean Euclidean distance, genetic improvement.

4.1 INTRODUÇÃO

A estévia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) é uma planta pertencente ao gênero *Stevia* que está contido na família Asteraceae e na tribo Eupatoriae, englobando cerca de 240 espécies. Dentre estas espécies, existem muitas que possuem compostos com potencial adoçante, no entanto, a estévia é considerada a mais doce delas (SINGH et al., 2012).

A estévia é muito conhecida por suas características de planta adoçante. A estévia contém em suas folhas e caules, glicosídeos de esteviol. A quantidade de glicosídeo de esteviol é mais elevada nas folhas das plantas de estévia. O glicosídeo de esteviol é muito doce, sendo de 100 a 450 vezes mais doce quando comparado à sacarose (Cramer & Ikan, 1986), não tem calorias e apresenta um índice glicêmico zero (Pérez et al., 2016).

O uso da estévia pode auxiliar na regulação da pressão arterial, no combate às cáries, pode induzir o pâncreas a produzir mais insulina. Essa planta possui propriedades antimicrobianas, antioxidantes e propriedades de inibição da alfa-amilase. Benéfica em auxiliar tratamentos de pele como, dermatite, rugas, manchas, cicatrizes, erupções cutâneas, entre outras. Seu uso é recomendado para pessoas portadores de diabetes, especificamente do tipo 2 e pessoas com obesidade, que podem utilizar como uma melhor alternativa de adoçante (HOSSAIN et al., 2017; MAHMUD et al., 2015).

Para produção de estévia, em campo, é imprescindível uma elevada densidade populacional, ou seja, uma grande quantidade de plantas por hectare, notadamente entre 70 e 100 mil plantas por hectare (Kassahun et al., 2014; Parris, Shock e Qian, 2016). Esse aspecto demonstra a importância de uma grande produção de sementes para formação das áreas a serem implantadas com estévia. E, também, torna mais urgente a necessidade de obtenção de genótipos superiores, os quais apresentem uma maior produção de rebaudiosídeo-A por planta e que tenham uma maior uniformidade de plantas.

Yadav et al. (2015) relataram a ocorrência do fenômeno da autoincompatibilidade para a planta de estévia. E essa condição resulta em uma maior diversidade genética observada entre os indivíduos proveniente do cruzamento natural que ocorre entre as plantas, uma vez que essa característica (autoincompatibilidade) condiciona às plantas a alogamia (fecundação cruzada).

A reduzida quantidade de informação a respeito da diversidade genética de diversas espécies vegetais compromete em grande parte os progressos nas ciências

agrárias, especialmente avanços na domesticação e nos programas de melhoramento das culturas, de modo geral. Uma das significativas dificuldades no estudo de espécies vegetais ainda não melhoradas geneticamente, como a estévia, é a carência de informação sobre a sua variabilidade genética.

Neste trabalho, objetivou-se selecionar genótipos superiores de estévia para obter novas populações de melhoramento com base na distância genética estimada com base em características agronômicas.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi estabelecido em campo na área experimental da Embrapa Cerrados, em Planaltina, no Distrito Federal em dezembro de 2020. A região administrativa de Planaltina, segundo a classificação de Köppen, apresenta uma altitude de 1.007 m., conforme as coordenadas geográficas 15° 35' 30'' de latitude Sul e 47° 42'00'' de longitude a Oeste de Greenwich. A região possui um clima segundo a classificação de Köppen AW Tropical estacional de savana megatérmico com temperatura média do mês mais frio acima de 18,0° C. Apresenta precipitação média anual de 1.400 mm concentrada no período de outubro a março. O período seco varia de cinco a seis meses (abril a setembro) as médias de temperatura máxima e mínima são de 26,4° C e 15,9° C, respectivamente. Possui declividade de 0 a 5%. E com predomínio de solos do tipo Latossolo Vermelho Escuro e Latossolo Vermelho Amarelo, que juntos representam 84% da área.

Tabela 1. Genótipos superiores selecionados de *Stevia rebaudiana* Bertoni. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2023.

Genótipo	Descrição
Genótipo 1	Seleção CPAC-01
Genótipo 2	Seleção CPAC-02
Genótipo 3	Seleção CPAC-03
Genótipo 5	Seleção CPAC-05
Genótipo 6	Seleção CPAC-06
Genótipo 7	Seleção CPAC-07
Genótipo 8	Seleção CPAC-08
Genótipo 9	Seleção CPAC-09
Genótipo 10	Seleção CPAC-10
Genótipo 11	Seleção CPAC-11
Genótipo 13	Seleção CPAC-13
Genótipo 14	Seleção CPAC-14
Genótipo 15	Seleção CPAC-15
Genótipo 16	Seleção CPAC-16
Genótipo 17	Seleção CPAC-17
Genótipo 18	Seleção CPAC-18
Genótipo 19	Seleção CPAC-19
Genótipo 21	Seleção CPAC-21

Na instalação do experimento, um total de 24 genótipos superiores de estévia (genótipos descritos na Tabela 1), (CASTRO et al., 2022), foi arranjado em campo no Delineamento Experimental de Blocos Casualizados (DBC) com quatro blocos. Cada parcela experimental foi composta por três plantas.

Previamente, as mudas dos genótipos superiores de *S. rebaudiana* foram obtidas, utilizando a propagação do tipo vegetativa pela técnica da estaquia. Esse procedimento foi realizado logo após o último ciclo de seleção das plantas de estévia que ocorreu no mês de abril de 2020. Esse tipo de propagação vegetativa por meio de estacas foi escolhido para manter a integridade dos genótipos selecionados na etapa de experimentação anterior, ou seja, no último ciclo de seleção dos genótipos.

As plantas de estévia, os genótipos superiores, selecionadas foram clonadas para dar origem as novas plantas para instalação deste experimento. Para tanto, foram obtidas das plantas matrizes estacas herbáceas variando de 5 a 8 cm foram retiradas da parte aérea das plantas matrizes.

