

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**

**LUCAS VINICIUS DALLACORTE**

**SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE *Artemisia annua* L. COM BASE EM  
CARACTERES AGRONÔMICOS, FISIOLÓGICOS E FITOQUÍMICOS**

**PATO BRANCO**

**2022**

**LUCAS VINICIUS DALLACORTE**

**SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE *Artemisia annua* L. COM BASE EM  
CARACTERES AGRONÔMICOS, FISIOLÓGICOS E FITOQUÍMICOS**

**Selection of *Artemisia annua* L. genotypes based on agronomic, physiological  
and phytochemical traits**

Dissertação apresentada como requisito para  
obtenção do título de Mestre Agronomia – Área de  
Concentração: Produção Vegetal da Universidade  
Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).  
Orientador(a): José Abramo Marchese.  
Coorientador(a): Giovani Benin.

**PATO BRANCO**

**2022**



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

Esta licença permite download e compartilhamento do trabalho desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es), sem a possibilidade de alterá-lo ou utilizá-lo para fins comerciais. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



**Ministério da Educação  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Campus Pato Branco**



LUCAS VINICIUS DALLACORTE

**SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE ARTEMISIA ANNUA L. COM BASE EM CARACTERES AGRONÔMICOS,  
FISIOLÓGICOS E FITOQUÍMICOS.**

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestre Em Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).  
Área de concentração: Produção Vegetal.

Data de aprovação: 10 de Fevereiro de 2022

Prof Giovani Benin, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof Glaucio Vieira Miranda, - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof Jorge Freire Da Silva Ferreira, Doutorado - Usda - Serviço de Pesquisa Agrícola - Departamento de Agricultura dos Eua

Prof.a Marcia Ortiz Mayo Marques, Doutorado - Instituto Agrônomo de Campinas (Iac)

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 04/04/2022.



Dedico este trabalho a todas as pessoas que me apoiaram de alguma maneira em minha caminhada, a minha família, pelo apoio financeiro e moral em todos estes anos, aos professores que tive que auxiliaram em minha formação e a todas as pessoas que marcaram minha jornada, que só foi a mim permitido conhecê-las devido à faculdade que escolhi.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, quero agradecer aos meus pais, Claudinir José Dallacorte e Lane Regina Bacca Dallacorte, que desde o começo da faculdade me deram apoio, permitindo que eu pudesse focar nos estudos.

Agradeço também, a cada amigo que fiz nessa jornada, desde os primeiros semestres dentro da iniciação científica, onde percebi o mundo de possibilidades que a carreira científica pode abrir para um aluno.

Agradeço a todos os professores que tive em minha graduação, pois cada um deles teve um papel importante em minha formação

Agradeço aos professores Dr. Carlos André Bahry e Dr. Giovanni Benin, que me orientaram durante minha graduação na Iniciação Científica, e aos professores Dr. José Abramo Marchese pela orientação neste mestrado.

Agradeço a professora Márcia Ortiz pela disponibilidade em ceder as instalações do Instituto Agrônomo de Campinas para as análises fitoquímicas do óleo essencial das plantas de *A. annua*.

Aos meus colegas de sala e a todos que me acompanharam e me apoiaram neste caminho, do seu jeito, permitindo que eu chegasse onde cheguei.

A Secretaria do PPGAG, pela cooperação e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia e à Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Agradeço ao apoio financeiro recebido, pois o presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior -Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

“A felicidade é completamente inútil. Tudo que é útil, tem o seu valor fora dele. Se você for chamado de inútil, significa que o seu valor está em você mesmo, como a felicidade. Quanto mais na nossa vida encontrarmos coisas que tem valor em si mesmo, portanto, inúteis, as chances de vivermos melhor aumentam muito.  
**Clóvis de Barros Filho”.**

## RESUMO

A *Artemisia annua* L. é a única fonte comercial de artemisinina, o principal composto utilizado no tratamento da malária. Este projeto foi desenvolvido com o objetivo de selecionar plantas superiores de *A. annua* dentro da cultivar de polinização aberta CPQBA-3, utilizando-se de caracteres agronômicos, fitoquímicos e fisiológicos. O trabalho foi desenvolvido na área experimental da UTFPR de Pato Branco – PR, nos anos de 2019-2020 e 2020-2021. O preparo das mudas ocorreu em casa de vegetação sob fotoperíodo artificial estendido (+ 6 horas) para evitar o florescimento. O plantio a campo ocorreu em outubro quando as mudas possuíam cerca de 0,2 m. A colheita das plantas ocorreu no mês de março. Na colheita foram mensurados caracteres agronômicos; massa seca de folhas e ramos, diâmetro das seções inferior, mediana e superior do dossel e do ramo principal das plantas, altura da planta e de inserção do primeiro par de ramos plagiotrópicos, número total de ramos e biomassa total da parte aérea. Caracteres fisiológicos mensurados foram a assimilação líquida de CO<sub>2</sub>, concentração interna de CO<sub>2</sub>, taxa de transpiração, condutância estomática e eficiência no uso da água. Posteriormente foram realizadas avaliações fitoquímicas para quantificação do conteúdo de óleo essencial e artemisinina. A análise dos dados foi efetuada pela metodologia de REML/BLUP correlação entre caracteres. Massa seca de folhas e número total de ramos foram os que apresentaram maiores valores de herdabilidade em ambos os anos avaliados (0,6 e 0,78, respectivamente, em 2020 e 0,53 e 0,66, respectivamente, em 2021). O conteúdo de óleo essencial na planta apresentou baixo valor de herdabilidade em ambos os anos avaliados (0,14 e 0,01), enquanto o rendimento do óleo essencial apresentou elevado valor de herdabilidade no primeiro ano (0,55). A artemisinina apresentou baixo valor de herdabilidade para o conteúdo (0,06) e elevado valor para o rendimento (0,60). O conteúdo, tanto de artemisinina quanto óleo essencial apresentaram correlação negativa com a massa seca de folhas nas plantas. O conteúdo máximo observado para o óleo essencial foi de 1,87 g 100 g<sup>-1</sup> MSF em 2020 e 1,3 g 100 g<sup>-1</sup> MSF em 2021. Quanto ao conteúdo de artemisinina avaliado apenas no segundo ano, o valor máximo obtido foi de 1,67 g 100 g<sup>-1</sup> MSF. A análise pela metodologia de BLUP estimou ganhos para os caracteres agronômicos de massa seca de folhas e número total de ramos. Para os caracteres fitoquímicos de conteúdo de óleo essencial e artemisinina, os valores estimados ficaram próximos à média geral, e abaixo dos valores máximos observados.

Palavras-chave: Artemísia. Artemisinina. Melhoramento vegetal. REML/BLUP.

## ABSTRACT

*Artemisia annua* L. is the only commercial source of artemisinin, the main compound used to treat malaria. This project was developed with the objective to select superior plants of *A. annua* within the open pollination cultivar CPQBA-3, using agronomic, phytochemical and physiological characters. The project was developed in the experimental area of the UTFPR of Pato Branco – PR, in the years 2019-2020 and 2020-2021. The preparation of the seedlings took place in a greenhouse under extended artificial photoperiod (+ 6 hours) to prevent flowering. The field planting took place in October when the seedlings were about 0.2 m. The harvesting of the plants took place in the month of March. In the harvest were measured agronomic characters; dry mass of leaves and branches, diameter of the lower, median and upper sections of the canopy and the main branch of the plants, height of the plant and insertion of the first pair of plagiotropic branches, total number of branches and total biomass of the aerial part. Physiological characteristics measured were net CO<sub>2</sub> assimilation, internal CO<sub>2</sub> concentration, respiration rate, stomatal conductance and water use efficiency. Subsequently, phytochemical evaluations were performed to quantify the content of essential oil and artemisinin. Data analysis was performed by the methodology REML/BLUP and correlation between characters. Dry mass of leaves and total number of branches were those that presented the highest values of heritability in both years evaluated (0.6 and 0.78, respectively, in 2020 and 0.53 and 0.66, respectively, in 2021). The essential oil content in the plant presented a low value of heritability in both years evaluated (0.14 and 0.01), while the yield of the essential oil presented a high value of heritability in the first year (0.55). Artemisinin showed a low heritability value for the content (0.06). The content of artemisinin and essential oil showed a negative correlation with the dry mass of leaves in the plants. The maximum content observed for essential oil was 1.87 g 100 g<sup>-1</sup> MSF in 2020 and 1.3 g 100 g<sup>-1</sup> MSF in 2021. Regarding the artemisinin content evaluated only in the second year, the maximum value obtained was 1.67 g 100 g<sup>-1</sup> MSF. The analysis by the BLUP methodology estimated gains for the agronomic characteristics of dry mass of leaves and total number of branches. For the phytochemical characteristics of essential oil and artemisinin content, the estimated values were close to the general average and below the observed maximum values.

Keywords: *Artemisia*. Artemisinin. Plant breeding. REML/BLUP.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Distribuição de plantas do gênero <i>Artemisia</i> (em verde) pelos países. Fonte: Koul <i>et al.</i> 2017. UTFPR, Pato Branco – PR, 2022.....	16
Figura 2 – Detalhamento da floração de plantas de <i>A. annua</i> . A: ramos em floração plena, B: detalhe de flores C: demonstração do tamanho de flores em régua. UTFPR, Pato Branco—PR, 2022. ....	17
Figura 3 – Caracterização da biossíntese de artemisinina pela rota do farnesil difosfato. Fonte: Ferreira <i>et al.</i> , 2018. UTFPR, Pato Branco – PR, 2022. ....	22
Figura 4 - Plantas em campo no momento da coleta de sementes. UTFPR, Pato Branco-PR, 2022.....	30
Figura 5 - Diluições do padrão para confecção da curva analítica de ART por HPLC realizado a partir de padrão. UTFPR, Branco – PR, 2022.....	33
Figura 6 - Cromatógrafo a gás (TRACE 1310 SERIES) acoplado a espectrômetro de massas (ISQ 7000) utilizado nas análises dos óleos essenciais, UTFPR, Pato Branco, 2022.....	34
Figura 7 - Dados diários de condições climáticas de temperatura mínima (TMIN) média (TMED), máxima (TMAX), precipitação (PREC) e umidade relativa (UR) para Pato Branco no período de 01/08/2019 a 31/05/2020. UTFPR, Pato Branco – PR. 2022 .....	35
Figura 8 - Dados históricos de condições climáticas de temperatura mínima (TMIN) média (TMED), máxima (TMAX), precipitação (PREC) e umidade relativa (UR) para Pato Branco no período de 01/08/2020 a 31/05/2021. UTFPR, Pato Branco – PR. 2022 .....	35
Figura 9 - Comparativo entre a distribuição das leituras a campo e médias estimadas pelo BLUP em relação à média geral (linha) para os caracteres agrônômicos no ano em 2020. UTFPR – Pato Branco – PR, 2022. ....	42
Figura 10 - Ranqueamento de plantas de <i>A. annua</i> para ao caractere MSF pela média de BLUP em comparação ao valor da leitura a campo em 2020. UTFPR – Pato Branco – PR. 2022 .....	43
Figura 11 - Ranqueamento de plantas de <i>A. annua</i> quanto aos caracteres COL e ROL pela média de BLUP em comparação ao valor da leitura a campo em 2020. UTFPR – Pato Branco – PR. 2022 .....	46
Figura 12 - Correlação entre caracteres agrônômicos e fitoquímicos das plantas em 2020. UTFPR, Pato Branco – PR. 2022.....	47
Figura 13 - Distribuição dos valores observados no campo e estimados por BLUP para os caracteres agrônômicos MSR, MSF, BIOT, RFR, AIP e APL avaliados em 2021. UTFPR – Pato Branco, 2022.....	52
Figura 14 - Distribuição dos valores observados no campo e estimados por BLUP para os caracteres agrônômicos DD_i, DD_m, DD_s, DC_i, DC_m, DC_s e NTR avaliados em 2021. UTFPR – Pato Branco, 2022.....	53
Figura 15 - Ranqueamento de plantas de <i>A. annua</i> quanto ao caractere MSF pela média de BLUP em comparação ao valor da leitura a campo em 2021. UTFPR – Pato Branco – PR. 2022. ....	54
Figura 16 - Ranqueamento de plantas para CART e RART pelos Componentes da Média (BLUP individual). UTFPR – Pato Branco – PR, 2022. ....	60
Figura 17 - Ranqueamento de plantas para os caracteres COL e ROL de acordo com a média estimada por BLUP em comparação aos dados obtidos no campo em 2021. UTFPR – Pato Branco. 2022 .....	62

<b>Figura 18 - Cromatograma de íons totais da amostra 6 de <i>A. annua</i> – Pato Branco – PR, 2022 .....</b>	<b>63</b>
<b>Figura 19 - Correlação linear de Pearson entre os caracteres agronômicos, fisiológicos e fitoquímicos de <i>A. annua</i> avaliados em 2021. UTFPR, Pato Branco – PR, 2022.....</b>	<b>67</b>

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resumo da análise de solo. UTFPR, Pato Branco – PR, 2022. ....	29
Tabela 2 - Estatística descritiva dos caracteres agronômicos da seleção de plantas no ano de 2020. UTFPR, Pato Branco – PR. 2022. ....	38
Tabela 3 - Componentes de Variância (REML Individual) dos caracteres agronômicos em 2020. UTFPR, Pato Branco-PR, 2022. ....	39
Tabela 4 - Componentes de Variância (REML Individual) para COL e ROL em plantas de <i>A. annua</i> avaliado em 2020. UTFPR, Pato Branco-PR, 2022. ....	44
Tabela 5 - Estatística descritiva das de caracteres agronômicos em 2021. UTFPR, Pato Branco, 2022. ....	49
Tabela 6 - Componentes de Variância (REML Individual) dos caracteres agronômicos avaliados no ano de 2021. UTFPR, Pato Branco—PR, 2022. ....	50
Tabela 7 - Medidas de caracteres fisiológicos obtidos em 26 plantas de <i>A. annua</i> realizada no ano de 2021. UTFPR, Pato Branco – PR. 2022. ....	56
Tabela 8 - Componentes de Variância (REML) individual dos caracteres de CART e RART em 2021. UTFPR, Pato Branco – PR. 2022. ....	57
Tabela 9 - Componentes de Variância (REML Individual) do conteúdo e rendimento do óleo essencial das plantas de <i>A. annua</i> em 2021. UTFPR, Pato Branco-PR, 2022. ....	61
Tabela 10 - Perfil fotoquímico de monoterpenos e sesquiterpenos de 39 plantas de <i>A. annua</i> analisadas por cromatografia em fase gasosa. UTFPR. Pato Branco – PR, 2022. ....	64

