

Caracteres agronômicos para seleção e melhoramento de genótipos elite de *Artemisia annua* L.

Agronomic characters for selection and improvement of *Artemisia annua* L. elite genotypes

RESUMO

A malária é responsável por centenas de milhares de mortes por ano, sendo considerada como uma das doenças mais sérias que acometem o mundo. Ainda, praticamente todo seu tratamento consiste na administração de terapias combinadas de artemisinina, sendo esta, uma substância extraída quase que exclusivamente da espécie *Artemisia annua* L.. Posto isto, o melhoramento genético que visa o incremento no teor desta substância e de óleo essencial se torna interessante. Portanto, este trabalho objetivou a obtenção de genótipos superiores em rendimento artemisinina e análogos, bem como de óleo essencial em plantas de *A. annua*, utilizando caracteres agronômicos e encontrar suas correlações. O experimento contou com 20 famílias pré-selecionadas dispostas em blocos ao acaso com 5 repetições em solo, que ao atingirem a antese, passaram pelo processo de hidrodestilação. Por conseguinte, obteve-se que, as famílias 2417, 2111, 1728, 2130, 2902, 1315, 213, 631, 1005, 914 e 1107 do cultivar CPQBA 3 são superiores em rendimento de óleo essencial e não diferem estatisticamente entre si. Ainda, não se verificou correlação significativa entre os caracteres agronômicos, excetuando-se massa seca de folhas com massa seca de ramos e relação folha colmo com massa seca de ramos. A análises fitoquímicas ainda não foram realizadas.

PALAVRAS-CHAVE: Malária. Artemísia. Óleos vegetais.

ABSTRACT

Malaria is responsible for hundreds of thousands of deaths per year becoming one of the most relevant diseases in the world. Practically all treatments consists of combined therapies of artemisinin, it being almost exclusively extracted from *Artemisia annua* L.. So the genetical enhancement that focus on the increment of that substance and yield of essential oil becomes interesting. This experiment's objective is the improvement in yield of essential oil, artemisinin and its analogs in plants of *A. annua*, by utilization of agronomic characters and to find theirs correlations. Therefore, the experiment has 20 pre-selected families placed in randomized blocks with 5 repetitions on corrected and irrigated ground, and fertilized on the grave, that, when reached the onset of anthesis, were hydrodistilled. The results were that families 2417, 2111, 1728, 2130, 2902, 1315, 213, 631, 1005, 914 and 1107 of CPQBA 3 cultivar were superior on yield of essential oil and were not statistically diferente from each other. Moreover, the significant correlations among the agronomic

Baruch Ramos Cambui Mariano
baruchrcm@hotmail.com
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, Paraná, Brasil

José Abramo Marchese
abramo@utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, Paraná, Brasil

Silvia Scariotto
silviascariotto@yahoo.com.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, Paraná, Brasil

Lucas Vinicius Dallacorte
lucasv.dallacorte@gmail.com
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, Paraná, Brasil

Recebido: 4 set. 2020.

Aprovado: 01 out. 2020.

Direito autorial: Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



characters were not verified, with the exception of dry leaf mass with dry branch mass and stem leaf relation with dry branch mass. Phytochemical analyzes have not yet been performed.

KEYWORDS: Malaria. Artemisia. Plant oils.

INTRODUÇÃO

A malária, doença proveniente do protozoário de gênero *Plasmodium*, sendo eles *P. falciparum*, *P. ovale*, *P. malariae* e *P. vivax* (ODUGBEMI et al., 2007), é responsável por centenas de milhares de mortes por ano no mundo, principalmente em países de clima tropical e em regiões de subdesenvolvimento, onde o metabolismo do mosquito transmissor é condicionado e segundo Aftab et al. (2013, p.35), esta é umas das doenças mais sérias que acometem o mundo.

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), no ano de 2017, mais de 108 milhões de pessoas foram infectadas pela doença no mundo (WHO, 2020), das quais, aproximadamente 94 mil indivíduos chegaram a óbito (WHO, 2020) e ainda, 70% dos acometidos consistem por crianças de até 5 anos de idade (MSF, 2020). No Brasil, de acordo com o Ministério da Saúde, em 2018 foram notificados mais de 193 mil casos da doença, com preponderância nas regiões Amazônica e Mata Atlântica (SIVEP-MALÁRIA, 2020).