Em um processo realizado dispendo de muita agilidade, as estacas foram cortadas e imediatamente colocadas em bandejas de células (bandejas de poliestireno expandido, com 50 células e volume de cada célula de 90 cm³) preenchidas com substrato úmido, no ponto de capacidade de campo. O substrato utilizado foi o comercial conhecido como Carolina Soil[®]. Esse substrato apresenta como características básicas: composição de turfa de sphagnum, vermiculita expandida, calcário dolomítico, gesso agrícola e fertilizante NPK (traços); potencial hidrogenionico (pH) de 5,5 ± 0,5; condutividade elétrica (EC) de 0,7 ± 0,3; densidade de 145 kg/m³ e capacidade de Retenção de Água (CRA) de 55%.

As estacas foram acondicionadas e mantidas em casa de vegetação por 60 dias. Logo após esse período, as mudas foram aclimatadas em condições ambiente (também conhecido como período de rustificação de mudas, ou seja, a adaptação das mudas às oscilações da radiação solar é de vital importância para se garantir o maior índice de sobrevivência do plantio em campo), fora da casa de vegetação por um período equivalente a 15 dias. Logo em seguida, as plantas foram transplantadas para o campo e distribuídas conforme o sorteio realizado para o delineamento dos blocos ao acaso.

Cerca de três meses após a instalação do experimento em campo foi realizada uma poda para homogeneização do tamanho das plantas de estévia em campo. A poda

de homogeneização foi realizada buscando minimizar alguma possível diferença que possa ter surgido a partir de algum estresse sofrido pelas plantas durante a formação das mudas e no momento da implantação do experimento em campo.

Em torno de quatro meses após a instalação do experimento em campo e um mês e meio após a realização da poda de homogeneização foi efetuada a primeira contagem do florescimento das plantas e essas avaliações foram praticadas por dois anos seguidos, de abril de 2021 até abril de 2022. Foram executadas quatro avaliações durante todo período de experimentação, sendo realizados cinco cortes, o primeiro para homogeneização e os demais foram cortes para avaliação das plantas em campo.

Durante todo o período de experimentação foram realizados quatro cortes da parte aérea das plantas para avaliação do rendimento das plantas em campo. O primeiro corte foi realizado cinco meses após a implantação do experimento, em 13/05/2021, o segundo após 10 meses, em 25/10/2021, o terceiro após 14 meses em 14/02/2022 e o quarto e último corte realizado após 16 meses em 12/04/2022.

No decurso de toda etapa de experimentação foram analisadas as seguintes variáveis: NDF = Número de dias até o florescimento; ALT = Altura em cm; PER = número de Perfilhos; FMV = Fitomassa Verde em gramas; FMS = Fitomassa Seca em gramas; FOS = massa das folhas secas em gramas; composto rebaudiosídeo (Reb-A) e total glicosídeos de esteviol (TSG % peso).

Para análise do período juvenil de cada genótipo foi considerado o número de dias requerido para o florescimento de cada genótipo (NDF). Para tanto, foi realizado um acompanhamento em campo, a cada dois dias, para observação visual do florescimento das plantas ou do aparecimento dos botões florais. O florescimento pleno foi considerado a partir do lançamento de aproximadamente 50% das flores de uma mesma planta.

Em todas as etapas de avaliação, imediatamente antes da realização de cada um dos quatro cortes, foi feita a mensuração da altura de plantas, por meio de medição direta das plantas, considerando a altura do nível do solo ao topo da planta. A avaliação do número de brotações ou de perfilhos por planta (PER) foi realizada por meio da contagem manual após cada corte das plantas realizado em campo. Assim, como a avaliação da fitomassa fresca (FMV) e fitomassa seca de plantas (FMS). Para avaliação da massa verde de plantas foi realizada uma pesagem de cada planta, em campo, no momento do corte. Após essa etapa, as plantas foram acondicionadas em sacos de papel e levadas para estufa de ventilação forçada a uma temperatura de 60 °C por 48 horas,

aproximadamente. Após a mensuração da fitomassa seca de planta foi realizada a retirada de todas as folhas e feita a pesagem das mesmas para avaliação da fitomassa seca de folhas (FOS) em gramas. Em todas as etapas de pesagem foi utilizada balança de precisão (0,01g).

Foram avaliadas, também, as características compostas rebaudiosídeo-A (REB-A) em porcentagem e Total glicosídeos de esteviol (TSG). Para tanto, foram enviadas folhas secas dos nove genótipos superiores para avaliação do rendimento de rebaudiosídeo A em porcentagem e TSG (Total glicosídeos de esteviol) em porcentagem/peso. Para compor cada amostra dos nove genótipos avaliados, coletou-se em campo a parte aérea dos mesmos em cada um dos quatro blocos de forma individual. As folhas enviadas para análise foram previamente secas em estufa de ventilação forçada por 72 horas a uma temperatura de 60 °C, as folhas estavam acondicionadas em sacos de papel. As determinações foram realizadas por HPLC-UV.

Após a obtenção dos dados foram calculadas as distâncias euclidianas médias entre cada par de genótipo, do seguinte modo: $x_{ij} = X_{ij}/S(X_j)$, em que $S(X_j)$ é o desvio-padrão dos dados do j-ésimo caráter; então: $d_{ij} = \sqrt{1/n \sum_j (x_{ij} - x_{ij})^2}$. Em que d_{ij} é a distância euclidiana média baseada em dados padronizados e n é o número de caracteres analisados.

As características analisadas foram variáveis quantitativas. Com auxílio do programa Genes (CRUZ, 2013) foi calculada a estatística descritiva das variáveis estudadas. Com auxílio do mesmo programa foi estimada a contribuição relativa dos caracteres para divergência – SINGH (1981), o cálculo foi feito com as médias não padronizadas.