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Ácido Artemisínico
Acprog	Acurácia da seleção de progênie
ADS	Adenosyl difosfato sintase
AIP	Altura de inserção do primeiro ramo plagiotrópico
ALPL	Altura de planta
ART	Artemisinina
BIOT	Biomassa total
BLUP	Best linear unbiased prediction
c2bloc	Coeficiente de determinação dos efeitos de bloco
CFDA	China Food and Drugs Administration
Ci	Concentração Interna de CO <sub>2</sub>
CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono
COND	Condutância estomática
CV %	Coeficiente de variação genética entre progênie
CVgi%	Coeficiente de variação genética aditiva individual
DAD	Detector de arranjo-diodos
DC_i	Diâmetro da seção inferior do ramo principal
DC_m	Diâmetro da seção média do ramo principal
DC_s	Diâmetro da seção média do ramo principal
DD_i	Diâmetro da seção inferior do dossel
DD_m	Diâmetro da seção mediana do dossel
DD_s	Diâmetro da seção superior do dossel
DHAA	Ácido dihidroartemisinico
DMAPP	Dimethylallyl diphosphate
EM	Expectation-Maximização
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EUA	Estados Unidos da América
FAM_bl	Família _ bloco
FL	Detector de fluorescência
FPP	Farnesyl pyrophosphate
FPS	Farnesil difosfato sintase
h2a	Herdabilidade individual no sentido restrito
h2ad	Herdabilidade aditiva dentro de progênie
h2mp	Herdabilidade da média de progênie
HMGR	3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A reductase
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
IAC	Instituto Agrônômico
IAPAR	Instituto Agrônômico do Paraná
IPP	Isopentenil difosfato
IR	Índice de refração
IRGA	Infrared Gas analyzer / Analisador infravermelho de gases
ISO	International Standard Organization
MEP	Metileritritol fosfato
MSF	Massa seca das folhas
MSR	Massa seca dos ramos
MVA	Ácido Mevalônico
NPK	Nitrogênio/Fósforo/Potássio

NTR	Número de ramificações totais
COL	Conteúdo de óleo essencial
OMS	Organização Mundial da Saúde
PDC	Plantas de dias curtos
pH	Potencial hidrogeniônico
PHOTO	Assimilação líquida de CO <sub>2</sub>
PR	Paraná
RART	Rendimento de artemisinina
REML	Restricted Maximum likelihood
RFR	Relação MSF/ MSR
ROL	Rendimento de óleo essencial
SQS	Squalene synthase
CART	Conteúdo de artemisinina
TCA/ACT	Terapia Combinada de artemisinina
TRMMOL	Taxa de transpiração
UNICAMP	Universidade de Campinas
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Va	Variância genética aditiva
Vbloc	Variância ambiental entre blocos
Ve	Variância residual
Vf	Variância fenotípica individual
WHO	World Health Organization
WUE	Eficiência do uso da água

## LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
±	Mais ou menos
<	Menor que
≤	Menor ou igual
=	Igual
>	Maior que
≥	Maior ou igual
eV	Energia de ionização
g	Gramas
ha	Hectare
Kg	Quilograma
L	Litros
m	Metros
m/z	Razão massa/carga
mg	Miligramas
mL	Mililitros
mm	Milímetros
mmol	Milimol
nm	Nanómetro
°C	Graus celsius
s	segundos
α	Alfa
β	Beta
μL	Microlítro
μmol	Micromol
ρ	Rô

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>13</b>
<b>2.1</b>	<b>Aspectos epidemiológicos da malária</b> .....	<b>15</b>
<b>2.2</b>	<b>A <i>Artemisia annua</i> L. e a artemisinina</b> .....	<b>15</b>
<b>2.3</b>	<b>O óleo essencial de <i>Artemisia annua</i> L.</b> .....	<b>19</b>
<b>2.4</b>	<b>Biossíntese de artemisinina</b> .....	<b>21</b>
<b>2.5</b>	<b>Manejo agrônômico das plantas</b> .....	<b>23</b>
<b>2.6</b>	<b>Melhoramento genético de <i>Artemisia annua</i> L.</b> .....	<b>24</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>27</b>
<b>3.1</b>	<b>Aspectos gerais de cultivo</b> .....	<b>27</b>
<b>3.2</b>	<b>Manejo e seleção de plantas em 2020</b> .....	<b>27</b>
<b>3.3</b>	<b>Manejo e seleção de plantas em 2021</b> .....	<b>28</b>
<b>3.4</b>	<b>Avaliações agronômicas</b> .....	<b>30</b>
<b>3.5</b>	<b>Avaliações fisiológicas</b> .....	<b>31</b>
<b>3.6</b>	<b>Avaliações fitoquímicas</b> .....	<b>31</b>
3.6.1	Quantificação de artemisinina .....	31
3.6.2	Extração e composição do óleo essencial .....	33
<b>3.7</b>	<b>Dados climáticos</b> .....	<b>34</b>
<b>3.8</b>	<b>Análise estatística dos dados</b> .....	<b>36</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>38</b>
<b>4.1</b>	<b>Seleção de plantas em 2020</b> .....	<b>38</b>
4.1.1	Análise de caracteres agronômicos .....	38
4.1.2	Conteúdo e rendimento do óleo essencial .....	44
4.1.3	Correlação entre caracteres .....	47
4.1.4	Plantas selecionadas em 2020 .....	48
<b>4.2</b>	<b>Seleção de plantas em 2021</b> .....	<b>48</b>
4.2.1	Seleção de caracteres agronômicos .....	48
4.2.2	Análise de caracteres fisiológicos .....	55
4.2.3	Análise de caracteres fitoquímicos .....	57
<u>4.2.3.1</u>	<u>Conteúdo e rendimento de artemisinina</u> .....	<u>57</u>
<u>4.2.3.2</u>	<u>Conteúdo e rendimento do óleo essencial</u> .....	<u>61</u>
<u>4.2.3.3</u>	<u>Perfil fotoquímico do óleo essencial</u> .....	<u>63</u>
4.2.4	Correlação entre caracteres .....	66
4.2.5	Plantas selecionadas em 2021 .....	68

<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>69</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>70</b>



## 1 INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais na medicina desempenha importante papel no tratamento e prevenção de doenças, como por exemplo, a *Artemisia annua* L, uma planta da família Asteraceae, de origem chinesa que foi aclimatada para cultivo em diversos países, como Quênia, República Unida da Tanzânia e no Vietnã, e em pequena escala na Índia, ao sul da Europa, América do Sul e em alguns países do continente Africano. Nos Estados Unidos, a planta é cultivada principalmente para fins aromáticos.

Desta espécie podem ser explorados dois compostos medicinais de grande importância comercial: óleo essencial, que possui grande aplicação na indústria de cosméticos e a artemisinina, a qual é derivatizada para a produção de medicamentos antimaláricos para tratamento da doença, principalmente no continente africano, no qual a doença apresenta resistência a outras medicações, baseadas na monoterapia com quinino.

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que em 2020 tenham ocorrido aproximadamente 241 milhões de casos de malária, com aproximadamente 627 mil mortes no mundo, com cerca de 96% delas ocorridas no continente africano, tendo como vítimas principalmente crianças até 5 anos de idade.

Para o tratamento da doença, a OMS recomenda o uso da artemisinina, em combinação a outras drogas na Terapia Combinada com Artemisinina (TCA ou ACT em inglês), com o objetivo de combater a resistência dos parasitas ao tratamento.

Mesmo no século XXI, em muitos países da África, Ásia, América Latina e Oriente Médio mais da metade da população depende de medicina alternativa/conhecimento tradicional para tratamentos de saúde com uso de plantas. O teor de artemisinina oscila entre 0,1 a 1% do peso seco, sendo insuficiente para atender toda a sua demanda, resultando na flutuação da oferta e no preço do produto, o que gera problemas na normalização do preparo, dosagens e garantia de qualidade dos medicamentos que possuem artemisinina em sua formulação (BARATA *et al.* 2016).

Dentro desta cultura, há a oportunidade de desenvolver pesquisas para obtenção de genótipos com teores de artemisinina elevados para atender a demanda destes compostos medicinais com maior rentabilidade financeira.

Na literatura, existem diversos autores que constataram que a variação do perfil fitoquímico dos acessos de artemísia são muito diferentes e que possuem causas genéticas, ambientais, de manejo e de colheita. Assim, isso permite ganhos genéticos e ambientais no rendimento de artemisinina e do óleo essencial de *A. annua*.

Este trabalho teve por objetivo selecionar plantas de *A. annua* com conteúdo elevado de artemisinina, e correlacionar a artemisinina com caracteres agrônômicos, fisiológicos e fitoquímicos na planta, utilizando para seleção a metodologia de modelos mistos.

Este projeto é sequência do trabalho conduzido e apresentado por Zanatta (2018). Na ocasião, foi realizada Seleção Massal Estratificada com 30 extratos e 30 plantas por extrato, utilizando caracteres agrônômicos, fitoquímicos e fisiológicos para selecionar 20 plantas superiores que originaram as plantas avaliadas neste projeto.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Aspectos epidemiológicos da malária

A malária é classificada como a quinta doença de maior ocorrência e a décima maior causa de mortes em países em desenvolvimento (ABDIN, 2015). Atualmente, cerca de um bilhão de pessoas vivem em zonas de risco de infecção pela doença no mundo (PAUL *et al.*, 2014; XIANG *et al.*, 2014).

Essa enfermidade é causada por protozoários parasitas sanguíneos do gênero *Plasmodium*, sendo *Plasmodium falciparum*, *P. ovale*, *P. malariae* e *P. vivax* (ODUGBEMI, *et al.*, 2007), de forma que é transmitida por fêmeas de mosquitos do gênero Anopheles, vetores da doença (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020). O *P. falciparum* e o *P. vivax* são as formas mais ocorrentes, sendo o *P. falciparum* responsável pelo maior índice de mortalidade.

Segundo estimativas da Organização Mundial da Saúde (em inglês, World Health Organization, WHO, 2021), em 2020 ocorreram aproximadamente 241 milhões de casos de contaminação pela doença, os quais foram distribuídos em 85 países, caracterizando como uma doença endêmica. No mesmo período, a doença causou cerca de 627 mil mortes, com aproximadamente 95% de ocorrências no continente Africano, em países como Nigéria (27%), República Democrática do Congo (12%), Uganda (5%), Moçambique (4%), Angola (3,4%) e Burquina Faso (3,4%) (WHO, 2021).

Os casos de resistência da doença a medicamentos, associada a alta transmissão dos parasitas *Plasmodium sp.* e a dificuldade de acesso à medicação por boa parte da população impediram a erradicação da doença (BRISIBE *et al.*, 2012; EASTMAN; FIDOCK, 2009). Assim, existe a necessidade de se buscar novas medidas para o tratamento da doença.

### 2.2 A *Artemisia annua* L. e a artemisinina

Atualmente, a medicina popular tem ganhado espaço, tal como fonte de compostos para produção de medicamentos a partir de compostos naturais para a saúde humana, tornando plantas medicinais e aromáticas economicamente importantes (KOUL *et al.*, 2018).

Cerca de 500 espécies globalmente distribuídas (Figura 1) constituem o gênero *Artemisia* (Asteraceae) (GARCIA, 2015), compreendendo plantas ricas em

metabólitos especializados (anteriormente denominados secundários), como triterpenos, esteróides, cumarinas, poliacetilenos, flavonoides, mono e sesquiterpenos (PAUL *et al.*, 2011). As plantas desse gênero também são ricas em compostos medicinais importantes, como óleo essencial e artemisinina (ART). Vale destacar também que a palavra ‘Artemísia’ vem do grego ‘Ártemis’, a Deusa, ou a rainha grega Artemísia.

**Figura 1 - Distribuição de plantas do gênero Artemísia (em verde) pelos países. 2017. UTFPR, Pato Branco – PR, 2022.**



**Fonte: Koul *et al.* 2017**

*A. annua* é uma espécie classificada como uma planta de dias curtos (PDC), com fotoperíodo crítico entre 12 e 16 horas, tendo seu crescimento em dias longos na época mais quente do ano e iniciando a floração conforme ocorre o encurtamento dos dias. Marchese *et al.* (2002) complementam a classificação da *A. annua* como PDC com resposta qualitativa ou absoluta e identificaram em genótipo proveniente do Vietnã, uma demanda de temperaturas baixas – durante o ciclo vegetativo – para ter seu florescimento acelerado. A espécie apresenta mecanismo fotossintético C3

(MARCHESE *et al.*, 2010) e apresenta fotorrespiração elevada em climas quentes, reduzindo a produção de biomassa foliar e o conteúdo de ART (MARCHESE, 2006).

Segundo Bilia *et al.* (2014) a planta pode atingir estatura de até 3 metros, apresenta caule cilíndrico e ramificado, folhas alternas, verdes escuras ou verdes acastanhadas, odor característico e aromático. Suas flores têm entre 2 a 3 mm de diâmetro, com coloração amarelo-esverdeado e dispostas dentro de capítulos em forma de disco (FERREIRA; JANICK, 2009), conforme mostrado na Figura 2.



**Figura 2 – Detalhamento da floração de plantas de *A. annua*. A: ramos em floração plena, B: detalhe de flores C: demonstração do tamanho de flores em régua. UTFPR, Pato Branco—PR, 2022.**

*A. annua* é a principal fonte de ART o principal composto utilizado no tratamento do *P. falciparum*, agente causal da malária (WETZSTEIN *et al.*, 2019). Esse composto é reconhecido globalmente no combate ao *P. falciparum* resistente ao quinino e a drogas derivadas, como cloroquina e mefloquina (SHUKLA *et al.*, 2018; WETZSTEIN *et al.*, 2018). Atualmente, o cultivo ocorre em larga escala na China, no Quênia, na República Unida da Tanzânia e no Vietnã, e em pequena escala na Índia,

em alguns países da África, no sul da Europa e na América do Sul (FERREIRA *et al.*, 2018).

A ART apresenta eficácia nas fases iniciais da malária, impedindo a evolução do parasita ao estágio meroíta, que infecta os glóbulos vermelhos (GARCIA, 2015). Suas propriedades antimaláricas foram descobertas em 1970, na China, pela professora e farmacologista Youyou Tu, o que lhe rendeu o prêmio Nobel de Fisiologia ou Medicina em 2015 (FERREIRA *et al.*, 2018). Na ocasião, ela e sua equipe integravam o Projeto 523, o qual tinha por objetivo buscar na medicina popular um tratamento para a malária (GUO, 2016).

A ART foi registrada e lançada comercialmente apenas em 1985 pela China Food and Drugs Administration (CFDA). Em 2002, a Organização Mundial da Saúde (WHO) declarou a ACT como a primeira linha de defesa contra a malária, pela reduzida probabilidade de ocorrer resistência e rápida ação (WHO, 2019).

Em todos os países onde a malária é uma doença endêmica, a OMS recomenda a Terapia Combinada de Artemisinina (TCA), que consiste na combinação de derivados de ART (Artemeter; artesunato etc.) com outro fármaco efetivo contra a malária (Lumefantrina, amodiaquina, sulfadoxina, mefloquina etc.), tendo como objetivo de evitar o desenvolvimento de resistência do patógeno a ART (GARCIA, 2015; WHO, 2019c). Segundo Zaloumis *et al.* (2018), desde fevereiro de 2005, 43 países adotaram a TCAs como a primeira linha de defesa contra a malária.

A ART é um raro exemplo de endoperóxido de origem vegetal (BILIA *et al.*, 2014). O local de maior concentração de molécula se dá nas folhas e inflorescências (FERREIRA; JANICK, 1996). A concentração da molécula na planta pode apresentar variação conforme a região de cultivo, o genótipo, fatores bióticos e abióticos e os tratos culturais (BANYAI *et al.*, 2010; PAUL *et al.*, 2014).