Para seu tratamento, a utilização de monoterapias antimaláricas é desaconselhada pela OMS, visto que já existe números significativos de casos de resistência por parte do plasmódio para muitas substâncias historicamente empregadas, como a cloroquina e a associação entre sulfadoxina-pirimetamina (Schneider et al., 2010). Sendo assim, a OMS afirma que o tratamento mais eficiente e indicado para o combate da doença seja através da utilização de terapias combinadas contendo derivados de artemisinina (Majori, 2004) como o arteéter, arteméter e artesunato de sódio. Estas substâncias permitem novas formas de se ministrar os medicamentos devido aos seus diferentes níveis de solubilidade (Magalhães, 1996, p.8) e que facilitam o processo de recuperação do paciente.

Quanto ao seu óleo essencial, possui ação antimicrobiana para diversas espécies de fungos, como *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae* (VERDIAN-RIZI; E; A; MR; M, 2008) e *Candida krusei* (ÁVAR; MAKSIMOVIĆ; VIDIC; PARIĆ, 2012), bem como para várias espécies de importância fitopatológica, como *Sclerotinia sclerotiorum*, *Botrytis cinérea*, *Phytophthora infestans* e *Verticillium dahliae* que foram testadas na cultura do tomateiro (SOYLU et al., 2005), ainda, é usado até mesmo como conservantes e tempero para bebidas, como vermute (DHINGRA; RAO; NARASU, 1999).

Portanto, o melhoramento genético de cultivares da espécie que visa o incremento do rendimento de artemisinina e óleo essencial, bem como sua adaptabilidade em diferentes regiões, se faz interessante e justifica o trabalho em questão, que pretende avaliar através de caracteres agronômicos os melhores cruzamentos advindos de uma pré-seleção.

Sendo assim, este estudo consiste na continuação do processo de melhoramento, conveniado em parceria com o CPQBA-Unicamp, cujo título de projeto é descrito como “Seleção e melhoramento de *Artemisia annua* L.”, por conseguinte, conta com seus materiais e recursos obtidos pelo seu desenvolvimento, como as sementes utilizadas e selecionadas do cultivar CPQBA 3 e suas respectivas famílias. Ainda, o objetivo deste trabalho foi a obtenção de genótipos superiores em rendimento de óleo essencial em plantas de *A. annua* pré-selecionadas dentro da cultivar CPQBA 3, através da utilização de caracteres agronômicos e encontrar suas possíveis correlações.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido dentro da área experimental do curso de agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná no campus de Pato Branco, longitude 52°36' W, latitude 26°11' S, altitude de 760 metros, com clima descrito pela classificação de Köppen-Geiger por Cfa subtropical. As sementes utilizadas partem das 20 famílias pré-selecionadas com maior concentração de artemisinina do projeto conveniado, que foram semeadas na data 03/08/2019 em bandejas de isopor de 6x12 compostas por células de dimensões aproximadas de largura e comprimento de 5 cm e profundidade de 11 cm, com substrato PLANTMAX sob estufa plástica. Após 7 dias da semeadura, foi feito o raleio das plântulas, onde novamente foram acondicionadas nas bandejas e que ficaram ali até atingirem aproximadamente 20 cm de altura. Posteriormente, foram transferidas ao solo em 01/10/2020 e aplicado em cada planta 100 g de NPK 10-20-20 diretamente na cova. Previamente ao transplante, o solo foi irrigado durante a noite inteira por mangueiras de gotejamento de 2,5 L h⁻¹ no primeiro dia de outubro e a partir daí sua irrigação foi feita a cada 2 dias por 15 dias durante 2 horas, se tornando desnecessário maior tempo de irrigação, já que a cultura estava plenamente estabelecida e começara a chover constantemente.

O delineamento experimental de blocos ao acaso foi utilizado com espaçamentos de 1,5 m entre linhas e 1 m entre plantas. O experimento contou com 20 famílias de plantas dispostas em 4 blocos, totalizando 77 parcelas, dispostas aleatoriamente e com 5 repetições para cada uma, totalizando 385 plantas. Durante a condução do experimento, foi realizado o controle de plantas invasoras através de capina manual até fechamento total das entrelinhas pelo dossel.