Ainda quanto à avaliação estatística do experimento, foi confeccionada a matriz de dissimilaridade entre os 24 acessos a partir das oito variáveis analisadas, com o auxílio do programa Genes (CRUZ, 2013), usando o coeficiente de dissimilaridade para variáveis quantitativas (Distância Euclidiana Média). Também usando o programa Genes, foi calculado o Coeficiente de correlação cofenético, entre a Matriz de distâncias originais e a Matriz de distâncias gráficas. A padronização dos dados foi realizada pelo programa Genes, pela fórmula: $Z_{ij} = X_{ij} S_j^{-1}$ (CRUZ, 2013).

Com o auxílio do programa Genes, foi gerado o dendrograma de dissimilaridade, pelo método UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean/Método não ponderada Grupo Par com Média Aritmética). Foi realizada também a dispersão

gráfica baseada em escalas multidimensionais usando o método das coordenadas principais, com auxílio dos Genes (CRUZ, 2013).

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quanto à estatística descritiva das variáveis (Tabela 2), observou-se que os maiores valores, tanto para o máximo, mínimo e médio foram apresentados pela variável fitomassa verde em gramas (FMV). Segundo Pereira (2014) essa é uma característica buscada por pesquisadores, que desejam alcançar resultados satisfatórios em relação à produtividade da cultura, especialmente a produção de biomassa.

Assim como praticamente todas as espécies vegetais apresentam suas peculiaridades ecofisiológicas, a planta de estévia, também, possui suas exigências específicas quanto as características edafoclimáticas. Porém, Cortés (2012), analisando o crescimento do cultivo de estévia, relatou que essa planta 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, podem afetar positiva ou negativamente o seu poder adoçante, ou seja, produzindo mais ou menos REB-A.

Tabela 2. Estatística descritiva de cada variável (máximo, mínimo e médio), calculados pelo Programa Genes, Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2024.

Variável	Máximo	Mínimo	Médio
NDF	82,00	67,25	73,37
ALT	64,76	46,93	54,80
PERF	47,94	10,42	23,83
FMV	325,50	58,00	180,72
FMS	84,05	16,90	51,01
FOS	42,95	8,28	22,96
REB-A	64,11	0,00	27,58
TSG	10,08	0,10	6,00

Legenda: Número de dias para o florescimento (NDF), altura (ALT) em centímetros, perfilhamento (PERF), fitomassa verde em gramas (FMV), fitomassa seca em gramas (FMS) e folhas secas em gramas (FOS), Composto rebaudiosídeo-A (REB-A) e Total glicosídeos de esteviol (TSG).

O valor médio apresentado pela variável altura (ALT) foi 54,80 cm. Midmore e Rank (2002) afirmam que plantas de estévia quando cultivadas em solos onde as

condições são mais adequadas ao seu crescimento e desenvolvimento, como por exemplo, com pH ligeiramente superior e boa drenagem, pode alcançar uma altura de cerca de 1 metro ou até mais. Os solos onde a *S. rebaudiana* 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 (COURELAS, 2013).

O solo ideal para cultivo de estévia 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 oxigênio, a resistência do desenvolvimento do sistema radicular, a maior ou menor capacidade de retenção de umidade no solo ou a resistência à lixiviação de nutrientes (TORRES e GUEVARA, 2004). O local onde foi instalado o experimento apresenta solo profundo do tipo Latossolo Vermelho-Amarelo, com textura média, sendo considerado um solo ideal para o cultivo da estévia.

Outro fator importante para o crescimento da estévia é a temperatura, na região de desenvolvimento da pesquisa, o clima dominante na região é o tropical-quente-subúmido com temperatura média anual apresentando amplitude variando de 15,6 °C a 28,1 °C (SANO et al., 2020). Para um adequado crescimento das plantas de estévia, o ideal é que as temperaturas variem entre 15 °C e 30 °C, mas preferencialmente entre os 24 °C e os 28 °C (GRASSI et al., 2009; VILLA e CHIFA, 2006). Essas informações reforçam que as características da região do Cerrado são ideais para produção de estévia.

Para a variável fitomassa seca em gramas (FMS) foi observado um valor médio de 51,01 g e para a variável folhas secas em gramas (FOS) um valor máximo de 42,95 g. Courelas (2013), objetivando avaliar a adaptação da estévia às condições mediterrânicas quanto à produção de biomassa, constatou 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.

Os menores valores máximo, mínimo e médio foram apresentados pela variável total glicosídeos de esteviol (TSG). A percentagem de glicosídeos na planta de estévia oscila entre 7 e 16 % do peso total de folhas secas (BERNARDI, 2012). Essa característica pode variar muito a depender do genótipo avaliado, das condições edafoclimáticas (que está diretamente relacionada com a região de cultivo) e da forma de manejo adotada (SHARMA et al., 2016; SINGH et al., 2015; BERNARDI, 2012).

No presente estudo, as avaliações do composto rebaudiosídeo-A (REB-A) e do total glicosídeos de esteviol (TSG) foram realizadas após cada corte das plantas, ou seja, após a floração máxima das plantas, essas duas variáveis possivelmente poderiam atingir maiores valores médios. Considerando que Bawane et al. (2012) afirmam que na planta de estévia como um todo, ou seja, considerando todas as partes da planta, o teor de glicosídeos totais tende a acumular-se à medida que a idade avança, assim as folhas mais velhas têm mais conteúdo edulcorante em comparação com as folhas mais jovens. Uma vez que os cloroplastos são importantes precursores em síntese, os tecidos desprovidos de clorofila, como raízes e caules inferiores, não contêm traços de glicosídeos (BAWANE et al., 2012).