Shen *et al.* (2018) assinalam que os conteúdos de ART na planta podem variar de 0,1 até 1,0% (em gramas/100 gramas de peso seco de folhas), enquanto Cockram *et al.* (2012) relatam o conteúdo variando de 0,08 a 2,3% em plantas oriundas de 14 locais diferentes. Avaliando o conteúdo de ART de dois genótipos da China, um da Índia, um dos EUA e dois do Brasil, Brisibe *et al.* (2012) obtiveram conteúdo médios de 0,45, 0,45, 0,56, 0,56, 1,1 e 1,08%, respectivamente.

A baixa concentração da ART nas plantas se torna um empecilho no tratamento da doença, pois gera uma flutuação na oferta e no preço dos

medicamentos; além disso, o custo do tratamento para países subdesenvolvidos se torna oneroso.

Um dos meios para atender a demanda é a semi-síntese da molécula, que vem sendo estudada há anos. O termo semi sintético indica que apenas a etapa final será por síntese orgânica, sendo a inicial por síntese biológica (PADDON e KEASLING, 2014). Em 2004, um projeto para pesquisar a produção de um semi sintético de ART foi criado pela Fundação Bill e Melina Gates, tendo por objetivo desenvolver um micro-organismo que produzisse o precursor da ART, o ácido dihidroartemisínico (DHAA), em grande quantidade para que este fosse convertido quimicamente em ART (PADDON; KEASLING, 2014), mas os resultados ainda não atingiram um patamar que fosse economicamente viável.

Selecionar materiais (obter genótipos) com elevados e constantes níveis de ART é importante para o cultivo em países em desenvolvimento, os quais são afetados pela malária, considerando que a produção a campo como a principal fonte de ART, bem como fonte de renda aos agricultores (WETZSTEIN *et al.*, 2018). Devido à baixa oferta do produto e seu preço elevado (US \$3,00), cerca de 40% dos tratamentos de TCAs vendidos na África são falsos ou não contêm o ingrediente ativo em forma suficiente (KOPETZKI *et al.*, 2013).

### **2.3 O óleo essencial de *Artemisia annua* L.**

Plantas que produzem óleo essencial geralmente são cultivadas para uso medicinal, ou como condimento, aromático ou como cosméticos. O óleo essencial é um componente do metabolismo especializado, sendo constituído de uma mistura complexa, contendo centenas de componentes, sendo classificados nas mais diversas classes dentre os compostos.

Por definição da ISO (International Standard Organization), o óleo essencial é obtido de diferentes partes das plantas, pela destilação por arraste com vapor de água, com solubilidade em solventes orgânicos apolares, como éter. A mistura de monoterpenos e sesquiterpenos dá origem aos óleos essenciais das plantas, que possuem odor característico (PANDEY; SINGH, 2017). O termo óleo essencial se refere à essência da planta, ou seja, seu perfume ou odor. Os terpenos são um grupo de compostos com extraordinária diversidade nos quesitos de estrutura, função e química (MARCHESE *et al.*, 2010). Na biossíntese dos terpenóides, o isopentenil

difosfato (IPP) e o isômero dimetilalil difosfato (DMAPP) são os precursores primários que são sintetizados em diferentes rotas, como a do ácido mevalônico (MVA) e do metileritritol fosfato (MEP) (ARORA *et al.*, 2016).

Devido à sua baixa toxicidade, o óleo essencial pode ser empregado em diversos usos na indústria farmacêutica, além de antimaláricos (RANDJELOVIC *et al.*, 2013). Deb e Kumar (2019) e Tripathi *et al.* (2000) avaliaram a ação inseticida do óleo essencial de *A. annua* em *Tribolium castaneum*, uma praga de grãos armazenados. Maggi *et al.* (2005) observaram o efeito da toxicidade de ART em larvas de *Epilachna paenulata* e *Spodoptera eridania* que se alimentaram de folhas tratadas com extratos de *A. annua*. Além disso, Pandey e Singh (2017) relatam que o óleo essencial de *Artemisia nilagirica* apresentou inibição do crescimento de *Aspergillus flavus*, *A. niger* e *A. ochraceus* em uvas de mesa.

A concentração de óleo pode apresentar variações dependendo do local onde for realizada a coleta de material vegetal da planta. Segundo Bilia *et al.* (2014), na *A. annua* o óleo é distribuído em 36% no terço superior, 47% no terço mediano e 17% no terço inferior da planta, além de variar entre espécies, conforme observado por Paul *et al.* (2020), que obtiveram valores de 0,03 a 1,5% em plantas de várias espécies de Artemísia.

Ferreira e Janick (2009) relatam que o óleo essencial de *A. annua* é composto principalmente por artemísia cetona; cânfora; 1,8-cineol; germacreno D; hidrato de canfeno e  $\alpha$ -pineno; beta-cariofileno; mirceno e álcool de Artemísia. Já Sharopov *et al.* (2020), analisando plantas selvagens de *A. annua* no Tajikistão, destacaram a cânfora a 32,5% - 58,9%; o 1,8-cineol em 13,7% - 17,8%; o canfeno a 4,5% - 8,4%; e  $\alpha$ -pineno em 1,9% - 7,3%.

Cavar *et al.* (2012), analisando plantas selvagens de *A. annua* cultivadas na Bósnia, identificaram mais de 100 compostos, dentre os quais a cânfora e a artemísia cetona foram as principais substâncias presentes no óleo essencial. Randjelovic *et al.* (2013) observaram que o óleo essencial de *A. annua* era composto principalmente por  $\alpha$ -Pineno (16,5%), 1,8 cineol (5,5%), artemísia cetona (37,5%), álcool artemísia (4,8%), trans-Pinocarveol (4,8%) e cânfora (4,2%), sendo, na maioria, composto por monoterpenos (84%) e sesquiterpenos (8,6%). Paladini (2012) observou que o óleo essencial era composto em média a 73,15% por monoterpenos e 21,69% por sesquiterpenos; enquanto Capelin (2012) observou valores médios de mono e sesquiterpenos de 59,03% e 33,91%, respectivamente.



As diferenças observadas por autores no conteúdo de óleo essencial das plantas podem ser oriundas tanto da variabilidade genética como da metodologia empregada.

## 2.4 Biossíntese de artemisinina

Com o objetivo de combater a malária, diversos laboratórios no mundo passaram a pesquisar a biossíntese de artemisinina para incrementar a produção do composto na planta (ALEJOS-GONZALEZ *et al.*, 2013). Entretanto, muitos insucessos ocorrem devido à complexidade da síntese de artemisinina (ALAM e ALBAWI, 2020).

Na planta, o composto se concentra na superfície das folhas e flores, em tricomas glandulares (FERREIRA; JANICK, 1996). Os tricomas glandulares secretores são responsáveis pela biossíntese e pelo sequestro de ART na planta (SHUKLA *et al.*, 2018). Essas estruturas são pequenas proeminências presentes na epiderme de superfície foliar (TAN *et al.*, 2015) com capacidade de armazenar ou liberar substâncias variadas na planta, como metabólitos especializados (SCHILMILLER *et al.*, 2008).

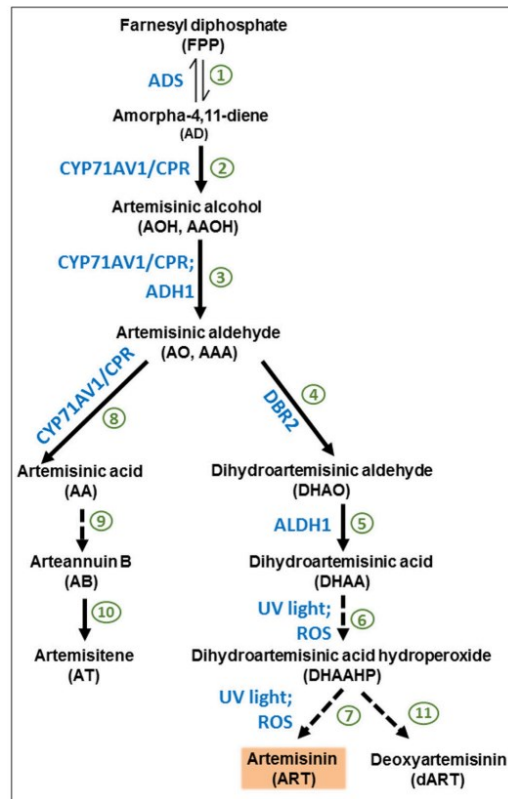
Embora Salehi *et al.* (2018) tenham observado uma grande diferença de densidade e de tamanho dos tricomas em diferentes espécies de *Artemisia* sp, não obtiveram uma relação entre essas características com o conteúdo de artemisinina.

Segundo Shukla *et al.* (2018), a maioria das enzimas presentes na rota biossintética são conhecidas e acredita-se que a etapa final da rota entre o DHAA e a ART provavelmente seja não-enzimática, isso devido à auto oxidação lenta do DHAA e ART.

As enzimas ADS (adenosil difosfato sintase), SQS (esqualeno sintase), HMGR (3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A redutase) e FPS (farnesil difosfato sintase) desempenham um papel-chave na rota de biossíntese de artemisinina (JIANG *et al.*, 2010). A via biossintética da ART (Figura 3) pertencente à via de metabólitos isoprenóide, com o isopentenil difosfato (IPF) como precursor, via farnesil difosfato (FPP).

O FPP forma amorfa-4, 11-diene através da amorfa-4, 11-diene sintase, que compromete o fluxo metabólito em direção à biossíntese de ART. O CYP71AV1 converte amorfa-4,11-dieno em aldeído artemisínico (em duas etapas) ou ácido artemisínico (em três etapas).

Figura 3 – Caracterização da biossíntese de artemisinina pela rota do farnesil difosfato. Fonte: Ferreira *et al.*, 2018. UTFPR, Pato Branco – PR, 2022.



Ferreira *et al.* (2018), avaliando três cultivares de Artemísia: cv. Artemis (Switzerland), cv. 3M (Brasil) e uma cultivar não identificada (China), obtiveram comportamentos diferentes entre elas. As plantas de origem brasileira apresentaram valores inferiores de DHAA comparados à ART, seguidos de valores baixos de ácido artemisínico (AA); para as plantas de origem chinesa, os valores de DHAA foram elevados, seguidos por ART e AA. Os resultados contribuem na linha de que o melhoramento da cultura pode seguir, enfatizando cruzamentos entre progênies desses países.

## 2.5 Manejo agronômico das plantas

Existem resultados discordantes a respeito do momento de maior acúmulo de ART em plantas. Ferreira *et al.* (2018) observam que genótipos de *A. annua* originários de diferentes países apresentaram o pico de acúmulo de ART ao final do período vegetativo na mesma época do ano, sugerindo que o fotoperíodo apresenta maior relação do que o florescimento.

Damtew *et al.* (2011) relatam que o máximo acúmulo de ART é obtido no momento que antecede o pleno florescimento, pois, como constatado pelos autores, plantas mais velhas acumulam mais ART, já que reduzem o desenvolvimento das folhas, permitindo o uso de carboidratos disponíveis para a síntese de compostos.

A densidade populacional do cultivo das plantas exerce efeito sobre o metabolismo especializado da planta. Em populações com densidade elevada, ocorre uma maior competição entre plantas por luminosidade, assim estas apresentam maior crescimento vertical.

Paul *et al.* (2011) observaram em germoplasma indiano que o conteúdo de ART teve correlação positiva com altura, número de ramos da planta e área foliar; mas correlação negativa quanto ao AA. Bolina *et al.* (2013) obtiveram em genótipos brasileiros correlação negativa do número de ramos, e com o volume de dossel da planta e a ART. Damtew *et al.* (2011) observaram que o conteúdo de ART nas plantas teve correlação negativa com o índice de área foliar, e biomassa seca das folhas.

Como o metabolismo especializado das plantas está correlacionado com o sistema de defesa delas, o manejo nutricional das plantas apresenta efeito direto sobre o mesmo, onde condições de estresse nutricional podem ser benéficas.

Damtew *et al.* (2011) utilizaram 67 kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio e 15 kg ha<sup>-1</sup> de fósforo, enquanto Paul *et al.* (2011) utilizaram uma adubação de 20:40:40 kg ha<sup>-1</sup> de NPK. Bilia *et al.* (2014) obtiveram o máximo de produção de óleo essencial, 85 kg ha<sup>-1</sup>, utilizando 67 kg de N ha<sup>-1</sup> em densidade de 5,5 plantas m<sup>-2</sup>. Os autores também observaram que a diminuir a densidade de plantas incrementou a ART em 32%, com menor competição, a quantidade de folhas nas plantas foi superior, podendo assim alocar recursos para a síntese de metabólitos especializados. Já Damtew *et al.* (2011) observaram uma redução no conteúdo de ART de 0,41% para 0,31%, aumentando a densidade de 10.000 para 49.383 plantas ha<sup>-1</sup>, respectivamente.

O metabolismo especializado pode apresentar respostas fisiológicas para as condições de estresse na planta. O metabolismo primário é afetado pelo estresse ambiental, afetando, assim, a assimilação de minerais para o crescimento da planta, tendo efeito na acumulação de ART (ALAM e ALBALAWI, 2020).

Por exemplo, Ferreira (2007) observou incremento de 75,5% na concentração de ART em plantas submetidas à deficiência de potássio, embora Who (2006) recomende o potássio como adubação de base das plantas. Marchese *et al.* (2010) observaram que um curto período de suspensão da irrigação em plantas de *A. annua* por 38 horas resultou em um incremento de 29% no conteúdo de ART, sugerindo que um curto estresse hídrico pode ser benéfico. Os autores sugerem que a ART deva integrar parte do sistema de defesa da planta a estresses, como o hídrico.

## **2.6 Melhoramento genético de *Artemisia annua* L.**

Aproximadamente 10% dos produtos de plantas medicinais e aromáticas provêm de cultivos comerciais, sendo o restante colhido de plantas selvagens, tornando-se mais barato, mas sem qualidade garantida (BARATA *et al.*, 2016), principalmente nos países asiáticos. Segundo Ferreira *et al.* (2005), isso acaba restringindo a variabilidade genética das plantas, pois ocorre a redução na geração de descendentes. Os autores ainda comentam que devido à alta variabilidade e à baixa concentração de ART em plantas selvagens, é requerida uma grande quantidade de biomassa seca de folhas para se obter uma boa quantidade da molécula.

Em programas de melhoramento, objetiva-se desenvolver plantas com caracteres superiores, de forma estejam diretas ou indiretamente ligadas à produção do composto desejado. O estabelecimento de uma relação entre morfologia e caracteres químicos, além de incrementar o rendimento, são objetivos quando se estuda o melhoramento genético para um ingrediente ativo (PAUL *et al.*, 2011). Isso se torna um desafio no caso da *A. annua*, pois se trata de uma planta alógama, cuja polinização cruzada resulta em progênies altamente heterozigotas (FERREIRA *et al.*, 2018).

Diversas metodologias podem ser empregadas para o melhoramento de plantas medicinais, como a seleção de plantas, a hibridação, a mutação, a cultura de tecidos, os marcadores de DNA, poliploidia ou transgenia (WANG, *et al.* 2020).