As avaliações dos caracteres agronômicos, foram feitas nos dias 19, 20 e 21 de março de 2020 concomitantemente à colheita do material vegetativo, sendo elas: Diâmetro do colmo (DC), altura da planta (AP), diâmetro do dossel na parte média (DD), número de ramos (NR), massa fresca de ramos (MFR), massa seca das folhas (MSF), formato do dossel (FD) e cor do colmo (COR). Para o procedimento de colheita, foi utilizado alicates de corte, onde o material extraído fora colocado sobre lona plástica, evitando assim, possível contaminação, por parte do solo, nas estruturas aéreas da planta, com o objetivo de manter a integridade química dos tecidos para as futuras análises fitoquímicas.

Posteriormente, foi separado de cada planta, individualmente, as folhas de seus respectivos ramos, possibilitando sua pesagem e a obtenção dos dados de MFR. Ainda, o material foliar foi acondicionado em sacolas de papel devidamente identificadas e postas para secagem em câmara, com circulação de ar e temperatura controlada de 40° C até peso constante, onde se obteve o aferimento para os valores de MSF.

Após a colheita, foi selecionada uma planta de cada família e bloco, para sua homogeneidade dentro da família e a distinção entre elas, juntamente com caracteres agronômicos que estão relacionados com a concentração de artemisinina, como número de ramos e volume de dossel (BOLINA, 2013), e assim deixadas com aproximadamente 30 cm de seus ápices para produção de sementes, objetivando a continuação do processo de melhoramento para futuros experimentos.

A destilação do óleo essencial para a avaliações fitoquímicas foi realizada através do aparato Clevenger, no Laboratório de Bioquímica e Fisiologia Vegetal da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus de Pato Branco. A extração seguiu por 3 horas até a exaustão e posteriormente, foi armazenado em microtubos Eppendorf de 2 mL e centrifugados a 10000 RPM por dois minutos. Posteriormente realizou-se a aferição da massa de óleo extraído em balança de precisão para obtenção do rendimento de óleo essencial (ROE), e assim, armazenados em frascos âmbar e acondicionados em geladeira a 4° C.

Foi feito, teste de comparação de médias de Scott-Knott, análise de componentes principais (PCA) e correlações entre parâmetros agronômicos, sendo todas as análises estatísticas e gráficos deste experimento, feitas através da plataforma R (R- 4.0.2.tar.gz, 2020).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os dados resultantes do experimento são demonstrados na Tabela 1, onde é possível identificar as diferenças de produtividade de forma decrescente e respectiva às médias dos caracteres agronômicos das famílias avaliadas.

Tabela 1 - Médias obtidas nos caracteres agrônômicos avaliados nas 20 famílias de *A. annua*.

Família	AP (m)	DD (m)	NR	DC (cm)	MSR (g)	MSF		RFC ^z	Teor (%)	Prod ^x (kg ha ⁻¹)
						(g planta ⁻¹)	(t ha ⁻¹)			
2417	2,44	2,55	16	1,71	789,48	308,72	2,06	0,38	0,81	17,93ay
2111	2,63	3,45	27	1,61	1645,88	451,78	3,01	0,27	0,61	17,74a
1728	2,10	2,08	22	1,10	730,90	189,72	1,26	0,26	0,97	14,43a
2130	2,30	2,70	24	1,33	1015,15	237,80	1,59	0,25	0,84	14,32a
2902	2,02	2,65	15	1,33	690,34	219,11	1,46	0,32	1,23	13,45a
1315	2,23	2,38	14	1,36	726,62	192,77	1,29	0,27	0,90	13,26a
213	2,11	2,80	14	1,28	684,93	227,25	1,51	0,34	0,76	11,84a
631	2,03	2,97	14	1,26	974,37	290,97	1,94	0,38	0,62	10,81a
1005	2,37	2,74	20	1,31	863,15	248,80	1,66	0,30	0,68	10,33a
914	2,26	1,95	17	1,48	623,79	197,86	1,32	0,35	0,76	9,97a
1107	2,32	3,20	31	1,73	297,01	158,31	1,06	0,61	0,84	9,94a
1314	2,12	1,90	22	1,16	643,55	148,68	0,99	0,23	0,78	8,05b
2612	2,35	2,17	19	1,68	775,54	245,94	1,64	0,32	0,43	7,46b
519	2,12	1,93	17	1,04	781,06	219,91	1,47	0,29	0,49	7,34b
1304	2,18	2,60	17	1,33	645,32	187,86	1,25	0,26	0,77	7,29b
1317	2,23	2,00	5	1,08	294,91	99,15	0,66	0,34	1,00	6,64b
2713	2,48	2,60	14	1,32	742,28	192,91	1,29	0,28	0,57	6,21b
1605	2,60	2,87	18	1,53	748,55	175,23	1,17	0,25	0,49	5,90b
2410	2,48	2,53	12	1,54	602,07	126,91	0,85	0,21	0,62	5,21b
2724	2,05	2,43	22	1,40	1067,99	200,93	1,34	0,19	0,30	4,01b