Na Tabela 3, é possível observar a contribuição relativa de cada variável para a variação total observada. Dentre os caracteres agronômicos avaliados, a variável fitomassa verde em gramas (FMV) foi a característica que mais contribuiu para a divergência genética (82,88%) observada entre os acessos estudados. Já para as duas características químicas estudadas, o composto rebaudiosídeo-A se destacou, contribuindo com 8,05% para a variação total encontrada.

Tabela 3. Contribuição relativa dos caracteres para divergência – SINGH (1981), cálculo realizado com médias não padronizadas pelo Programa Genes, Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2024.

Variável	S.j	Valor (%)
NDF	10127,13	0,34
ALT	11984,43	0,40
PERF	35675,83	1,19
FMV	2475713,35	82,88
FMS	166155,15	5,56
FOS	40024,55	1,34
REB-A	240382,84	8,05
TSG	7131,30	0,24

Legenda: Número de dias para o florescimento (NDF), altura (ALT) em centímetros, perfilhamento (PERF), fitomassa verde em gramas (FMV), fitomassa seca em gramas (FMS) e folhas secas em gramas (FOS), Composto rebaudiosídeo-A (REB-A) e Total glicosídeos de esteviol (TSG).

Tomando como base a análise da importância de caracteres é possível classificar as variáveis estudadas de acordo com sua respectiva contribuição para a diversidade genética observada e, também é possível, se for o caso, eliminar aquelas que apresentem

menor contribuição para a variação total observada. O estudo de diversidade genética entre um conjunto de acessos é realizado a partir de um conjunto de informações que, em muitos casos, precisa da avaliação de um elevado número de caracteres, requerendo, assim, uma elevação nos custos operacionais (CRUZ e REGAZZI, 2001).

Em estudos com muitas variáveis, quase sempre, é necessário avaliar a importância de cada um deles para a diversidade, identificando-se aquelas que menos contribuem, sendo recomendável sua eliminação em estudos futuros almejando uma redução de tempo e custos para confecção das avaliações. No presente estudo, foram avaliadas oito variáveis, que não causaram elevações significativas nos custos operacionais. Embora a variável fitomassa verde em gramas (FMV) tenha sido a que mais contribuiu com a variação total observada, não se recomenda a retirada de nenhuma das demais características em estudos futuros.

Na Tabela 4, está o Coeficiente de correlação cofenético (CCC) entre a matriz de distâncias originais e a matriz de distâncias gráficas (0,69), sendo que quanto mais próximo de um (1) menor a distorção entre as matrizes. O valor encontrado (0,69) foi relativamente baixo, indicando que não houve uma alta correlação entre a Matriz das distâncias gráficas e a Matriz original.

Tabela 4. Coeficiente de correlação cofenético entre a Matriz de distâncias originais e a Matriz de distâncias gráficas, calculado pelo Programa Genes, Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2024.

Estatística	Valor
Correlação cofenética (CCC)	0,69
Probabilidade	0,0**

Os genótipos avaliados apresentaram alta divergência genética entre si (Tabela 5), indicando que existe uma vasta possibilidade de cruzamentos entre os genótipos estudados, ou seja, existe uma ampla possibilidade de combinações entre os genótipos. Os valores de dissimilaridade genética calculados pelo coeficiente da distância euclidiana média variaram de 0,31 até 2,36, sendo o valor mínimo e máximo da distância genética observada entre os genótipos.

Os valores de dissimilaridade genética observados no presente estudo reforçam o que foi observado no processo de determinação da biologia da reprodução em estévia por Ballvé (1992), que apresentaram resultados que confirmaram a então hipótese de reprodução sexuada dessa espécie (*S. rebaudiana*). Relatores anteriores a confirmação de Ballvé (1992), baseados em trabalhos que levavam em consideração apenas as características morfológicas da flor, haviam concluído que a espécie possuía reprodução assexuada (apomítica). Contudo, os resultados contrários obtidos com variantes de fosfatase ácida (ACP), esterase (EST), glutamato oxaloacetato transaminase (GOT) e peroxidase (PO), além dos de leucina aminopeptidase (LAP), fosfoglicico isomerase (PGI) e fosfoglicomutase (PGM) detectaram variação isozimática entre e dentro de progênies individuais, o que confirmou a reprodução sexuada, principalmente pela produção de sementes de forma alógama.

Em vista desses resultados, infere-se que seu sistema reprodutivo é muito mais favorável às fecundações cruzadas e menos apto aos eventos de autofecundações. Lima Filho, Valois e Lucas (2004) relatam que as flores de estévia são hermafroditas e com polinização cruzada. Essas plantas classificadas como alógama, com reprodução sexuada, são caracterizadas pela heterozigose, apresentando heterose e endogamia.

A grande divergência genética observada no presente estudo já foi relatada por outros autores (SIVARAM e MUKUNDAN, 2003; TAMURA et al., 1984; NAKAMURA e TAMURA, 1985), que relacionam essa variabilidade genética à propagação seminífera, produzidas por cruzamentos aleatórios. Esses mesmos autores esclarecem que a propagação por sementes resulta em uma grande variabilidade na população e nos níveis de glicosídeos.

A quantificação da dissimilaridade genética é um dos mais importantes parâmetros estimados pelos pesquisadores que trabalham com melhoramento de espécies vegetais, especialmente quando o objetivo é a obtenção de segregantes transgressivos e populações de ampla variabilidade genética (BENIN et al., 2003). E dentre as medidas de dissimilaridade mais utilizadas para estimar a diversidade genética está a distância Euclidiana média em variáveis quantitativas (BRANDÃO 2011), corroborando a escolha realizada neste estudo.

Tabela 5. Matriz de dissimilaridade genética entre 24 genótipos de estévia, com base nas variáveis: Número de dias para o florescimento (NDF), altura (ALT) em centímetros, perfilhamento (PERF), fitomassa verde em gramas (FMV), fitomassa seca em gramas (FMS) e folhas secas em gramas (FOS), Composto rebaudiosídeo-A (REB-A) e Total glicosídeos de esteviol (TSG) usando como medida de dissimilaridade a distância euclidiana média, confeccionada usando o Programa Genes. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2024.