Tanto as cultivares de polinização aberta produzidas por seleção massal como os cultivares híbridas oriundas de intercruzamento de linhas heterozigotas apresentaram alta variabilidade planta a planta no conteúdo de ART (WETZSTEIN *et al.*, 2018).

Alejos-Gonzales *et al.* (2011) observaram em uma população F1 de Artemísia, sob autopolinização, a ocorrência de segregação nos caracteres de altura de plantas, no período de floração e alongamento do caule.

O conteúdo de ART possui uma herança quantitativa, associado a plantas vigorosas, com longos entrenós, ramos abertos, folhas densas e ramos mais grossos, e dossel ovalado, o que corrobora com os resultados obtidos em pesquisas em relação à redução no conteúdo de ART com aumento da densidade populacional de plantas (TIWARI, 2014; DAMTEW *et al.*, 2011; PAUL *et al.*, 2014). Segundo Paul *et al.* (2011), a correlação entre vários caracteres da planta com o caractere desejado, se encontrada, serve para desenvolver um índice de seleção das plantas com o objetivo de realizar o melhoramento genético de rendimento.

Pesquisas pioneiras no Brasil ajudaram a desenvolver genótipos adaptados e com maiores conteúdos de ART, como Magalhães *et al.* (1999), em Campinas. Marchese (2006) desenvolveu estudos para a caracterização do sistema fotossintético da planta, classificando-a como uma planta C3 e de dias curtos, com resposta absoluta/qualitativa e requerimento de baixas temperaturas para pleno florescimento. Bolina *et al.* (2014) e Zanatta (2018), em Pato Branco (PR), estimaram a variabilidade genética entre caracteres agrônômicos, fisiológicos e fitoquímicos em variedade de *A. annua*.

Wang *et al.* (2020) comentam que o melhoramento de plantas medicinais deve ser considerado um grupo a parte, e que podem ser observadas dificuldades no uso de métodos convencionais.

A metodologia de seleção por Modelos Mistos ou Lineares tem sido amplamente utilizada no melhoramento genético. A predição de valores genéticos e a estimativa da variância é fundamental em programas de melhoramento (RESENDE, 2016). O uso de metodologia Restricted Maximum likelihood/Máxima verossimilhança restrita (REML, Patterson and Thompson 1971) e Best linear unbiased prediction/Melhor preditor linear imparcial (BLUP, Henderson 1974) em Modelos Mistos é uma boa alternativa para a avaliação genotípica das plantas (RESENDE, 2016). Enquanto o BLUP é ótimo em predição de valores genéticos, o REML é ótimo

em estimar os valores de variância (RESENDE, 2004). Os modelos mistos também permitem uma predição acurada mesmo com dados desbalanceados, pois possibilita a avaliação de características do indivíduo como “família” e “medidas repetidas” no tempo de forma simultânea (Pereira *et al.* 2013).

Essa metodologia já foi utilizada em diversas culturas, como algodão (DE CARVALHO *et al.*, 2016), café (PEREIRA *et al.*, 2013), cupuaçu (Maia *et al.*, 2011), pupunha (Neto *et al.*, 2013), maracujazeiro azedo (ASSUNÇÃO *et al.*, 2015), batata-doce (BORGES *et al.*, 2010), milho (MENDES *et al.*, 2012), laranjeira-doce (CAPISTRANO *et al.*, 2021), melão amarelo da (DA CRUZ NETO *et al.*, 2016). No entanto, não foram encontrados trabalhos publicados empregando a combinação das metodologias REML/BLUP em *A. annua*, mas sim utilizando apenas o BLUP, por Townseed *et al.* (2013). Os trabalhos variaram desde seleção de cultivares, seleção de progênies de meios-irmãos e análise de interação genótipo x ambiente. A variabilidade de espécies a qual já foi aplicada mostra que pode ser utilizada em *A. annua*.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Aspectos gerais de cultivo

O germoplasma deste trabalho era constituído de sementes de 20 famílias de meios-irmãos selecionadas por Zanatta (2018). Todos os experimentos realizados foram previstos dentro do plano de trabalho do convênio de cooperação “Seleção e melhoramento de *A. annua* para criação de cultivar(es)”, firmado entre UTFPR-PB e CPQBA/UNICAMP, coordenado pelos Drs. José Abramo Marchese (UTFPR) e Ilio Montanari (UNICAMP).

O projeto foi conduzido na área experimental do curso de Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, localizada na cidade de Pato Branco – Paraná. As coordenadas do local de cultivo são 26° 11' S de latitude, 52° 36' W de longitude e altitude aproximada de 760 m do nível do mar, com clima classificado como Cfa subtropical, segundo classificação de KÖPPEN (1948).

As mudas foram preparadas em casa de vegetação, com semeadura na última semana de julho em tubetes com volume aproximado de 100 ml contendo substrato composto por casca de pinus, turfa, fosfato natural, casca de arroz carbonizada, vermiculita, fibra de coco e adubo químico NPK (MAXFERTIL SUBSTRATOS). Na casa de vegetação foi mantido fotoperíodo artificial de modo a evitar a indução do florescimento das mudas com o uso de lâmpadas, que permaneciam ligadas das 16:00 às 02:00.

O plantio a campo ocorreu em outubro, quando as mudas possuíam aproximadamente 0,2 m, e o comprimento do dia estava acima do fotoperíodo crítico das plantas, conforme resultados de Marchese (2006).

#### 3.2 Manejo e seleção de plantas em 2020

Em 2020 foram utilizadas 20 famílias de *A. annua* originadas por seleção massal e propagadas por polinização aberta entre as plantas superiores selecionadas, procedimento realizado por Zanatta (2018).

O plantio ocorreu na data de 03/10/2019. O delineamento experimental adotado foi de blocos casualizados, constituído de 4 blocos, sendo que em cada bloco havia 20 famílias com 5 plantas cada, totalizando 400 plantas cultivadas em espaçamento de 1,25 entre linhas e 1 m entre plantas. O cálculo para a adubação havia sido feito com base na recomendação para *A. annua* determinado por Paladini

(2012), portanto, foram utilizados 70-30-45 kg ha<sup>-1</sup> de NPK, respectivamente, aplicado em cobertura juntamente ao plantio. Além disso, foi instalada irrigação localizada (gotejamento) nas plantas. Não foi realizada análise e correção de micronutrientes.

Nesta etapa, a avaliação e a seleção de plantas foram realizadas entre e dentro das famílias de *A. annua*, selecionando-se os melhores indivíduos de cada família e a recombinação das plantas superiores fenotipicamente.

A seleção das plantas foi baseada em caracteres agronômicos, eliminando as 4 plantas menos atrativas de cada família/repetição, realizando a colheita da planta remanescente. No final, foram mantidas 80 plantas sendo 4 plantas/família ou 1 planta/família/repetição. Sessenta e duas plantas foram consideradas viáveis para avaliação em 20 famílias de meios-irmãos, sendo sete delas com quatro plantas, dez com três plantas, duas com duas plantas e uma com apenas uma planta.

Das plantas selecionadas, foram colhidos os ramos deixando apenas a porção do topo da planta, para florescimento e produção de sementes para o ano seguinte. Com a parte da planta que foi colhida, foram realizadas as avaliações agronômicas e fotoquímicas. A colheita das plantas foi realizada nas datas de 17 a 20 de março de 2020, sendo realizada no início da manhã e no final da tarde, de modo que eram avaliados a caracteres agronômicos no momento da colheita.

As plantas selecionadas foram escoradas com varas de bambu após a coleta dos ramos para evitar a quebra do caule pela ação do vento. As sementes de cada planta selecionada foram colhidas individualmente conforme sua maturação e deixadas para secar em temperatura ambiente.

Das 80 plantas em campo, 23 delas foram colhidas sementes pois devido à pandemia do Sarscov-2, a segunda etapa da seleção que consistia em avaliações fitoquímicas não pôde ser realizada em tempo hábil na Universidade de Campinas (UNICAMP, em Campinas-SP) e no Instituto Agrônomo – Fazenda Santa Eliza (IAC, Campinas-SP). Assim, a seleção das plantas foi realizada exclusivamente em caracteres agronômicos e rendimento de óleo essencial.

### **3.3 Manejo e seleção de plantas em 2021**

A partir de 23 famílias de meios irmãos selecionadas no ano anterior foi instalado um experimento com três repetições em blocos ao acaso. Cada família de meio irmãos foi representada por três plantas. Também foi adicionado a cultivar comercial Artemis F2.



Devido às dificuldades na produção das mudas, o número de repetições de cada família e a quantidade de plantas dentro da família foram diferentes. As plantas foram dispostas em espaçamento de 1 x 1 m, com uma linha de bordadura em volta de todo o experimento.

O plantio para o campo foi realizado em 15 de outubro de 2020. A recomendação de adubação foi realizada de acordo com a metodologia do ano anterior. Assim, segundo o resultado da análise do solo (Tabela 1), para a adubação de NPK foram utilizados 140, 135 e 120 kg ha<sup>-1</sup>, respectivamente. A necessidade de água das plantas foi suprimida pelo sistema de irrigação localizada com mangueiras de gotejamento.

**Tabela 1 - Resumo da análise de solo. UTFPR, Pato Branco – PR, 2022.**

	<b>Bloco 1</b>	<b>Bloco 2</b>	<b>Bloco 3</b>	<b>Bloco 4</b>	<b>Média</b>
<b>MO gdm<sup>-3</sup></b>	40,21	40,21	36,19	36,19	38,2
<b>P mgdm<sup>-3</sup></b>	18,52	20,27	19,68	8,76	16,81
<b>K cmol c dm<sup>-3</sup></b>	0,43	0,46	0,69	0,46	0,51
<b>pH CaCl<sub>2</sub></b>	5,4	5,5	5,4	5,3	5,4
<b>Índice SMP</b>	6,5	6,5	6,5	6,3	6,4
<b>Al<sup>+3</sup> cmol c dm<sup>-3</sup></b>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
<b>H<sup>+</sup> Al cmol c dm<sup>-3</sup></b>	3,42	3,42	3,42	3,97	3,56
<b>Ca cmol c dm<sup>-3</sup></b>	5,4	5,4	5,2	4,00	5,00
<b>Mg cmol c dm<sup>-3</sup></b>	3,5	3,1	2,3	2,1	2,75
<b>SB cmol c dm<sup>-3</sup></b>	9,33	8,96	8,19	6,56	8,26
<b>V (%)</b>	73,18	72,37	70,54	62,3	69,59
<b>Sat. Al</b>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

MO: Matéria orgânica; gdm-3: gramas por decímetro cúbico, P: Fósforo, K: Potássio; SMP: Al: Alumínio, H+Al: Hidrogênio + alumínio, Ca: Cálcio, Mg: Magnésio, SB: Soma de bases, V (%): Saturação de bases, Sat. Al: Saturação de alumínio. Metodologias: M. O. Por digestão úmida; P e K extraídos com solução de Mehlich<sup>-1</sup>, pH em 2Ca.Cl 1:2,5; Ca, Mg e Al trocáveis extraídos com KCL 1 mol L<sup>-1</sup>.

A seleção das plantas dentro de família ocorreu no mês de março de 2021 seguindo os critérios agrônômicos. A colheita das plantas foi realizada nas datas de 15 a 18 de março, quando cerca de 50% das plantas haviam emitido o botão floral e ocorreu deixando a porção superior da planta para florescimento e produção de sementes (Figura 4).

Figura 4 - Plantas de *A. annua* no campo no momento da coleta de sementes. UTFPR, Pato



Branco-PR, 2022

### 3.4 Avaliações agronômicas

Na colheita das plantas foram mensurados os caracteres agronômicos de: altura de planta (ALPL, metros), altura de inserção do primeiro ramo plagiotrópico (AIP, centímetros), diâmetro da seção inferior, mediana e superior do dossel (DD<sub>i</sub>, DD<sub>m</sub> e DD<sub>s</sub>, respectivamente, metros), diâmetro da seção inferior, mediana e superior do ramo principal (DC<sub>i</sub>, DC<sub>m</sub>, DC<sub>s</sub>, respectivamente, mm) número de ramificações totais (NTR).

Após a colheita das plantas, foram separados os ramos e as folhas, e colocado para secar em estufa a 40 °C, com circulação de ar para eliminar a água e atingir massa constante. Após isso, foi obtida a massa seca das folhas e dos ramos

(MSF e MSR, kg), relação MSF/MSR (RFR) e biomassa total (BIOT, MSF + MSR, g planta<sup>-1</sup>)

### 3.5 Avaliações fisiológicas

As avaliações fisiológicas (trocas gasosas) foram realizadas entre as 8:00 e 10:00h, em uma folha expandida do terço mediano de cada planta. Para isso foi utilizado um sistema de medição de trocas gasosas, equipado com um analisador infravermelho de gases (IRGA), modelo LI-6400XT (LICOR, Lincoln, Nebraska – USA), com injetor automático de CO<sub>2</sub> e uma fonte artificial de luz vermelha e azul. As variáveis analisadas foram taxa de assimilação de CO<sub>2</sub> ( $\mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), condutância estomática ( $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), concentração intracelular de CO<sub>2</sub> ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$ ), taxa de transpiração ( $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) e eficiência no uso de água ( $\mu\text{mol mol}^{-1}$ ).

Devido à dificuldade em leitura de trocas gasosas nas plantas, os caracteres fisiológicos foram mensurados em 26 plantas de diferentes famílias, sendo duas leituras em cada planta. Para estimativa da área foliar das plantas, foi realizada a estimativa de área foliar em 30 folhas sendo utilizado como valor estimado de 3 cm<sup>2</sup> para a área foliar. As leituras foram realizadas entre as 09:00 e 11:00 horas.

Foi utilizado a PAR (Radiação fotossinteticamente ativa) de 1200  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  e fluxo de CO<sub>2</sub> fixo de 350  $\mu\text{mol s}^{-1}$ , umidade dentro da câmara variável entre 50 e 60%, sendo mantido um fluxo de CO<sub>2</sub> de 400  $\mu\text{mol s}^{-1}$ .

### 3.6 Avaliações fitoquímicas

#### 3.6.1 Quantificação de artemisinina

Foram selecionadas 32 plantas para quantificação de ART sendo realizada apenas uma extração em cada amostra. Após as folhas estarem secas, foram moídas em moinho com malha de 1,0 mm para homogeneização do material. A quantificação de ART foi realizada seguindo a metodologia de Ferreira (2007) e Ferreira e Gonzalez (2008). Para cada amostra, foram obtidos 500 mg de folha seca moída.

