

Seleção de Genótipos Elite de *Artemisia annua* L. para teor de artemisinina

SELECTION AND IMPROVEMENT OF ARTEMISIA ANNUA L. ELITE GENOTYPES FOR ARTEMISIAN CONTENT

Maria Isadora De Faveri Marquesine*, Lucas Vinicius Dallacorte†,

RESUMO

A *Artemisia annua* L. é uma planta amplamente utilizada na indústria farmacêutica, de produtos cosméticos e de higiene, tendo a aprovação da Organização Mundial da Saúde (OMS) como meio principal de defesa para o tratamento da malária. Assim, sua eficácia contra a doença se deve ao maior teor de artemisinina em sua composição química e, para obtê-la em maiores quantidades, recorre-se a técnicas de melhoramento genético, ou seja, à seleção de genótipos que apresentem caracteres agrônômicos favoráveis à reprodução da espécie, obtendo seu maior potencial vegetativo. Para isso, o experimento realizado com 13 famílias de *Artemisia*, na área experimental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR Campus Pato Branco – precedentemente semeadas em casa de vegetação –, perpetuou a seleção de genótipos com valores acima da média das quantidades de biomassa mais notáveis.

Palavras-chave: *Artemisia*, artemisinina, melhoramento genético, cultivo.

ABSTRACT

Artemisia annua L. is a plant widely used in the pharmaceutical, cosmetics and hygiene industries, which has been approved by the World Health Organization (WHO) as the main means of defense for the treatment of malaria. Thus, its effectiveness against the disease is due to the higher content of artemisinin in its chemical composition and, to obtain it in greater quantities, genetic improvement techniques are used, that is, the selection of genotypes that present agronomic characters favorable to reproduction of the species, obtaining its greatest vegetative potential. For this, the experiment carried out with 13 families of *Artemisia*, in the experimental area of the Federal Technological University of Paraná – UTFPR Campus Pato Branco – previously sown in a greenhouse – perpetuated the selection of genotypes with values above the average of the quantities of biomass plus remarkable.

Keywords: *Artemisia*, artemisinin, genetic improvement, cultivation.

1 INTRODUÇÃO

A *Artemisia annua* L. é uma herbácea da família Asteraceae, de origem asiática, aclimatada as condições ambientais do Brasil. Trata-se de uma planta anual e aromática, com altura entre 1,50 e 2,50 m (SHUKLA, 2018), a altura da planta, dentre outras características são determinadas de acordo com a base genética e suas interações ambientais e variam de acordo com as condições do manejo e do cultivo da planta. O gênero *Artemisia* compreende plantas ricas em metabólitos especializados, como triterpenos, esteroides, cumarinas, poliacetilenos, flavonoides, mono- e sesquiterpenos (PAUL et al., 2019). A *Artemisia* é a única fonte natural

para extração de artemisinina, que é uma lactona sesquiterpênica, utilizada no tratamento da malária (TANG et al., 2014).

A artemisinina, foco de estudo da referida pesquisa, é amplamente utilizada na indústria farmacêutica, principalmente no tratamento da malária. Em 2002, a Organização Mundial da Saúde (OMS) declarou a artemisinina como a primeira linha de defesa contra a malária, pela sua efetividade no tratamento (WHO, 2019). Além disso, a partir da planta de *A. annua* pode ser obtido o óleo essencial, que possui valor comercial para a indústria de cosméticos e produtos higiênicos.

Para viabilizar a produção da matéria-prima de medicamentos e produtos farmacológicos e, portanto, auxiliar na economia ocidental, o melhoramento genético da *A. annua* representa uma alternativa de avanço dos pontos de vista agrônomo e industrial. Assim, o desempenho em matéria de biomassa foliar pode alcançar seu máximo potencial vegetativo, após o monitoramento analítico de selecionar e classificar os genótipos favoráveis as expressões de maior teor de artemisinina, nos experimentos realizados, resultando num valor comercial mais elevado e competitivo.