Nº	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	
2	0,47																							
3	0,76	0,43																						
4	1,08	1,30	1,32																					
5	0,59	0,52	0,82	1,11																				
6	0,44	0,58	0,91	1,08	0,43																			
7	0,47	0,87	1,12	1,01	0,83	0,59																		
8	0,72	0,99	1,09	0,53	0,78	0,73	0,71																	
9	1,32	1,03	0,77	1,71	1,42	1,39	1,58	1,63																
10	1,03	0,69	0,65	1,83	1,03	1,13	1,43	1,46	1,14															
11	0,63	0,97	1,29	1,06	0,74	0,59	0,37	0,75	1,77	1,55														
12	1,43	1,80	1,92	0,87	1,60	1,44	1,07	1,01	2,24	2,36	1,09													
13	0,61	0,55	0,68	1,10	0,65	0,67	1,00	0,89	1,22	1,01	1,07	1,74												
14	0,86	0,69	0,67	1,43	0,97	0,99	1,30	1,22	1,15	0,89	1,42	2,08	0,40											
15	0,67	0,93	0,95	1,11	1,15	0,93	0,82	0,88	1,36	1,28	1,12	1,48	0,84	0,92										
16	0,74	0,34	0,53	1,36	0,50	0,71	1,08	1,12	1,05	0,79	1,10	1,92	0,66	0,80	1,23									
17	0,81	1,04	1,22	0,75	0,68	0,71	0,74	0,37	1,78	1,51	0,62	1,06	1,06	1,41	1,18	1,11								
18	0,66	0,82	0,90	1,05	1,06	0,84	0,76	0,99	1,13	1,38	1,02	1,42	0,76	0,92	0,60	1,03	1,21							
19	0,94	0,79	0,83	1,37	1,08	1,07	1,16	1,34	0,88	1,32	1,28	1,84	0,86	0,95	1,19	0,81	1,46	0,70						
20	1,22	1,35	1,50	0,82	1,14	1,09	1,08	1,02	1,71	2,00	0,98	1,04	1,27	1,64	1,51	1,31	1,01	1,13	1,18					
21	0,42	0,63	1,03	1,28	0,57	0,47	0,65	0,94	1,58	1,18	0,60	1,58	0,69	0,97	1,00	0,79	0,93	0,89	1,05	1,25				
22	0,58	1,02	1,26	1,14	1,07	0,78	0,35	0,88	1,68	1,54	0,63	1,16	1,06	1,30	0,68	1,29	1,00	0,71	1,25	1,28	0,74			
23	0,65	1,04	1,25	1,26	1,13	0,87	0,39	0,95	1,67	1,48	0,71	1,23	1,21	1,41	0,75	1,32	1,03	0,87	1,36	1,44	0,88	0,31		
24	1,11	1,31	1,40	0,45	1,07	1,09	1,03	0,74	1,76	1,91	0,97	0,93	1,13	1,49	1,32	1,31	0,83	1,09	1,23	0,48	1,21	1,20	1,36	

A maior divergência genética (2,36) foi observada entre os acessos CPAC-10 e CPAC-12. Tavarini, Passera, Angelini (2018) e Wölwer-Rieck (2018) relatam a importância da existência da divergência genética entre os genótipos de estévia e sua relevante função no momento da seleção dos genitores com maior variabilidade genética para diferentes características de interesse do melhoramento de plantas no momento da organização dos futuros cruzamentos para obtenção de genótipos superiores.

A compreensão do grau de divergência genética entre indivíduos ou populações de vegetais é de grande importância nos programas de melhoramentos genéticos que envolvem dentre outras etapas a hibridação, pois consegue auxiliar ou fornecer parâmetros para a identificação de genitores que proporcionem maior efeito heterótico na progênie, uma maior probabilidade de obtenção de genótipos com melhores características agronômicas em gerações segregantes e híbridos geneticamente superiores (PASSOS et al., 2007).

É válido ressaltar que a divergência genética deve ser sempre buscada entre os melhores genótipos, ou seja, deve ser realizada uma seleção prévia, buscando alcançar características desejáveis do ponto de vista agrônomo e químico, no caso da estévia. E, posteriormente uma nova avaliação deve ser feita dentre os genótipos superiores mais divergentes e a partir daí buscar-se-á os melhores genótipos para participarem dos cruzamentos, para então, originarem as populações melhoradas.

Muitos pesquisadores tomam a diversidade genética como critério básico para a escolha de genitores, de modo assertivo, em programa de melhoramento genético de diversas espécies vegetais, visando geração de populações segregantes com caracteres de interesse (MALUF et al., 1983; MIRANDA et al., 1988; DIAS e KAGEYAMA, 1997, VIDIGAL et al., 1997, RIBEIRO et al., 1999 e FERRÃO et al., 2002).

Com base nas oito variáveis levantadas nos 24 genótipos superiores de estévia foi obtido o dendrograma por meio do método hierárquico UPGMA (Figura 1). Quando submetido a um ponto de corte baseado no critério global de Mojena (1977), observa-se que a menor distância genética foi estabelecida entre os genótipos CPAC-22 e CPAC-23 (0,31). Enquanto entre as seleções CPAC-01 e CPAC-04 foi observada a maior magnitude de distância genética, sendo, portanto, os genótipos mais dissimilares entre si. O segundo maior valor para a distância foi observado entre os acessos CPAC-01 e CPAC-02.