As amostras foram submetidas à extração intermitente durante uma hora, em 70 mL de éter de petróleo (PA, 30-60°, QUÍMICA MODERNA) por refluxo de solvente em temperatura de 40° C, em equipamento TE-045/08 (TECNAL), utilizando o método Goldfish, que consiste na extração contínua por refluxo com o solvente quente,

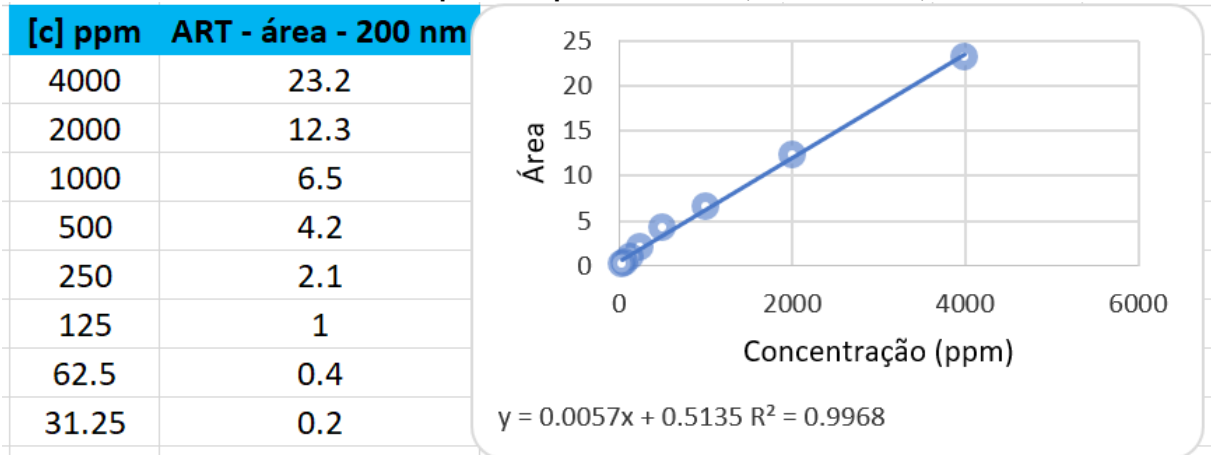
diferente do Soxhlet, que usa sistema intermitente de extração ([https://tecnal.com.br/pt-BR/blog/228\\_determinacao\\_de\\_gordura\\_goldfish\\_x\\_soxhlet](https://tecnal.com.br/pt-BR/blog/228_determinacao_de_gordura_goldfish_x_soxhlet)), o que resulta na extração de 95-98% da ART e seus precursores.

Após o processo de extração, o produto foi transferido para beakers e colocado em capela de exaustão no escuro para evaporação do éter de petróleo até o dia seguinte. Foi realizada duas lavagens com 10 mL de acetonitrila (Gradiente para Cromatografia Líquida, SUPELCO), em cada uma, garante a remoção de 95-97% da ART e seus precursores (FERREIRA *et al.*, 2011). A solução resultante da lavagem foi filtrada em filtro PTFH – Hidrofílico (FILTRILO) com poros de 0,45 $\mu$ , e parte da solução foi filtrada e armazenada em vials de 1,5 mL para serem colocados no HPLC.

O Cromatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC modelo LC920, Varian) utilizado nas análises era composto por um amostrador automatizado de volume variável, unidade degaseificadora de solventes, forno de coluna, bomba quaternária de alta pressão, detector de índice de refração (IR), detector de arranjo de diodos (DAD), o qual permite o monitoramento de onda variável na região do ultravioleta e visível; e detector de fluorescência (FL) para desenvolvimento de detecção com maior sensibilidade e seletividade. Foi utilizada a coluna ACE 5 C18 (250 x 4,6 mm). A fase móvel foi constituída de 60% de acetonitrila e 40% de solução a 0,1% ácido acético aquoso (pH 3,2) com uma taxa de fluxo de 1,0 mL/min e uma janela de coleta de dados de 15 min. O tempo de análise foi de aproximadamente 15 min, com um volume injetado de 10  $\mu$ L por amostras em um comprimento de onda de 190 a 400 nm, com a detecção da ART no comprimento de onda de 200 nm.

A detecção da ART foi realizada em amostragem única e a quantificação por uma curva padrão com concentrações de padrão analítico de ART (98%, MERCK), apresentado na figura 5.

Figura 5 - Diluições do padrão para confecção da curva analítica de artemisinina (ART) por HPLC realizado a partir de padrão. UTFPR, Branco – PR, 2022.



### 3.6.2 Extração e composição do óleo essencial

Em ambos os anos, a extração do óleo essencial foi realizada no Laboratório de Bioquímica e Fisiologia Vegetal da Universidade Tecnológica Federal do Paraná. O método utilizado foi hidrodestilação.

Nesta metodologia, 100 g de massa de folhas secas de cada planta de *A. annua* era acondicionada em um balão de fundo redondo de 2 L e adicionado 1 L de água destilada; posteriormente, o balão era colocado em uma manta de aquecimento com temperatura controlada e acoplado a um sistema Clevenger.

A extração ocorreu por três horas após o início da condensação. Após, foi quantificado o conteúdo de óleo essencial (COL, g 100 g<sup>-1</sup> MSF); para a estimativa do rendimento de óleo essencial (ROL, kg ha<sup>-1</sup>). Após isso, as amostras foram armazenadas em geladeira a 4 °C, em vidros âmbar.

A identificação e a quantificação dos componentes do óleo essencial foram realizadas em amostras do ano de 2021, no departamento de Fitoquímica do IAC de Campinas – SP. Na metodologia, foi pesado 1 de óleo essencial em vials de 1,5 mL; posteriormente, foi adicionado 1 mL de acetato de etila (grau cromatográfico, MERK) em cada frasco antes de ser colocado no equipamento.

A metodologia empregada foi Cromatografia a gás, em sistema CG-EM Thermo Scientific, composto de cromatógrafo a gás (CG, TRACE 1310 SERIES), espectrômetro de massa (EM modelo ISQ 7000) e detector de ionização de chama (DIC) com divisão de fluxo de 3:7, para o EM e DIC, respectivamente. O injetor foi mantido a 220 °C com divisão de vazão do gás de arraste (hélio) na razão (split) de 1:20, interface a 240 °C e detector a 250 °C. O espectrômetro de massas (EM) operou

no modo full scan, com impacto de elétrons (70 eV) e faixa de aquisição de 40 a 450 m/z.

A separação das substâncias foi realizada em coluna capilar Rtx-5 MS (20 m x 0,18 mm x 0,2  $\mu\text{m}$ ), com vazão de gás de arraste de 1 mL min<sup>-1</sup> no seguinte programa de temperatura: 60°C – 240°C, 3°C min<sup>-1</sup>. A quantificação das substâncias foi realizada pelo método de normalização de área.

A identificação das substâncias foi efetuada por meio da análise comparativa dos espectros de massas com as bibliotecas National Institute of Standards and Technology (NIST 14) e Flavour & Fragrance Natural & Synthetic Compounds (FFNSC3), e os índices de retenção linear das substâncias com a literatura (Adams, 2017). Os índices de retenção foram obtidos a partir da injeção de uma série de n-alcenos (C9-C24, Sigma-Aldrich) nas mesmas condições cromatográficas das amostras, aplicando-se a equação de Van den Dool e Kratz (1963).

**Figura 6 - Cromatógrafo a gás (TRACE 1310 SERIES) acoplado a espectrômetro de massas (ISQ 7000) utilizado nas análises dos óleos essenciais, UTFPR, Pato Branco, 2022.**

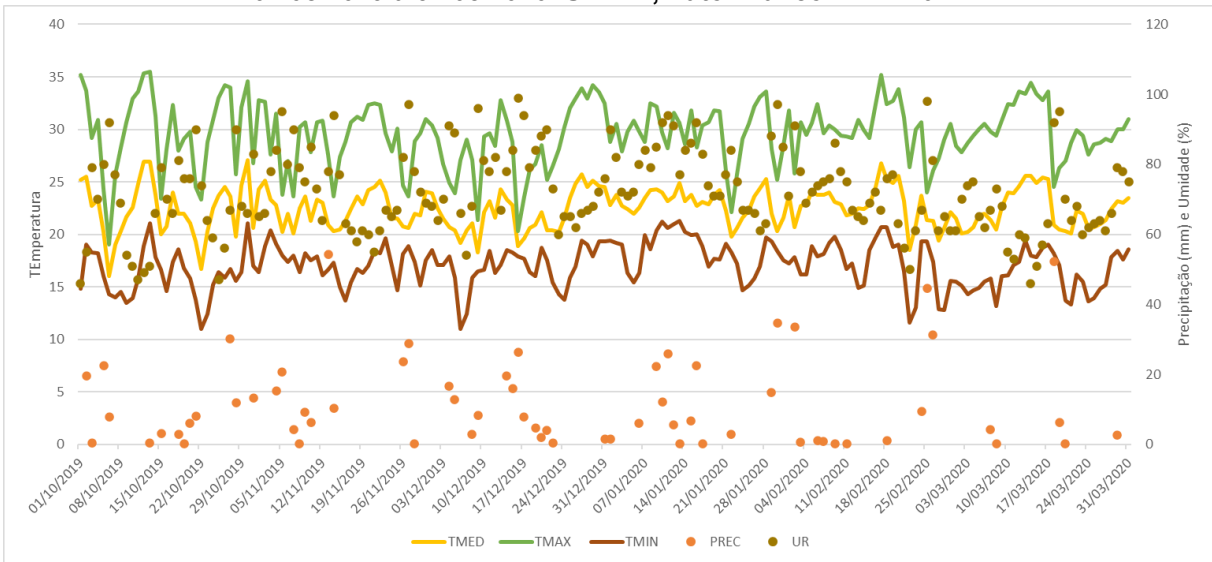


### 3.7 Dados climáticos

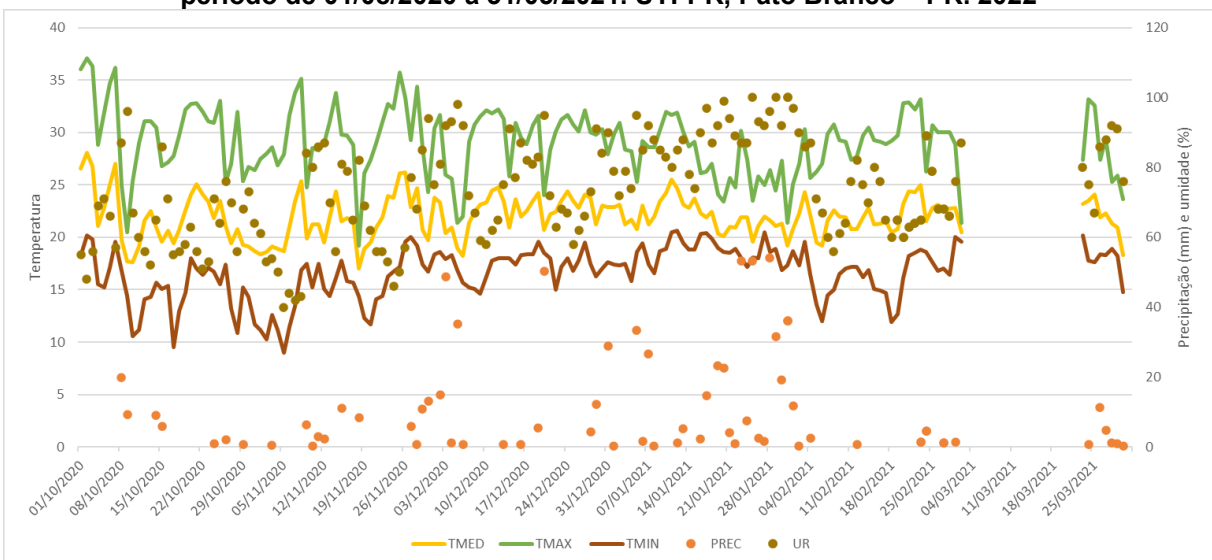
Os dados de temperatura, umidade e precipitação foram obtidos no site do IDR – PR. Para o período de 2019/2020, as plantas permaneceram no campo por aproximadamente 166 dias, tendo uma precipitação acumulada de 705 mm e

temperatura média de 22.5 °C. Já para o ano de 2020/2021, as plantas permaneceram no campo por aproximadamente 159 dias e a precipitação acumulada foi de aproximadamente 732 mm, com temperatura média de 22 °C.

**Figura 7 - Dados diários de condições climáticas de temperatura mínima (TMIN) média (TMED), máxima (TMAX), precipitação (PREC) e umidade relativa (UR) para Pato Branco no período de 01/08/2019 a 31/05/2020. UTFPR, Pato Branco – PR. 2022**



**Figura 8 - Dados históricos de condições climáticas de temperatura mínima (TMIN) média (TMED), máxima (TMAX), precipitação (PREC) e umidade relativa (UR) para Pato Branco no período de 01/08/2020 a 31/05/2021. UTFPR, Pato Branco – PR. 2022**



### 3.8 Análise estatística dos dados

A análise de dados e seleção de genótipos foi realizada pela abordagem de modelos mistos. Utilizando o programa estatístico Selegen-Reml/Blup, desenvolvido pelo professor Marcos Deon Vilela de Resende (EMBRAPA Florestas – 2006), que foi fundamentado em procedimentos de estimação de componentes de variância e de predição de valores genéticos.

Foi utilizado a Avaliação de Indivíduos em Progênes de Meios Irmãos (ou Polinização Aberta em Espécies Alógamas) - Uma Observação por Parcela – Blocos Incompletos (Modelo 15). O modelo estatístico do método é apresentado na equação 1:

**Equação 1 – Modelo estatístico**

$$y = Xr + Za + Wb + e$$

em que  $y$  é o vetor de dados,  $r$  é o vetor dos efeitos de repetição (assumidos como fixos) somados à média geral,  $a$  é o vetor dos efeitos genéticos aditivos individuais (assumidos como aleatórios),  $b$  é o vetor dos efeitos de blocos (assumidos como aleatórios),  $e$  é o vetor de erros ou resíduos (aleatórios). As letras maiúsculas representam as matrizes de incidência para os referidos efeitos.

Estimadores iterativos dos componentes de variância por REML via algoritmos EM (Expectation-Maximização) foram:

**Equação 2 - Variância genética aditiva.**

$$\sigma_a^2 = \frac{a'A^{-1}a + \sigma_e^2 TR(A^{-1}C22)}{q}$$

**Equação 3 - Variância residual.**

$$\sigma_e^2 = \frac{y'y - b'\chi'y - \hat{a}'Z'y}{N - r(x)}$$

**Equação 4 - Variância fenotípica individual**

$$\sigma_f = \sigma_a + \sigma_{parc} + \sigma_e$$



**Equação 5 - Herdabilidade individual no sentido restrito no bloco**

$$h^2 = \frac{\sigma_a}{\sigma_f}$$

**Equação 6 - Coeficiente de variação genética aditiva individual**

$$CV_{gi} = \frac{[(0.75\sigma_a + \sigma_e)]/3 + \sigma_{parc}^{1/2}}{x} * 100$$

**Equação 7 - Acurácia da seleção de progênie**

$$Ac_{prog} = \sqrt{h_{mp}^2}$$

Posteriormente, foi realizada a análise de correlação entre caracteres, pela metodologia de Pearson, utilizando os pacotes Coorplot (WEI e SIMKO, 2021) e Agricolae (MENDIBURU, 2021) dentro da linguagem de programação Rstudio (R Core Team 2021).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Seleção de plantas em 2020

#### 4.1.1 Análise de caracteres agronômicos

Entre as 80 plantas no campo, foram mantidas 62 plantas de 20 famílias, sendo 4 famílias com 4 plantas, 3 com 3 plantas, 3 com duas plantas e uma com uma planta para dar continuidade ao estudo. A Tabela 2 apresenta a estatística descritiva dos caracteres.