Portanto, o fornecimento de dados percentuais sobre a atuação e efeito de genótipos presentes na composição da *Artemisia*, fornece subsídios para a melhoria genética da planta e seu posterior cultivo, de interesse comercial final.

2 MÉTODO

O presente experimento fundamentou-se nas seguintes etapas, por ordem: a semeadura em estufa, plantio das mudas, cultivo e nutrição, colheita, secagem, e por fim, a cromatografia, que possibilitou o delineamento das características fisiológicas da planta de estudo, que corroboraram para um resultado mais produtivo. Para tanto, no mês de julho de 2021, as mudas de *Artemisia annua* L. foram preparadas em casa de vegetação e mantidas em fotoperíodo de 16 horas com o auxílio de lâmpadas. Posteriormente, na segunda quinzena de outubro, as mudas foram transplantadas para o campo, em espaçamento de 1 x 1 m na área experimental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campus Pato Branco.

O material genético consistia em progênies selecionadas no ano anterior, onde cada planta originou uma família. O objetivo era possuir 20 famílias, que seriam cultivadas em 4 blocos, com 5 plantas por bloco, e a seleção seria realizada entre e dentro das famílias, mas devido a problemas na manutenção das mudas apenas 13 famílias foram levadas a campo, com de 2 a 3 plantas por bloco em 3 blocos. A primeira fase, da semeadura em estufa, essencial para preservar e garantir o crescimento saudável da planta, não havendo contato direto com parasitas ou fatores abióticos, permitiu as mudas alcançar a altura mínima necessária para o seu transporte ao solo. Com isso, o plantio pôde ser realizado, seguindo para a nutrição e fertilização com formulação de NPK. A necessidade de água das plantas foi suprimida através de um sistema de irrigação, posicionado ao lado das plantas, que foram periodicamente regadas.

Após o cuidado supervisionado das plantas, semanalmente – dentre um período aproximado de cinco meses de cultivo –, quando iniciou o florescimento das plantas, na segunda quinzena de março, ocorreu a colheita. Foi realizada a seleção de plantas, selecionando a melhor planta de cada família dentro de cada bloco, descartando-se as demais. Este processo, em particular, requer um cuidado especial, pois qualquer interferência ou danos às folhas, pode acarretar num prejuízo das amostras, ou seja, na quantia final extraída do composto de artemisinina, que será avaliada posteriormente. Por isso, para manter o mesmo critério rígido e consistente

de análise, as plantas coletadas foram separadas, para realizar a secagem, que introduz o processo de extração dos compostos de interesse da *Artemisa annua* L.

No momento da colheita foram mensurados o número de ramos principais (NR_P) e secundários (NR_S), diâmetro do dossel na seção inferior (DD_INF), mediana (DD_MED) e superior (DD_SUP), estatura de planta (ESTAT), altura de inserção do primeiro par de ramos plagiotrópicos (AIP) e diâmetro do colmo principal na seção mediada (DC_MED). Após a colheita das plantas, as folhas e ramos foram separados para facilitar a secagem. Ambos foram colocados em estufa a 40°C até atingirem peso constante, assim foi mensurado o peso dos ramos e biomassa das plantas. Com a massa seca das folhas, objetivou quantificar o teor de óleo essencial das plantas (OLS) pelo método de hidrodestilação, em que 100 g de folhas são colocadas em um balão com 1 litro de água destilada e aquecidas em sistema Clevenger por 3 horas e o volume de óleo extraído é armazenado para quantificação. Para a quantificação de artemisinina (ART) a metodologia de Ferreira e Gonzalez (2008) mostra-se a adequada a ser utilizada.

Essa pesquisa cumpre o papel, portanto, de responder o seguinte questionamento: “Como melhorar os teores de artemisinina e assim, o desempenho vegetativo da espécie?”; através da seleção e melhoramento genético, observando os caracteres agrônômicos.