Observou-se pelo critério global que seria viável realizar um ponto de corte na distância genética de 84,11 no dendrograma (Figura 1) e separar os acessos em três diferentes grupos. Sendo assim, no primeiro grupo ficaram agrupados os genótipos CPAC-22, CPAC-

23, CPAC-7, CPAC-11, CPAC-01, CPAC-21, CPAC-05, CPAC-06, CPAC-08, CPAC-17, CPAC-15 e CPAC-18. No segundo grupo ficaram os genótipos CPAC-13, CPAC-14, CPAC-02, CPAC-16, CPAC-03, CPAC-10, CPAC-09 e CPAC-19. O terceiro grupo foi formado pelos acessos CPAC-04, CPAC-24, CPAC-20 e CPAC-12.

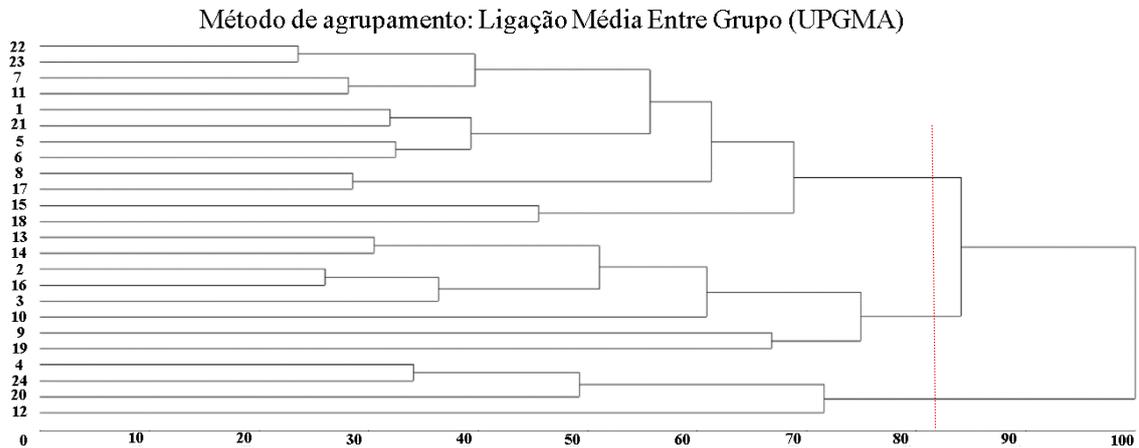


Figura 1. Dendrograma de dissimilaridade, para 24 acessos de *Stevia rebaudiana* Bertonii, construído a partir de oito variáveis fenotípicas, usando como medida de dissimilaridade a distância euclidiana média, confeccionado usando o Programa Genes, Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2024.

Levando em consideração a distribuição dos genótipos avaliados na dispersão gráfica (Figura 2), houve uma formação bem próxima do que foi observado na Figura 1 (Dendrograma), no qual houve a separação dos genótipos estudados em três grupos distintos. Esses ficaram bem distribuídos, apenas o grupo I, concentrou o maior número de acessos. Mas pode-se considerar uma diversidade genética bem distribuída entre as seleções estudadas.

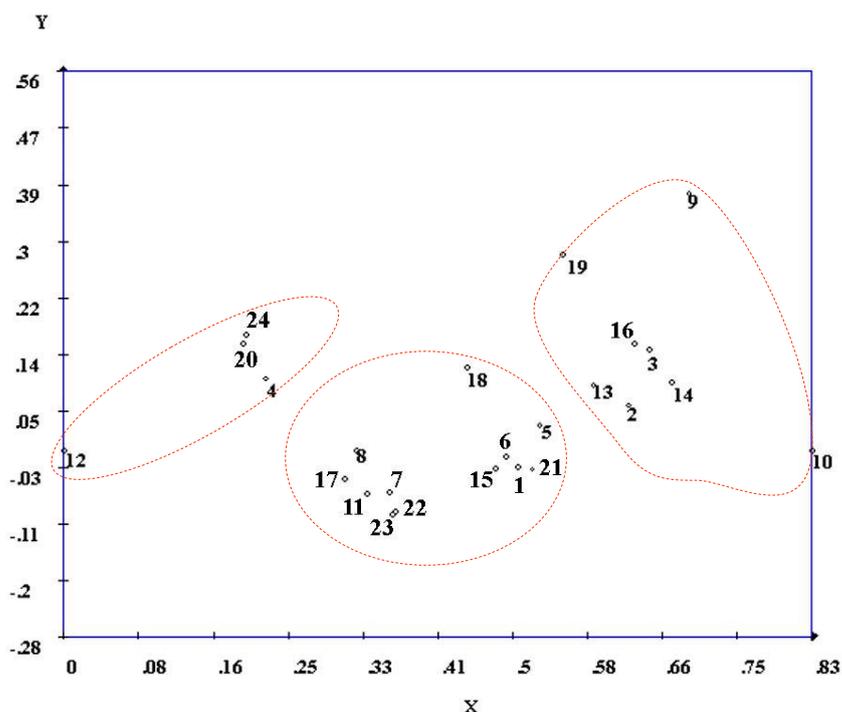


Figura 2. Dispersão gráfica para 24 acessos de *Stevia rebaudiana* Bertonii, construído a partir de oito variáveis, usando como medida de dissimilaridade a distância euclidiana média, confeccionado usando o Programa Genes, Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2024.

Pela formação de três grupos distintos há possibilidade de cruzamentos direcionados entre acessos de grupos distintos, pois os genótipos mais distantes geneticamente ficaram agrupados em grupos distintos. Levando em consideração, que o grupo 1 é o mais homogêneo entre si e mais dissimilar em relação aos demais grupos formados. E por outro lado, existe a possibilidade do desenvolvimento de variedade de polinização aberta. Essa opção, de modo particular, tem uma grande vantagem em relação à opção anterior. Na formação de variedade de polinização aberta é dispensada a etapa de cruzamento direcionado, manejo esse que onera muito os programas de melhoramento genético vegetal.