**Tabela 2 - Estatística descritiva dos caracteres agronômicos de *A. annua* em 2020. UTFPR, Pato Branco – PR. 2022.**

VARIÁVEL	CV	MAX	MÉDIA	MIN
DC	24,11	23,92	13,89	7,65
AIP	63,15	30	8,46	0
AIPI	13,80	2,86	2,28	1,53
DD_m	25,83	3,8	2,47	1,5
NTR	36,63	30	17,13	10
MSR	46,13	1994,29	801,20	247,58
MSF	44,27	576,3	221,07	32,3
BIOT	44,03	2517,53	1022,27	279,88
RFR	31,81	0,53	0,29	0,13

DC: Diâmetro da seção mediana do caule (mm); AIP: Altura de inserção do primeiro par de ramos plagiotrópicos (cm); ALPL: altura da planta(m), DD\_m: Diâmetro da seção mediana do dossel (m), NTR: número total de ramos; MSR: Massa seca de ramos (g); MSF: Massa seca de folhas (g), BIOT: Biomassa total da parte aérea (g); RFR: Relação folha/ramos (MSF/MSR).

Os caracteres apresentam coeficientes de variação elevados, sendo a altura de inserção do primeiro para ramos plagiotrópicos (AIP), com o maior observado (63,15%), e a altura de planta (ALPL), sendo o menor (13,80%). O baixo CV da ALPL mostra que este caractere apresentou a menor variabilidade entre as plantas.

Os valores elevados para o CV de MSR e MSF (46,13% e 44,27%, respectivamente) são resultados da alta variabilidade genética nas plantas avaliadas; e, por ser o segundo ano de seleção, ainda apresentam alta heterozigose. Zanatta (2018) obteve valores de CV elevados para estes caracteres, 29,6 e 24,0%,

respectivamente. Estes resultados estão bem acima dos obtidos por Capelin (2012), que obteve valores entre 8 e 15%.

Os resultados de CV para os caracteres agrônômicos de *A. annua* são variados na literatura, sendo altamente influenciados pelo método de propagação utilizado para obtenção das plantas, sementes ou clonagem.

A tabela 3 se refere aos componentes de variância obtidos por meio dos procedimentos REML (Máxima verossimilhança restrita) dos caracteres agrônômicos em 2020.

**Tabela 3 - Componentes de Variância (REML Individual) dos caracteres agrônômicos de *A. annua* em 2020. UTFPR, Pato Branco-PR, 2022.**

	MSR	MSF	BIOT	RFR	DC_m	AIP	ALPL	DD_m	NTR
<b>Va</b>	2140,64 (1,32 %)	5587,75 (60,97%)	8188,06 (3,63%)	0,00	3,57 (30,20%)	1,21 (1,06%)	0,01 (10%)	0,01 (2,5%)	22,48 (77,89%)
<b>Vbloc</b>	56416,65 (34,76 %)	9,69 (0,11%)	60429,17 (26,82%)	0,00	0,01 (0,08%)	0,13 (0,11%)	0,00	0,09 (22,5%)	0,06 (0,21%)
<b>Ve</b>	103749,54 (63,92 %)	3567,99 (38,93%)	156630,76 (69,54%)	0,01 (100 %)	8,24 (69,17%)	113,35 (98,83%)	0,10 (90%)	0,30 (75%)	6,32 (21,9%)
<b>Vf</b>	162306,83 (100%)	9165,43 (100%)	225247,99 (100%)	0,01 (100%)	11,82 (100%)	114,69 (100%)	0,10 (100%)	0,40 (100%)	28,86 (100%)
<b>h2a</b>	0,013 ± 0,082	0,601 ± 0,501	0,04 ± 0,137	0,102 ± 0,229	0,302 ± 0,395	0,011 ± 0,074	0,057 ± 0,172	0,019 ± 0,099	0,779 ± 0,639
<b>c2bloc</b>	0,35	0,00	0,27	0,00	0,00	0,00	0,02	0,23	0,00
<b>h2mp</b>	0,03	0,66	0,06	0,12	0,35	0,01	0,07	0,03	0,82
<b>Acprog</b>	0,16	0,81	0,25	0,35	0,59	0,11	0,27	0,17	0,90
<b>CVgi%</b>	5,54	35,43	8,64	9,70	13,69	10,12	3,38	3,37	27,71
<b>Média</b>	835,16	211,01	1047,28	0,29	13,80	10,89	2,28	2,56	17,11

**MSR: Massa seca de ramos (g); MSF: Massa seca de folhas (g), BIOT: Biomassa total de parte aérea; RFR: Relação folha/ramos (MSF/MSR); DC\_m: Diâmetro da seção mediana do caule (mm); AIP: Altura de inserção do primeiro par de ramos plagiotrópicos (cm); ALPL: altura da planta(m), DD\_m: Diâmetro da seção mediana do dossel (m); NTR: Número total de ramos. Va: variância genética aditiva; Vbloc: variância ambiental entre blocos; Ve: variância residual; Vf: variância fenotípica individual; h2a = h2: herdabilidade individual no sentido restrito, ou seja, dos efeitos aditivos com desvio padrão; c2bloc = c2: coeficiente de determinação dos efeitos de bloco; h2mp: herdabilidade da média de progênie, assumindo sobrevivência completa; Acprog: acurácia da seleção de progênie, assumindo sobrevivência completa; CVgi%: coeficiente de variação genética aditiva individual.**

A seleção dos caracteres agrônômicos mostrou eficiência para os caracteres MSF, MSR e DC\_m, os demais não apresentaram interesse no estudo. Segundo Resende (2004), o método REML permite o não cumprimento da independência dos erros, permitindo maior flexibilidade na modelagem e que o método REML é uma generalização da ANOVA para situações mais complexas.

Pode ser observado que, para a maioria dos caracteres, exceto MSF e NTR, a variância residual (Ve) representou mais de 60% da variância fenotípica (Vf) observada. Segundo Atroch *et al.*, (2013) caracteres de rendimento geralmente são

controlados por muitos genes, assim, tornam-se grandemente influenciados por fatores ambientais, aumentando o valor da variância residual e diminuindo o valor da herdabilidade.

Os valores do coeficiente de determinação dos efeitos de bloco ( $C^2_{\text{bloc}}$ ) quantificam a variabilidade existente entre os blocos. Os maiores valores foram observados para MSR, BIOT e DD\_m. Valores elevados indicam variabilidade entre os blocos, enquanto valores baixos indicam pequena variabilidade. As plantas foram conduzidas em densidade de 8.000 plantas  $\text{ha}^{-1}$  (Espaçamento 1 x 1,25m) e essa competição entre plantas no estágio final de desenvolvimento causam maior efeito ambiental.

Os valores de  $V_a$  sendo maiores do que os de  $V_e$  para MSF e NTR indicam que a seleção fenotípica pode ser realizada, pois, segundo Rodrigues *et al.* (2017), quando o inverso ocorre, a seleção fenotípica é ineficiente. Os valores elevados de  $V_a$  para NTR, MSR e MSF indicam grande variabilidade genética aditiva, portanto, a sua seleção aumenta as chances de sucesso no programa de melhoramento.

A herdabilidade quantifica a fração da variação fenotípica de natureza que pode ser herdável para as gerações seguintes (ROSADO *et al.*, 2012). A herdabilidade da média de genótipos ( $h^2_{mg}$ ) é estimada quando se usam médias como unidade de avaliação/seleção. Neste caso, atinge-se um nível significativo de precisão em razão da diminuição dos erros experimentais pelo incremento proporcional do número de repetições. Resende (1997) classifica as herdabilidades em baixa magnitude quando  $0,01 \leq h^2 \leq 0,15$ , moderada magnitude quando  $0,15 < h^2 < 0,50$ , e magnitude alta quando  $h^2 \geq 0,50$ . Assim sendo, apenas a MSF e NTR apresentaram herdabilidade alta, as demais são classificadas em herdabilidade baixa e mediana.

Os baixos valores de herdabilidade individual, no sentido restrito ( $h^2_a$ ), podem ser oriundos do fato de ser o terceiro ano de seleção das plantas, Rodrigues *et al.* (2017) também obtiveram resultados similares com o terceiro ciclo de seleção em meios-irmãos de pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth.).

Segundo Maia *et al.* (2014), a Acprog refere-se à correlação entre o valor genotípico verdadeiro sempre visado, pois, assim, menores são os desvios absolutos entre valores genéticos paramétricos e valores genéticos estimados.

A Acprog dos caracteres oscilou entre 11% (AIP) e 90% (NTR). Os valores observados em MSF (81%) e NTR (90%) indicam uma acurácia muito alta, por estarem próximos a 100%. Essa medida de acurácia está diretamente ligada à

precisão na seleção, referindo-se à correlação entre os valores genéticos preditos e os valores genéticos verdadeiros dos indivíduos (MAIA *et al.*, 2014, RESENDE, 2002).

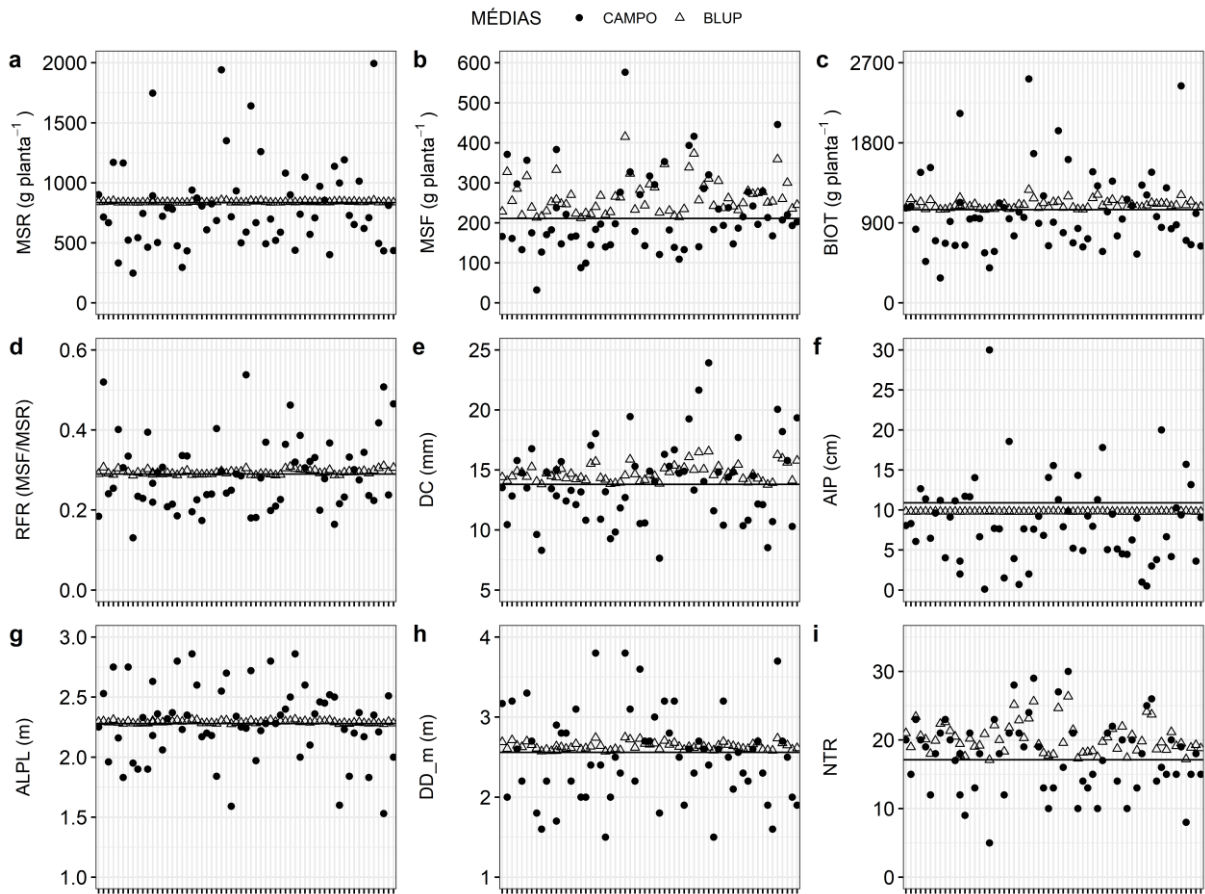
Os valores de CVgi permitem inferir sobre a magnitude da variabilidade das populações, comparando níveis de variabilidade entre diferentes populações, ambientes e caracteres, pois é expressa em relação à média dos caracteres nas populações (SILVA, 2013). Segundo Rocha *et al.* (2006), valores elevados para o CVgi indicam uma grande variabilidade entre as plantas, facilitando que progênies com caracteres desejados sejam encontrados entre as plantas, como foi visto para os caracteres MSF e NTR.

A seleção das plantas superiores procedeu-se pela metodologia REML/BLUP (Tratamento como efeito aleatório), pois, segundo Resende (2004), quando se tem 10 ou mais acessos, essa metodologia se torna mais eficiente do que a comparação de médias (Tratamentos como efeitos fixos).

Podemos observar que quanto maior o número de avaliações nas plantas, mais próxima está a estimativa da média geral com as estimativas de BLUP, como para MSR, RFR, AIP e ALPL (Figura 9). Apenas o caractere AIP teve as médias de BLUP estimadas abaixo da média geral, sendo que, também, a maioria das leituras a campo ficou abaixo da média geral. Os caracteres que apresentaram baixa Acprog (Tabela 3) apresentaram valores estimados de BLUP próximos a média geral, sendo MSR, BIOT, RFR, AIP, ALPL e DDM.

O caractere de MSF teve os maiores ganhos em comparação à média geral pela estimativa de BLUP (Fig. 9b). Enquanto a média ficou em 211,11 g, a estimativa máxima de BLUP foi >400 g, indicando-a como a melhor variável para obtenção de ganhos.