3 RESULTADOS

Com as amostras testadas, foi possível conceber uma estatística descritiva, através dos valores extraídos das variáveis analisadas, dispostas na Tabela 1.

Tabela 1 – Estatística descritiva das variáveis avaliadas na seleção de genótipos superiores de *Artemisia annua* L.

Variável	CV (%)	Máximo	Média	Mediana	Mínimo	Desvio padrão amostral	Erro padrão
AIP (cm)	73.6	10.0	3.5	3.7	0.0	2.6	0.4
DC_MED (mm)	28.2	20.8	14.5	16.3	5.3	4.1	0.7
DD_INF (m)	22.5	4.6	2.9	3.0	1.8	0.7	0.1
DD_MED (m)	28.0	6.9	3.4	3.4	2.0	1.0	0.2
DD_SUP (m)	22.0	5.5	3.3	3.3	2.2	0.7	0.1
ESTAT (m)	11.3	3.0	2.4	2.5	1.7	0.3	0.0
FOLHAS (g planta ⁻¹)	25.77	486.59	287.04	288.39	119.90	73.96	11.84
BIOMASSA (kg ha ⁻¹)	25.73	4865.90	2873.41	2896.95	1199.00	739.42	118.40
NR_P	36.6	27.0	15.8	15.0	5.0	5.8	0.9
NR_S	27.8	60.0	39.4	39.0	8.0	11.0	1.8
RAMOS (g)	25.2	486.6	284.2	288.4	119.9	71.5	11.5
RF_C	26.7	5.5	3.1	3.1	1.0	0.8	0.1

Fonte: Autoria própria (2021)

Através da coluna CV (%), que corresponde ao coeficiente de variação do experimento, podemos observar uma grande variabilidade nos caracteres. Esse tipo de resultado é esperado, pois, como o objeto de estudo é uma espécie de polinização cruzada, a variabilidade é comum. O caractere de biomassa, que é algo de grande

interesse agrônomo, mostrou variabilidade de 1199,00 kg ha⁻¹ a 4865,9 kg ha⁻¹. Isso mostra que temos à disposição plantas com alta produção de biomassa.

Tabela 2. Valores médios de cada família de *Artemisia annua* L. para os caracteres avaliados

Família	Folhas	Ramos	Biomassa	RF_C	ESTAT	DD_INF
4	251.05**	251.05	2510.47	3.53	2.55	3.49
6	311.54	315.47	3154.72	2.91	2.44	2.66
25	318.34	318.34	3183.43	3.34	2.28	3.52
35	357.79	372.08	3577.90	2.38	2.60	3.30
43	296.90	249.02	2968.97	3.00	2.30	2.68
49	294.20	296.53	2941.97	2.58	2.27	2.38
53	272.07	278.11	2720.70	3.26	2.63	3.14
54	309.98	304.98	3099.83	3.02	2.59	2.71
55	269.33	278.99	2693.27	2.91	2.23	3.05
61	307.89	307.89	3078.87	3.77	2.57	2.66
63	250.56	275.80	2505.57	3.31	2.61	3.07
66	244.19	198.68	2441.93	3.16	2.24	2.09
72	247.68	247.68	2476.77	2.73	2.40	3.32
	DD_MED	DD_SUP	DC_MED	NR_P	NR_S	AIP
4	3.70	3.28	17.99	16.33	42.33	4.17
6	3.14	3.26	11.45	19.50	40.83	4.40
25	4.27	3.99	16.48	14.00	33.33	3.00
35	3.36	3.16	18.61	21.00	26.00	1.50
43	2.72	2.70	14.44	14.33	36.67	2.23
49	2.90	3.07	11.10	12.00	28.33	3.10
53	3.61	3.50	16.75	22.00	36.50	2.25
54	4.46	3.22	17.07	9.00	40.00	3.50
55	4.15	3.40	12.67	20.00	34.50	1.50
61	3.25	3.08	9.02	19.00	50.00	2.50
63	3.13	3.37	16.26	12.00	50.50	7.50
66	2.44	2.91	12.19	14.67	42.33	3.70
72	3.71	3.69	14.81	12.00	51.00	6.33