Considerando o sistema reprodutivo das plantas de estévia, pode-se uma opção mais viável o desenvolvimento de variedade de polinização aberta. Para composição dessa variedade de polinização aberta de estévis, poderá ser realizada, tanto utilizando todos os genótipos selecionados ou uma parte deles, tendo como critério de seleção os mais divergentes ou os mais similares a critério do pesquisador. Tendo em vista, que essas cultivares apresenta uma maior adaptabilidade, o que é uma característica desejada e mais vantajosa para o produtor no momento do manejo.

Devido às características levantadas na literatura e observadas durante toda etapa de condução dos experimentos em campo com a *S. rebaudiana* na Embrapa Cerrados foi possível inferir que um dos principais métodos para obtenção de seleções superiores é o desenvolvimento de cultivares de polinização aberta ou variedade de polinização aberta para uso “*per se*” ou para extração de linhagens. Esse último requer procedimentos mais trabalhosos devido ao tamanho reduzido das estruturas das estruturas florais da estévia, o que tornaria o trabalho mais meticuloso e conseqüentemente mais moroso e, também, mais oneroso.

Considerando que a cultura da estévia vem já há algum tempo representando uma boa oportunidade para a agricultura, trabalhos como este é de extrema importância para o desenvolvimento e posicionamento de variedade com genética superior para a sociedade como um todo. Pois, com o desenvolvimento de seleções mais produtivas os produtores terão mais rendimento e os consumidores terão mais opções de consumo. Com isso, Brandle et al. (1998) enfatizaram que, por se uma nova opção para a agricultura, a gestão da cultura e a respectiva produção devia ser melhorada e otimizada.

4.4 CONCLUSÃO

Existe uma diversidade genética significativa entre os genótipos de estévia analisados o que possibilitou a formação de três grupos distintos favorecendo o cruzamento entre acessos que formam esses grupos e, também, a possibilidade do desenvolvimento de novas populações de polinização aberta tendo em vista o avanço do programa de melhoramento genético da estévia.

4.5 REFERÊNCIAS

BALLVÉ, R. M. L. Marcadores isoenzímicos e biologia da reprodução de *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni. Campinas, SP: UNICAMP. 106p. **Tese** (Doutorado em Biologia) - Universidade Estadual de Campinas, 1992.

BAWANE A. A.; GOPALAKRISHNA B.; AKKI K. S.; TIWARI O. An Overview on Stevia: A Natural Calorie Free Sweetener. International Journal of Advances in Pharmacy, **Biology and Chemistry**, v. 11, n. 3, p. 362-368, 2012.

BENIN, G. et al. Comparações entre medidas de dissimilaridade e estatística multivariadas como critérios no direcionamento de hibridações em aveia. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, p. 657 - 662, 2003.

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

BRANDÃO, L. P. Seleção de descritores morfoagronômicos em bananeira por meio de procedimentos uni e multivariados. **Dissertação** (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais). Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. 69p. 2011.

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

CASTRO, F. C.; FALEIRO, F. G.; OLIVEIRA, J. S.; AMABILE, R. F.; MELO, J. V. P. Selection of stevia elite genotypes aiming at the development of cultivars adapted to the Brazilian Savanna. **Revista colombiana de ciencias hortícolas**, v. 16, n. 3, e14727, 2022.

CORTÉS, J. E. C. **Análisis de crecimiento del cultivo de stevia (*Stevia rebaudiana*) con proyección agroindustrial en el valle del cauca**. Universidad de San Buenaventura Cali Facultad de Ingeniería Programa de Ingeniería Agroindustrial Santiago de Cali, 84P, 2012.

COURELAS, J. P. C. Avaliação da Adaptação da Espécie *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni às Condições Mediterrânicas (**Dissertação**). Universidade de Évora Escola de Ciência e Tecnologia Departamento de Fitotecnia, Évora, 2013.

CRAMER, B.; IKAN, R. Sweet glycosides from the stevia plant. **Chemistry in Britain**, v. 22, n. 10, p. 915–917, 1986.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Métodos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa; UFV: Imprensa Universitária, 2001. 390p.

DIAS, L. A. S.; KAGEYAMA, P. Y.; CASTRO, G. C. T. Divergência genética multivariada na preservação de germoplasma de cacau (*Theobroma cacao* L.). **Agrotrópica**, Itabuna, v. 9, p. 29 - 40, 1997.

FERRÃO, M. A. G. et al. Divergência genética em feijoeiro em condições de inverno tropical. **Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, p. 1089-1098, 2002.

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

HOSSAIN, F. M.; ISLAM, M. T.; ISLAM, M. A.; AKHTAR, S. Cultivation and uses of stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni): A review. **African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development**, v. 17, n. 04, p. 12745–12757, 2017.

KASSAHUM, B. M.; NURHUSAIN, H.; GEBREMESKEL, H.; MEKONNEN, S. A.; DAMTEW, Z.; PHILIPPOS, M.; MELKA, B.; NIIDE, T. Stevia production guidelines. Ethiopian Institute of Agricultural Research, Ethiopia, 2014. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Beemnet-Kassahun/publication/284486767_Stevia_Production_Guideline/links/56540b2d08ae4988a7afc7f3/Stevia-Production-Guideline.pdf. Acessado em: 17 de março de 2024.

LIMA FILHO, O. F.; VALOIS, A. C. C.; LUCAS, Z. M. (Ed.). **Estévia**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste; Steviafarma Industrial S/A, (Embrapa Agropecuária Oeste. Sistemas de Produção, 5), p. 1-59, 2004.

MAHMUD, S.; AKTER, S.; JAHAN, I. A.; KHAN, S.; KHALEQUE, A.; ISLAM, S. Comparative analyses of stevioside between fresh leaves and in-vitro derived callus tissue from *Stevia rebaudiana* Bert. using HPLC. **Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research**, v. 49, n. 4, p. 199–204, 2015.