**Figura 9 - Comparativo entre a distribuição das leituras a campo e médias estimadas pelo BLUP em relação à média geral (linha) para os caracteres agrônômicos de *A. annua* em 2020. UTFPR – Pato Branco – PR, 2022.**

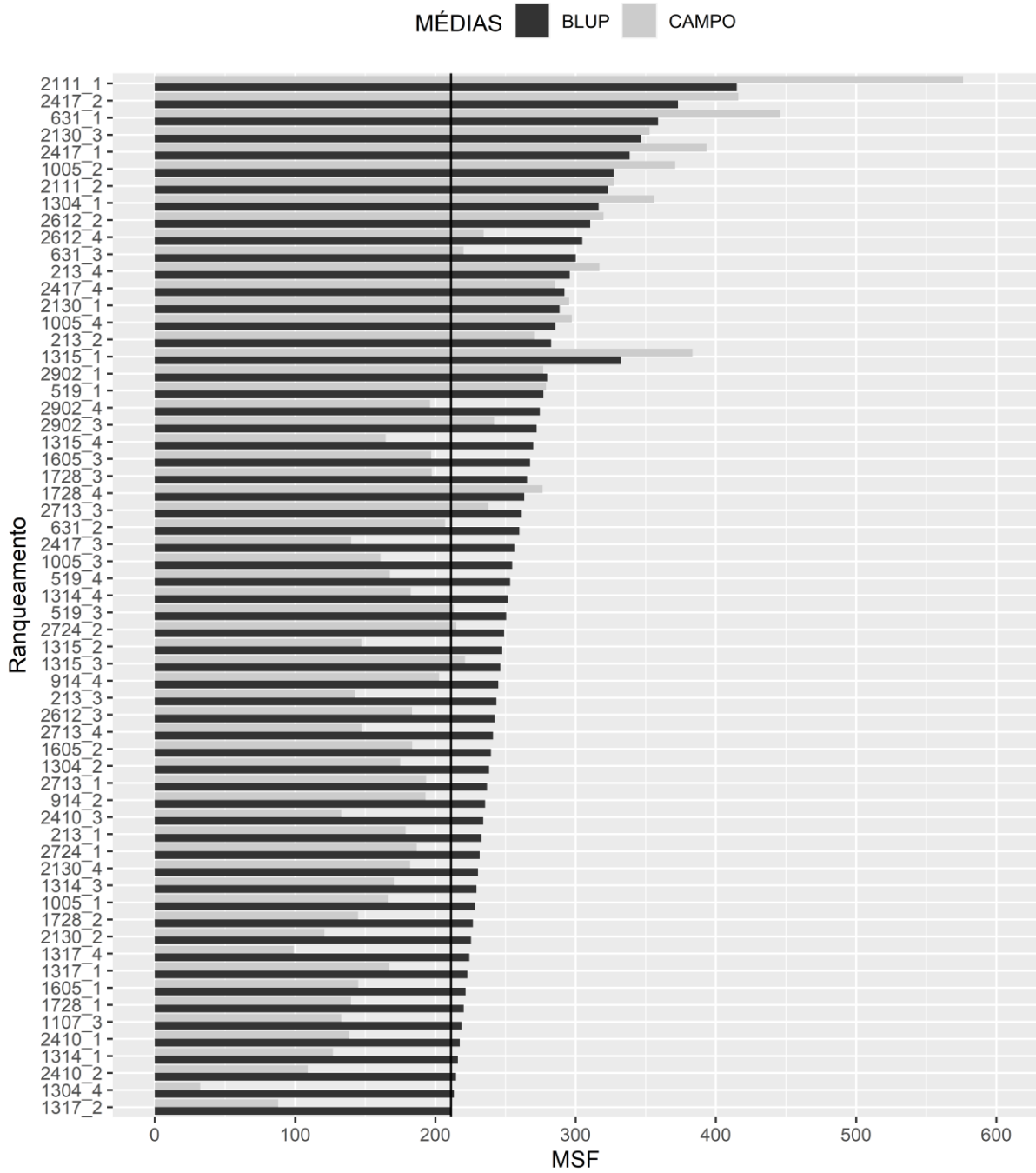


**a: Massa seca de ramos (g); b: Massa seca de folhas (g); c: Biomassa total de parte aérea (g); d: Relação folha/ramos (MSF/MSR); e: Diâmetro da seção mediana do caule (mm); f: Altura de inserção do primeiro par de ramos plagiotrópicos (cm); g: altura da planta(m), h: Diâmetro da seção mediana do dossel (m); i: Número total de ramos.**

As médias estimadas pelo BLUP seguiram com a distribuição dos valores em relação à média geral. Quando a maioria das leituras a campo apresentou valores abaixo da média geral, a estimativa de BLUP foi similar para todas as plantas e próxima à média geral, devido à baixa herdabilidade obtida para os caracteres.

A figura 10 mostra o ranqueamento das plantas pela média estimada por BLUP. Observa-se que todas as estimativas foram iguais ou superiores à média geral obtida a campo ( $211 \text{ g planta}^{-1}$ ). O ranqueamento por BLUP não seguiu as médias obtidas a campo, fato esse devido ao método usado por BLUP para estimar os valores genéticos, em que são levados em consideração a variabilidade entre e dentro da família de meios-irmãos. A média estimada para a planta 2111\_1 foi superior às demais.

**Figura 10 - Ranqueamento de plantas de *A. annua* quanto ao caractere MSF pela média de BLUP em comparação ao valor da leitura a campo em 2020. UTFPR – Pato Branco – PR. 2022**



**MSF: Massa seca de folhas (g planta<sup>-1</sup>). A linha representa a média geral do caractere.**

#### 4.1.2 Conteúdo e rendimento do óleo essencial

A quantificação de teor e rendimento de óleo essencial (COL e ROL, respectivamente) foi realizada nas 62 plantas avaliadas em 2020. Na tabela 4 é apresentada a análise de componentes da variância.

**Tabela 4 - Componentes de Variância (REML Individual) para COL e ROL de *A. annua* em 2020. UTFPR, Pato Branco-PR, 2022.**

	COL	ROL
<b>V<sub>a</sub></b>	0,02 (13,33%)	45,42 (54,61%)
<b>V<sub>bloc</sub></b>	0,03 (20%)	2,77 (3,33%)
<b>V<sub>e</sub></b>	0,10 (66,67%)	34,98 (42,06%)
<b>V<sub>f</sub></b>	0,15	83,17
<b>h<sup>2</sup><sub>a</sub></b>	0,14 ± 0,27	0,55 ± 0,53
<b>c<sup>2</sup><sub>bloc</sub></b>	0,17	0,03
<b>h<sub>2mp</sub></b>	0,21	0,62
<b>Ac<sub>prog</sub></b>	0,46	0,79
<b>CV<sub>gi</sub></b>	13,24	36,15
<b>Média Geral</b>	1,10	18,65

COL: Conteúdo de óleo essencial (g 100 g MSF<sup>-1</sup>), ROL: Rendimento de óleo essencial (kg ha<sup>-1</sup>), V<sub>a</sub>: variância genética aditiva; V<sub>bloc</sub>: variância ambiental entre blocos; V<sub>e</sub>: variância residual; V<sub>f</sub>: variância fenotípica individual; h<sub>2a</sub> = h<sub>2</sub>: herdabilidade individual no sentido restrito, ou seja, dos efeitos aditivos com desvio padrão; c<sub>2bloc</sub> = c<sub>2</sub>: coeficiente de determinação dos efeitos de bloco; h<sub>2mp</sub>: herdabilidade da média de progênie, assumindo sobrevivência completa; Ac<sub>prog</sub>: acurácia da seleção de progênie, assumindo sobrevivência completa.

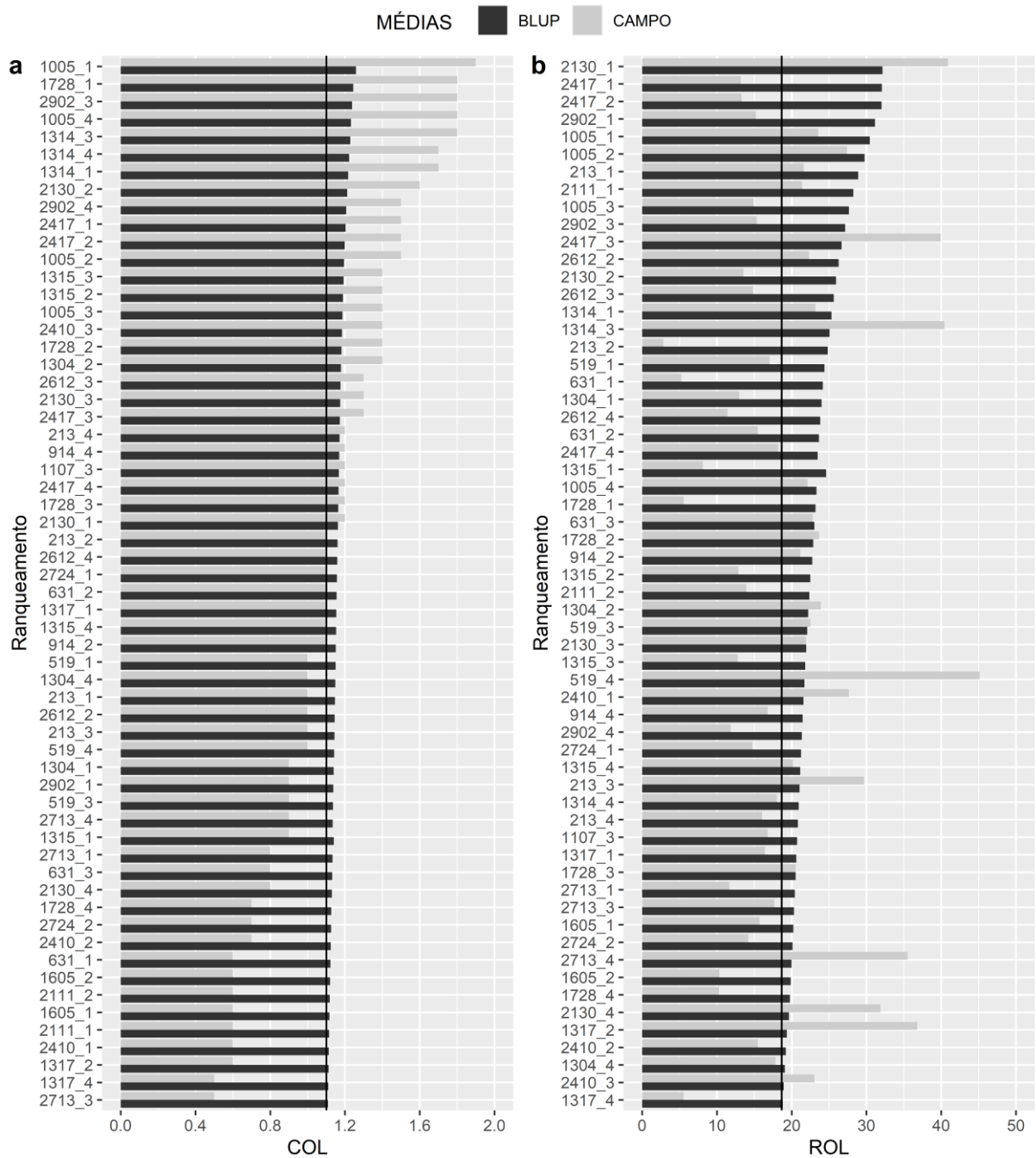
Para COL, a V<sub>e</sub> correspondeu a 66,67% da V<sub>f</sub>; enquanto para ROL, este valor foi de 42,06%, menos que a V<sub>a</sub>, com 54,61% de participação na V<sub>f</sub>. Associado a isto, temos o alto valor de h<sub>2a</sub>, que foi observado para COL (0,55 ± 0,53), similar ao alto valor observado para MSF (0,601 ± 0,501), uma vez que o ROL depende diretamente de MSF e COL. Os valores de CV<sub>gi</sub>, observados para MSR e ROL, foram similares, sendo de 35,43% e 36,15%, respectivamente.



Os valores de  $h^2$  obtidos para COL e ROL são 0,14 e 0,55, respectivamente, indicando que para a seleção de plantas com maior rendimento é mais prático, uma vez que este caractere é dependente de outros dois e a herdabilidade do caráter pode ser aumentado pelo maior controle ambiental. Considerando as 10 melhores plantas quanto ao rendimento de óleo essencial (ROL) na figura 11, apenas um deles esteve entre os 10 melhores ranqueados em MSF. Apenas os genótipos 1314\_2; 1314\_3 e 1314\_1 apresentaram comportamento similar entre as famílias de meios-irmãos. Isso é resultado do uso de sementes para a propagação das plantas, pois, considerando a polinização aberta da planta, as gerações seguintes tendem a apresentar grande variabilidade. Assim, a seleção deve ser por ROL e não por caracteres agronômicos.

Analisando o ranqueamento de COL e ROL, pode-se observar que as plantas tiveram um comportamento diferente. Para COL, as 10 plantas melhores ranqueadas foram 1005\_1; 1728\_1; 2902\_3; 1005\_4; 1314\_3; 1314\_4; 1314\_1; 2130\_2; 2902\_4 e 2417\_1; enquanto para ROL, foram 2130\_3; 2417\_2; 2417\_1; 2902\_3; 1005\_4; 1005\_2; 213\_4; 2111\_1; 1005\_1 e 2902\_4. Apenas as plantas 1005\_1; 1005\_4; 2130\_3; 2902\_3 e 2902\_4 foram as melhores ranqueadas em ambos. Isso evidencia que a seleção com base em um caractere no melhoramento de *A. annua* pode levar à seleção de plantas inferiores e sim uma seleção combinada com diferentes pesos para os caracteres na seleção.

**Figura 11 - Ranqueamento de plantas de *A. annua* quanto aos caracteres COL e ROL pela média de BLUP em comparação ao valor da leitura a campo em 2020. UTFPR – Pato Branco – PR. 2022**

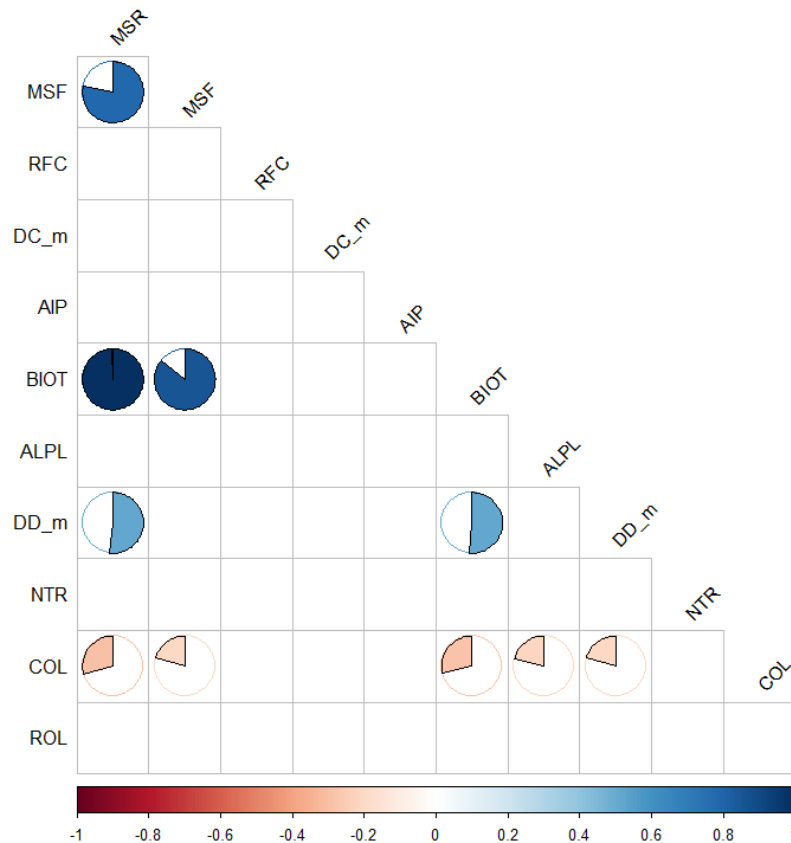


**COL: Conteúdo de óleo essencial ( $\text{g } 100 \text{ g}^{-1} \text{ MSF}$ ), ROL: Rendimento de óleo essencial ( $\text{kg ha}^{-1}$ ).  
A linha representa a média geral do experimento.**

#### 4.1.3 Correlação entre caracteres

A figura 12 apresenta a análise de correlação entre caracteres agrônômicos e fitoquímicos analisados em 2020. Entre os caracteres agrônômicos com alta herdabilidade (MSF, NTR e DD\_m) e que, portanto, são responsivos à seleção, a MSF é o principal caráter a ser considerado com o COL pois apresenta correlação fenotípica.