Diâmetro do colmo (DC), altura da planta (AP), diâmetro do dossel na parte média (DD), número de ramos (NR), massa seca de ramos (MSR), massa seca das folhas (MSF) e relação folha/colmo (RFC), Teor (%) de óleo essencial resultado da proporsão da quantidade de óleo em grama por cada grama de folha.

^zRelação folha colmo, calculada através da divisão de MSF por MFR.

^xProdutividade média de óleo essencial em kg/ha para o espaçamento utilizado.

^yNúmeros seguidos de letras iguais, na coluna, não diferem estatisticamente entre si com 5% de probabilidade de erro pelo teste de Scott-Knott.

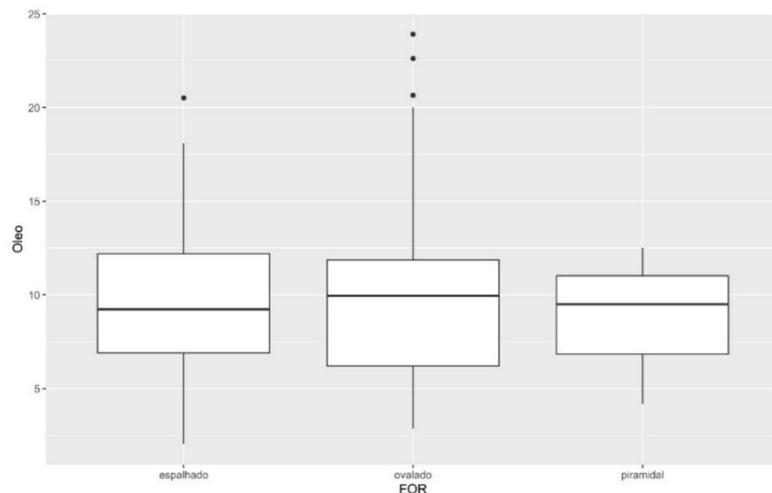
Fonte: Autoria própria (2020)

Deste modo, é possível verificar que existe grande variação na produtividade de óleo essencial, isto é, tanto para as avaliações dentro das famílias, em suas repetições, quanto para as avaliações entre elas. Tal característica não surpreende, já que, se tratando de uma espécie polinização aberta e, um experimento de melhoramento em seus primeiros anos de processo, é esperado tal variação. Ainda assim, é possível classificar as famílias mais promissoras para rendimento de óleo essencial a serem levadas ao terceiro ano de seleção, sendo elas: 2417, 2111, 1728,

2130, 2902, 1315, 213, 631, 1005, 914 e 1107. Estas não diferiram estatisticamente entre si com 5% de probabilidade de erro pelo teste de Scott-Knott. Mas de outro modo, por tratarem-se de uma espécie autógama, tal variabilidade genética se torna interessante para as futuras etapas do processo de melhoramento, onde poderá se objetivar um híbrido elite para rendimento de artemisinina (QUEIROZ, M. A. de; GOEDERT, C. O.; RAMOS, S. R. R.)

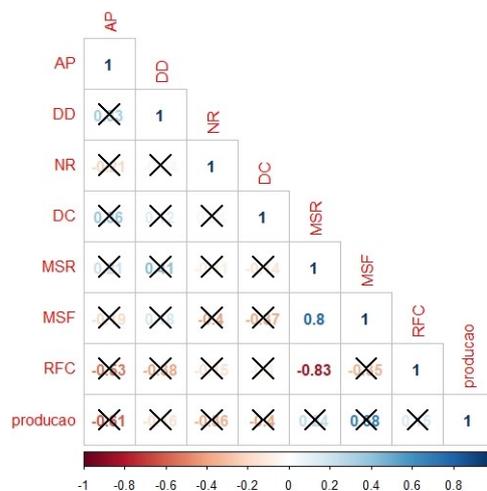
Para análises de correlações, obteve-se os dados apresentados nas figuras 1 e 2:

Figura 1 - Box Plot para relação entre formato planta e produção de óleo.