**** Valores em vermelho estão abaixo da média geral.**

Fonte: Autoria própria, 2021

Pelos valores de médias apresentados na tabela anterior, as famílias 4, 53, 55, 63, 66 e 72 apresentaram rendimento de biomassa inferior à média geral, então podemos descartá-las da seleção, enquanto as famílias 6, 25 e 35 apresentaram os melhores valores acima da média geral (2873 kg ha⁻¹), apresentada na tabela 1. São preferíveis valores para a R_FC elevados, pois assim a planta priorizou a produção de folhas e não de ramos. Os genótipos que tem valores de R_FC abaixo da média não são preferíveis, pois, mesmo que a planta produza uma boa biomassa de folhas, uma produção elevada de massa de ramos torna-se um dreno de recursos significativo. Quanto à variável Relação folha / colmo (R_FC), os genótipos 4, 25, 53, 54, 61 e 63 apresentaram valores acima da média geral, assim, são mais preferíveis, por ter maior peso de folhas em relação ao peso de

ramos. Os genótipos 4, 6 e 61 apresentaram ramificações, principais e secundárias, acima dos valores médios, assim, podemos destacar estes materiais em maior número de ramificações.

As análises de quantificação do óleo essencial e artemisinina não foram possíveis de serem completadas devido a problemas ocasionados pela suspensão de atividades devido ao COVID – 19 e a quebra de um equipamento que era demandado para as análises.

4 CONCLUSÃO

Mediante os experimentos, foi possível reter que os genótipos 25, 54 e 61 podem ser selecionados, devido a valores acima da média para biomassa e R_FC, obtendo respectivamente, maiores quantidades de folhas, ramos e biomassa foliar. Paralelamente, pode ser observada uma grande diferença entre os genótipos, facilitando a seleção do melhor.

AGRADECIMENTOS

Expresso aqui meus agradecimentos ao Conselho Nacional do Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pela concessão da bolsa, fomentando o desenvolvimento de novos pesquisadores; à UTFPR, que abriu oportunidades e ambiente para isso, e ao meu orientador, pelo auxílio durante o processo de pesquisa.

REFERÊNCIAS

BOLINA, C. O., MARCHESE, J. A., PALADINI, M. V., PINNOW, C., BENIN, G., SOUSA, I. M.O., FOGLIO, M. A. *et al.* **Correlation among agronomic, physiological and phytochemical traits in *Artemisia annua* L. varieties.** Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v. 15, n. 1, p. 135–141, 2013.

MAGALHÃES, P. M.. **Seleção, melhoramento e nutrição da *Artemisia annua* L., para cultivo em região intertropical.** 1996. 116f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, Campinas, SP.

PAUL, S., SEKAR, K. C., SINGH, G., PANDEY, A., BISHT, M. **Studies on artemisinin, morphotypic and genetic characteristics of seventeen species of *Artemisia* growing in Indian Himalayan Region.** Indian Journal of Natural Products and Resources, v. 10, n. December, p. 272–279, 2019.

REHDER, Vera Lúcia Garcia; RODRIGUES, Marili Villa Nova; SARTORATTO, Adilson; FOGLIO, Mary Ann. **Dosagem de artemisinina em *Artemisia annua* L. por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por índice de refração.** Revista Brasileira de Farmacognosia, São Paulo, v. 12, p. 116-118.

SHUKLA, K.; SHASANY, A. K., KHANUJA, S. P. S. **Research and Development on *Artemisia annua* in India**. New Age Herbals, p. 1–464, 2018.

TANG, K., SHEN, Q., YAN, T., FU, X. **Transgenic approach to increase artemisinin content in *Artemisia annua* L.** *Plant Cell Reports*, v. 33, n. 4, p. 605–615, 2014.

WHO. **World Malaria Report 2019**. Geneva. World Health Organization, 2019c.