MALUF, W. R.; FERREIRA, P. E. Análise multivariada da divergência genética em feijão-de-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 1, n. 2, p. 31 - 34. 1983.

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.

MIRANDA, J. E. C.; COSTA, C. P.; CRUZ, C. D. Predição do comportamento de híbridos de pimentão (*Capsicum annum* L.) pela divergência genética dos progenitores. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v.11, p. 929 - 937, 1988.

MOJENA R. Hierarchical grouping methods and stopping rules: an evaluation. **The Computer Journal**, v. 20, p. 359-363, 1977.

NAKAMURA, S.; TAMURA, Y. Variation in the main glycosides of *Stevia rebaudiana* Bertoni). **Japanese Journal of Tropical Agriculture**, v. 29, n. 2, p. 109–116, 1985.

PARRIS, C. A.; SHOCK, C. C.; QIAN, M. Dry leaf and steviol glycoside productivity of *Stevia rebaudiana* in the Western United States. **HortScience**, v. 51, n. 10, p. 1220-1227, 2016.

PASSOS, A.R. et al. Divergência genética em feijão-caupi. **Bragantia**, v.66, n.4, p.579-586, 2007.

PEREIRA, C. Produtividade de massa seca e edulcorantes em folhas de estévia relacionados à época de colheita. (**Tese**). Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), Santa Maria, RS, Brasil, 2014.

PÉREZ, E.; GONZÁLEZ, C.; VAILLANT, F; LARES, M. Stevia derivative and its potential uses in diabetic-directed foods review. **Journal Nutrients**, v. 3, n. 1, p. 1-20, 2016.

RIBEIRO, F. E.; SOARES, A. R.; RAMALHO, M. A. P. Divergência genética entre populações de coqueiro-gigante-do-Brasil. **Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n 9, p.1615 - 1622, 1999.

SANO, E. E.; BETTIOL, G. M.; MARTINS, E. S.; COUTO JÚNIOR, A. F.; VASCONCELOS, V.; BOLFE, E. L.; VICTÓRIA, D. C. **Características gerais da paisagem do Cerrado**. In: BOLFE, E. L.; SANO, E. E.; CAMPOS, S. K. Dinâmica agrícola do Cerrado: análises e projeções. Brasília: Embrapa, 2020, p. 21-37.

SAS INSTITUTE. **SAS user's guide**: statistic: version 9.1.3. Cary: SAS Institute, 2004. 846 p.

SHARMA, S. et al. Comprehensive review on agro technologies of low-calorie natural sweetener stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni): A boon to diabetic patients. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 6, p. 1867–1879, 2016.

SINGH, A. et al. Medicinal prospective and floral biology of candy leaf (*Stevia rebaudiana* Bertoni). **International Journal of Advanced Research**, v. 3, n. 9, p. 628– 636, 2015.

SINGH, S.; GARG, V.; YADAV, D.; BEG, M. N. In-vitro antioxidative and antibacterial activities of various parts of *Stevia rebaudiana* (Bertoni). **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 3, p. 468-473, 2012.

SIVARAM, L.; MUKUNDAN, U. In vitro culture studies on *Stevia rebaudiana*. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, v. 39, n. 5, p. 520-523, 2003.

STATSOFT, Inc. (2004). **STATISTICA (data analysis software system), version 7.** www.statsoft.com.

TAMURA, Y.; et al. Clonal propagation of *Stevia rebaudiana* Bertoni by stem-tip culture. **Plant Cell Reports**, v. 3, n. 5, p. 183-185, 1984.

TAVARINI, S., PASSERA, B., ANGELINI, L. G. CHAPTER 1: Crop and Steviol Glycoside Improvement in Stevia by Breeding. **Food Chemistry, Function and Analysis**, p. 1-31, 2018.

TORRES, L. D.; GUEVARA, L. G. 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., 2004.

VIDIGAL, M. C. G. et al. Divergência genética entre cultivares de mandioca por meio de estatística multivariada. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 56, p. 263 - 271, 1997.

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.

WÖLWER-RIECK, U. **Steviol Glycosides**. Food Chemistry, Function and Analysis, Royal Society of Chemistry, p.1-32, 2018.

YADAV, A. K.; SINGH, S.; RAJEEV. Self-incompatibility evidenced through scanning electron microscopy and pollination behaviour in *Stevia rebaudiana*. **Indian Journal Agriculture Science**, v. 84, n. 1, p. 93-100, 2014.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dos genótipos superiores de *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni avaliados os genótipos CPAC-02, CPAC-03, CPAC-05, CPAC-06, CPAC-09, CPAC-10, CPAC14 e CPAC16 foram os genótipos mais promissores. Esses genótipos servirão para dar origem a novas populações para o programa de melhoramento genético da Embrapa Cerrados.

Os genótipos de estévia selecionados apresentam variabilidade genética suficiente para geração de novas populações para a continuidade do programa de melhoramento genético da estévia na Embrapa. Além disso, os demais genótipos superiores não selecionados nesse estudo continuarão compondo o banco de germoplasma da espécie na Embrapa Cerrados.

O melhoramento genético da estévia, assim como de outras espécies, vem sendo possível através da estimação de parâmetros genéticos, da caracterização agronômica das plantas e da seleção dos melhores genótipos baseado na variabilidade existente no germoplasma da espécie. A planta ideal, certamente, é difícil de ser alcançada em qualquer cultura, porém os melhoristas buscam desenvolver as cultivares com as características mais desejadas pelo mercado. Desenvolver cultivares de estévia adaptadas as condições de cultivo do Cerrado do Planalto Central e com características que atendam a indústria aliado a um maior período juvenil e com maior produção da parte aérea continuará sendo o objetivo do melhoramento genético de estévia na Embrapa Cerrados.