Fonte: Autoria própria (2020)

Figura 2 - Box Plot para relação entre formato planta e produção de óleo.



Fonte: Autoria própria (2020)

Assim, verifica-se valores de produção de óleo mais constantes nas plantas que possuem formato de dossel piramidal que as de formato ovalado e espalhado, porém não se percebe correlação entre estas e produção de óleo, conforme as figuras demonstram, excetuando-se a massa seca de ramos e massa seca de folhas, que possuem correlação positiva, significativa e alta, o que já se é esperado. E ainda, com o cultivar CPQBA 3, não foi encontrado os mesmos resultados de Bolina (2013) com a variedade 2/39x5x3M, que mostraram correlação positiva entre o volume de dossel e produção de óleo essencial para *A. Annu*.

A abordagem deste artigo foi relacionada aos caracteres agronômicos e óleo essencial, pois a etapa fitoquímica para avaliar teor de artemisinina e análogos ainda não foi executada devido à pandemia da covid-19.

CONCLUSÃO

Não foi observado correlação entre formato de dossel da planta com rendimento de óleo essencial.

Não foi constatado correlação significativa entre os caracteres agronômicos avaliados, excetuando-se MSF com MSR e RFC e MSR.

Para seleção entre famílias visando rendimento de óleo essencial, as famílias 2417, 2111, 1728, 2130, 2902, 1315, 213, 631, 1005, 914 e 1107 do cultivar CPQBA 3 são superiores e não diferem estatisticamente entre si.

AGRADECIMENTOS

Agradeço principalmente à minha família por proporcionar, à UTFPR- Pato Branco por disponibilizar e à equipe por possibilitar. O presente trabalho foi realizado com o apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico CNPq – Brasil.

REFERÊNCIAS

AFTAB, Tariq; FERREIRA, Jorge F. S.; KHAN, M. Masroor A.; NAEEM, M.. **Artemisia annua - Pharmacology and Biotechnology**. [S. L.]: Springer, 2013. 292 p.. 2014. Disponível em:
<https://books.google.com.br/books?id=HoXFBAQAQBAJ&pg=PA24&lpg=PA24&dq=MUELLER,+M.S.,+KARHAGOMBA,+I.B.,+HIRT,+H.M.,+WEMAKOR,+E.+The+potential+of+Artemisia+annua+as+a+locally+produced+remedy+for+malaria+in+the+tropics,+agricultural,+chemical+and+clinical+aspects.+Journal+of+Ethnopharmacology,+v.73,+p.487-493,+2000&source=bl&ots=PWV2XVvDIS&sig=ACfU3U1LevyDn7InE0dUzloBCQCU M0udTw&hl=pt-BR&sa=X&ved=2ahUKewje0c2NwbLpAhWCJbkGHcTPA5QQ6AEwAXoECAoQAQ#v=onepage&q=malaria&f=false>. Acesso em: 17 jul. 2020.

BOLINA, C.O. et al.. **Correlation among agronomic, physiological and phytochemical traits in Artemisia annua L. varieties**. Rev. bras. plantas med., Botucatu, v. 15, n. 1, p. 135-141, 2013. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722013000100019&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 19 jul. 2020.

ČAVAR, Sanja; MAKSIMOVIĆ, Milka; VIDIC, Danijela; PARIĆ, Adisa. **Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activity of essential oil of Artemisia annua L. from Bosnia**. Industrial Crops And Products, [S. L.], v. 37, n. 6, p. 479-485, maio 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0926669011003219?via%3Dihub>. Acesso em: 22 ago. 2020.

DHINGRA, Vikas; RAO, K.Vishweshwar; NARASU, M.Lakshmi. **Current status of artemisinin and its derivatives as antimalarial drugs**. Life Sciences, [S. L.], v. 66, n. 21, p. 279-300, 14 dez. 1999. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0024320599003562>. Acesso em: 22 ago. 2020.

G, Majori. **Combined antimalarial therapy using artemisinin**. Parassitologia, v. 46, n. 2, p. 85-87, jun. 2004. Disponível em: <https://europepmc.org/article/med/15305693#impact>. Acesso em: 18 jul. 2020.

MAGALHÃES, Pedro Melillo de. **Seleção, melhoramento e nutrição da Artemisia annua L., para cultivo em região intertropical**. 1996. 132 f. Tese (Doutorado) - Curso de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1996. Disponível em: http://repositorio.unicamp.br/jspui/bitstream/REPOSIP/315544/1/Magalhaes_PedroMelillode_D.pdf. Acesso em: 19 jul. 2020.

MSF, 2020. **Malaria**. Disponível em: https://www.msf.org.br/o-que-fazemos/atividades-medicas/malaria?utm_source=adwords_msf&utm_medium=&utm_campaign=doencas_geral_comunicacao&utm_content=exclusao-saude_brasil_39923&gclid=CjwKCAjwkun1BRAIEiwA2mJRWQP53cQ6T7PRE-Z3WBM77bHiG7woPG74V_TfNt0SU1xC3ViDpeKbEBoCBKsQAvD_BwE. Acesso em: 17 jul. 2020.

ODUGBEMI, Tolu O; AKINSULIRE, Odunayo R; AIBINU, Ibukun e; FABEKU, Peter O. **Medicinal Plants Useful For Malaria Therapy In Okeigbo, Ondo State, Southwest Nigeria**. African Journal Of Traditional: Complementary and Alternative

Medicines, [S.L.], v. 4, n. 2, p. 191-198, 13 nov. 2007. Disponível em:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2816451/>. Acesso em: 19 jul.
2020.

QUEIROZ, Manoel Abílio de; GOEDERT, Clara Oliveira; RAMOS, Semíramis Rabelo R.. **Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o Nordeste brasileiro**. Petrolina: Embrapa Semiárido (CPATSA), 2003. Disponível em:
<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/153831/recursos-geneticos-e-melhoramento-de-plantas-para-o-nordeste-brasileiro>. Acesso em: 19 jul. 2020.

SCHNEIDER, Kristan A.; KIM, Yuseob. **An analytical model for genetic hitchhiking in the evolution of antimalarial drug resistance**. *Theoretical Population Biology*, [S.L.], v. 78, n. 2, p. 93-108, set. 2010. Disponível em:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2916054/>. Acesso em: 18 jul. 2020

SIVEP, 2020 **Malária**. Disponível em:
https://public.tableau.com/profile/mal.ria.brasil#!/vizhome/Dadosparacidado_201925_03_2020/Titulo. Acesso em: 17 jul. 2020.

SOYLU, Emine Mine et al. **Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of Artemisia annua L. against foliar and soil-borne fungal pathogens**. *Journal Of Plant Diseases And Protection*, [S. L.], v. 112, n. 10, p. 229-239, maio 2005. Disponível em:
https://www.researchgate.net/publication/222097666_Chemical_composition_and_antifungal_activity_of_the_essential_oil_of_Artemisia_annua_L_against_foliar_and_soil-borne_fungal_pathogens. Acesso em: 22 ago. 2020.

VERDIAN-RIZI; E, Sadat-Ebrahimi; A, Hadjiakhoondi; MR, Fazeli; M, Pirali Hamedani. **Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Artemisia annua L. Essential Oil from Iran**. *Journal Of Medicinal Plants*, [S. L.], v. 7, n. 4, p. 58-62, 15 mar. 2008. Disponível em: http://jmp.ir/browse.php?a_code=A-10-421-1&slc_lang=en&sid=1. Acesso em: 22 ago. 2020.

WHO, 2020. **Malaria - number of reported confirmed cases**. Disponível em:
<https://www.who.int/data/gho/data/indicators/indicator-details/GHO/malaria---number-of-reported-confirmed-cases>. Acesso em: 17 jul. 2020.

WHO, 2020. **Malaria - number of reported confirmed cases**. Disponível em:
<https://www.who.int/data/gho/data/indicators/indicator-details/GHO/malaria---number-of-reported-deaths>. Acesso em: 17 jul. 2020.