**Figura 12 - Correlação entre caracteres agrônômicos e fitoquímicos de *A. annua* em 2020. UTFPR, Pato Branco – PR. 2022**



**MSR: Massa seca de ramos; MSF: Massa seca de folhas; RFR: Relação MSF/MSR; DC\_m: Diâmetro da seção mediana do ramo principal; AIP: Altura de inserção do primeiro par de ramos plagiotrópicos; BIOT: Biomassa total da parte aérea; ALPL: Altura de planta; DD\_m: Diâmetro da seção mediana do dossel; NTR: número total de ramos; COL: conteúdo de óleo essencial (g 100 g MSF<sup>-1</sup>); ROL: Rendimento de óleo essencial (kg ha<sup>-1</sup>)**

**Apenas as correlações significativas a 5% apresentam o gráfico. Valores próximos a -1 (Coloração vermelha) indicam correlação negativa, enquanto valores próximos a 1 (Coloração azul) indicam correlação positiva.**

É possível observar que o caractere de COL é o mais correlacionado com os caracteres agronômicos de maneira inversa, pois este apresentou correlações negativas com os caracteres MSR, MSF, BIOT, ALPL e DD\_m. No entanto, as plantas 1728\_1, 2902\_3 e 1314\_3 apresentaram alto COL com menor MSF. Pode-se observar também a correlação positiva entre DD\_m e MSR, o que refletiu na correlação positiva de DD\_m com BIOT. A correlação negativa do COL é comum de ocorrer uma vez que, quando a planta prioriza o metabolismo primário, o metabolismo especializado recebe menos recursos.

#### 4.1.4 Plantas selecionadas em 2020

Devido aos atrasos relacionados à pandemia de Covid-19, as análises fitoquímicas de conteúdo e ART não puderam ser realizadas a tempo hábil, portanto, a seleção foi realizada baseada em caracteres agronômicos e COL e ROL; sendo, assim as plantas selecionadas foram: 1005\_2; 2713\_3; 2612\_4; 213\_1; 1315\_2; 1107\_3; 2417\_4; 2612\_3; 213\_4; 519\_3; 2410\_3; 1317\_4; 519\_4; 2902\_3; 2417\_1; 1314\_4; 2713\_4; 2130\_4 e 1728\_3.

## 4.2 Seleção de plantas em 2021

### 4.2.1 Seleção de caracteres agronômicos

Foram identificadas plantas dentro de cada família em cada bloco para avaliação de caracteres agronômicos e fitoquímicos. Para os caracteres agronômicos, houve 20 famílias de meios-irmãos, sendo seis delas com 3 plantas, doze com duas plantas e a cultivar Artemis com duas plantas, totalizando 43 plantas. A tabela 5 apresenta as estatísticas descritivas dos caracteres agronômicos das plantas colhidas no ano de 2021.

**Tabela 5 - Estatística descritiva das de caracteres agrônômicos de *A. annua* em 2021. UTFPR, Pato Branco, 2022.**

VARIÁVEL	CV	MÁXIMO	MEDIA	MÍNIMO
MSR	37,95	1467,39	813,33	41,91
MSF	30,48	486,59	278,64	79,39
RFR	76,18	1,89	0,43	0,18
BIOT	34,22	1846,56	1091,96	121,3
ALPL	12,38	2,97	2,39	1,72
DD_i	25,13	4,55	2,89	1,30
DD_m	29,79	6,92	3,34	1,50
DD_s	25,53	5,53	3,22	1,30
DC_i	41,44	55,13	34,91	10,38
DC_m	29,10	20,77	14,56	5,26
DC_s	31,94	16,65	9,60	4,40
NTR	20,19	75,00	54,70	22,00
AIP	80,84	10,00	3,15	0,10

CV: Coeficiente de variação; MSR: Massa seca dos ramos (g); MSF: Massa seca de folhas (g); RFR: Relação MSF/MSR; DD\_i: Diâmetro da sessão inferior do dossel (m); DD\_m: Diâmetro da seção mediana do dossel (m); DD\_s: Diâmetro da sessão superior do dossel (m); DC\_i: Diâmetro da sessão inferior do ramo principal (mm), DC\_m: Diâmetro da sessão mediana do ramo principal (mm); DC\_s: Diâmetro da sessão superior do ramo principal (mm); NTR: número total de ramos; AIP: Altura de inserção do primeiro par de ramos plagiotrópicos (cm).

Na tabela 6, estão os componentes de variância obtidos por meio dos procedimentos REML (Máxima verossimilhança restrita). Com exceção da MSF e NTR, os caracteres avaliados apresentaram valores de Variância Residual ( $V_e$ ) superiores a 50%, caracterizando-a como responsável pela maior parte do valor da Variância Fenotípica ( $V_f$ ).

Os caracteres MSF e NTR apresentaram valores de  $h^2$  altos ( $h^2 > 0,5$ ), assim como no ano anterior. Segundo Mazurkiewicz (2019), a herdabilidade no sentido restrito representa a razão da variância genética aditiva pela variância fenotípica total; assim sendo, a herdabilidade no sentido restrito apresenta maior importância na prática, pois expressa a proporcionalmente a variação que pode ser herdada. A seleção desses caracteres nos ciclos de melhoramento torna-se a mais adequada em comparação às demais. Esses caracteres são fundamentais para a seleção das cultivares, pois, a baixa concentração da ART nas folhas pode ser compensada com um alto aporte de biomassa, gerando um bom rendimento por hectare.

**Tabela 6 - Componentes de Variância (REML Individual) dos caracteres agrônômicos de *A. annua* em 2021. UTFPR, Pato Branco—PR, 2022.**

	MSR	MSF	RFR	BIOT	ALPL	DD_i	DD_m
<b>Va</b>	3434,22 (3,56%)	3456,65 (53,56%)	0,17 (100%)	11227,06 (8,14%)	0 (1,23%)	0,01 (1,35%)	0,01 (0,89%)
<b>Vbloc</b>	71,84 (0,07%)	1,91 (0,03%)	0 0	54,46 (0,04%)	0 (4,94%)	0,07 (11,64%)	0,19 (17,34%)
<b>Ve</b>	92977,4 (96,37%)	2995,35 (46,41%)	0 0	126700,75 (91,82%)	0,08 (93,83%)	0,52 (87,02%)	0,91 (81,68%)
<b>Vf</b>	96483,45 (100%)	6453,92 (100%)	0,17 (100%)	137982,27 (100%)	0,08 (100%)	0,59 (100%)	1,12 (100%)
<b>h2a</b>	0,035 ± 0,162	0,535 ± 0,631	3,415 ± 1,593	0,08 ± 0,246	0,012 ± 0,094	0,014 ± 0,101	0,009 ± 0,083
<b>c2bloc</b>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	0,12	0,17
<b>h2mp</b>	0,03	0,46	0,00	0,06	0,01	0,01	0,01
<b>Acprog</b>	0,16	0,68	4189,00	0,25	0,10	0,11	0,09
<b>CVgi</b>	7077,00	20921,00	155712,00	9,55	1318,00	3055,00	9,97
<b>Média</b>	828044,00	281023,00	0,49	1109,64	2356,00	2941,00	3428,00
	DD_s	DC_i	DC_m	DC_s	NTR	AIP	
<b>Va</b>	0,01 (1,43%)	1,59 (0,67%)	12,07 (64,13%)	8,97 (98,9%)	76,03 (66,47%)	0,9 (13,95%)	
<b>Vbloc</b>	0 0	28,75 (12,2%)	0,07 (0,37%)	0,1 (1,1%)	0,26 (0,23%)	0,01 (0,16%)	
<b>Ve</b>	0,69 (98,57%)	205,38 (87,13%)	6,69 (35,55%)	0 0	38,1 (33,31%)	5,54 (85,89%)	
<b>Vf</b>	0,70 (100%)	235,72 (100%)	18,82 (100%)	9,07 (100%)	114,39 (100%)	6,45 (100%)	
<b>h2a</b>	0,008 ± 0,078	0,007 ± 0,071	0,007 ± 0,071	0,00	0,664 ±0,703	0,140 ± 0,322	
<b>c2bloc</b>	0,00	0,12	0,00	0,01	0,00	0,00	
<b>h2mp</b>	0,01	0,01	0,57	1,36	0,60	0,11	
<b>Acprog</b>	0,08	0,08	0,76	1,17	0,77	0,33	
<b>Cvgi</b>	2,35	3,65	24,24	35,99	15,75	30,87	
<b>Média</b>	3,21	34,57	14,33	9,30	55,35	3,08	

MSR: Massa seca dos ramos (g); MSF: Massa seca de folhas (g); RFR: Relação massa de folhas / massa de ramos; DD\_i: Diâmetro da sessão inferior do dossel (m); DD\_m: Diâmetro da sessão mediana do dossel (m); DD\_s: Diâmetro da sessão superior do dossel (m); DC\_i: Diâmetro do da sessão inferior do ramo principal (mm), DC\_m: Diâmetro da sessão mediana do ramo principal (mm); DC\_s: Diâmetro da sessão superior do ramo principal (mm); NTR: número total de ramos; AIP: Altura de inserção do primeiro par de ramos plagiotrópicos (cm). Va: variância genética aditiva; Vbloc: variância ambiental entre blocos; Ve: variância residual; Vf: variância fenotípica individual; h2a = h2: herdabilidade individual no sentido restrito, ou seja, dos efeitos aditivos; c2bloc = c2: coeficiente de determinação dos efeitos de bloco; h2mp: herdabilidade da média de progênie, assumindo sobrevivência completa; Acprog: acurácia da seleção de progênie, assumindo sobrevivência completa; Média: Média geral.

A baixa herdabilidade observada para alguns dos caracteres não significa ineficiência para a seleção deles, pois, segundo Assunção *et al.* (2015), ainda podem ser utilizados, mas resultam em menores ganhos por ciclo de seleção devido à baixa herdabilidade.

Em todos os caracteres avaliados, a Variância entre blocos ( $V_{\text{bloc}}$ ) representou baixa participação no valor da variância fenotípica, portanto, houve baixa variabilidade entre os meio-irmãos.

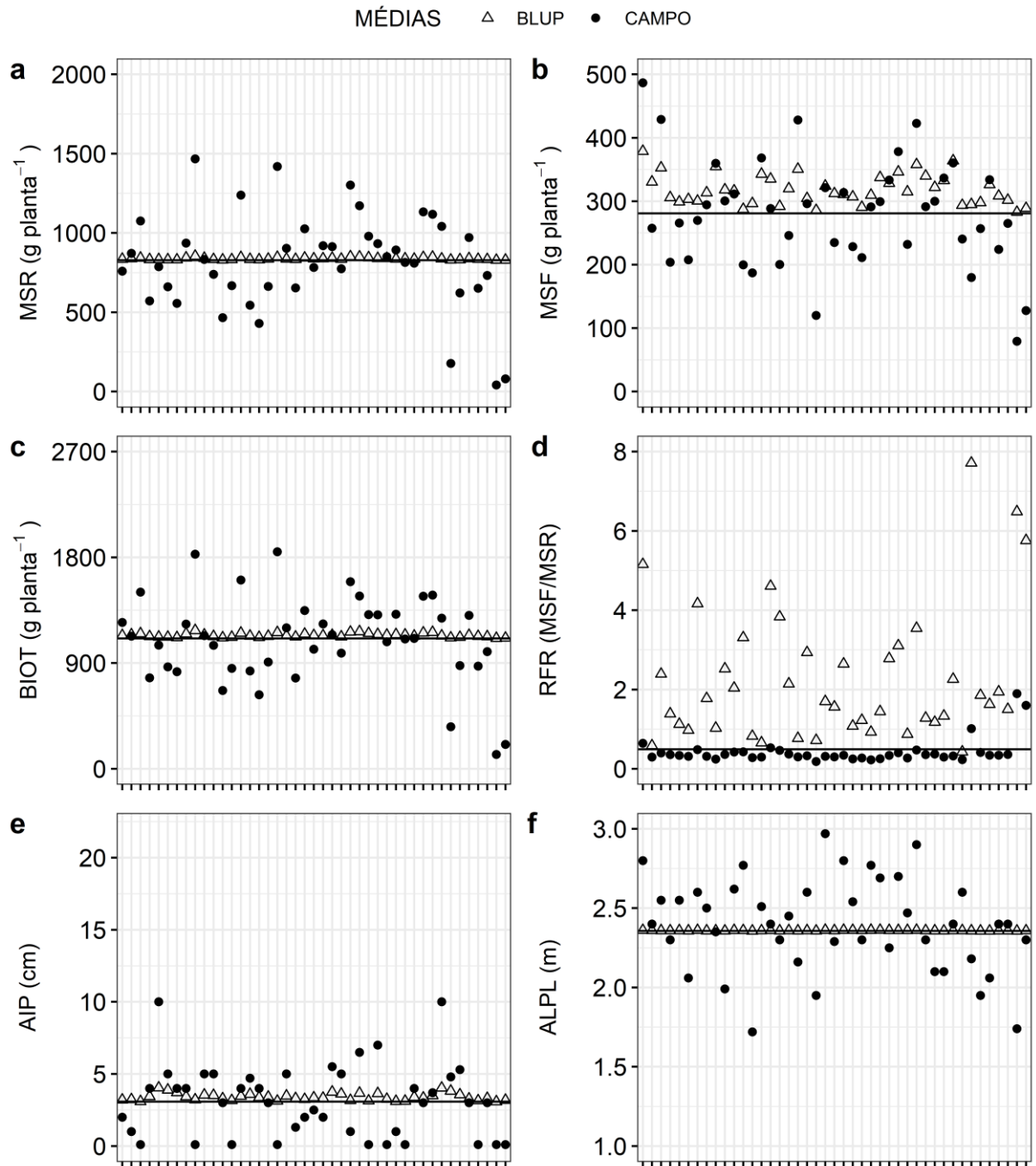
Os valores para o  $CV_{gi}$  foram similares aos do ano anterior, sendo observados maiores valores para MSR, DC<sub>m</sub>, NTR e AIP.

Segundo Resende (2004), o uso de metodologia BLUP permite maximizar a acurácia seletiva, minimizar erros de predição, maximizar o ganho genético por ciclo de seleção e maximizar a probabilidade de se selecionar o melhor entre vários genótipos.

As figuras 13 e 14 mostram a distribuição dos valores observados a campo e das médias estimadas por BLUP para os caracteres agronômicos observados no ano de 2021.

Pode ser observado que a estimativa de BLUP para os caracteres MSR, BIOT, AIP, ALPL, DD<sub>i</sub>, DD<sub>m</sub>, DD<sub>s</sub> e DC<sub>i</sub> foram similares e próximas à média geral. Resultado similar foi observado para as variáveis MSR, BIOT, RFR, AIP e ALPL no ano anterior (Figura 9). Esses resultados se devem à amplitude elevada dos dados.

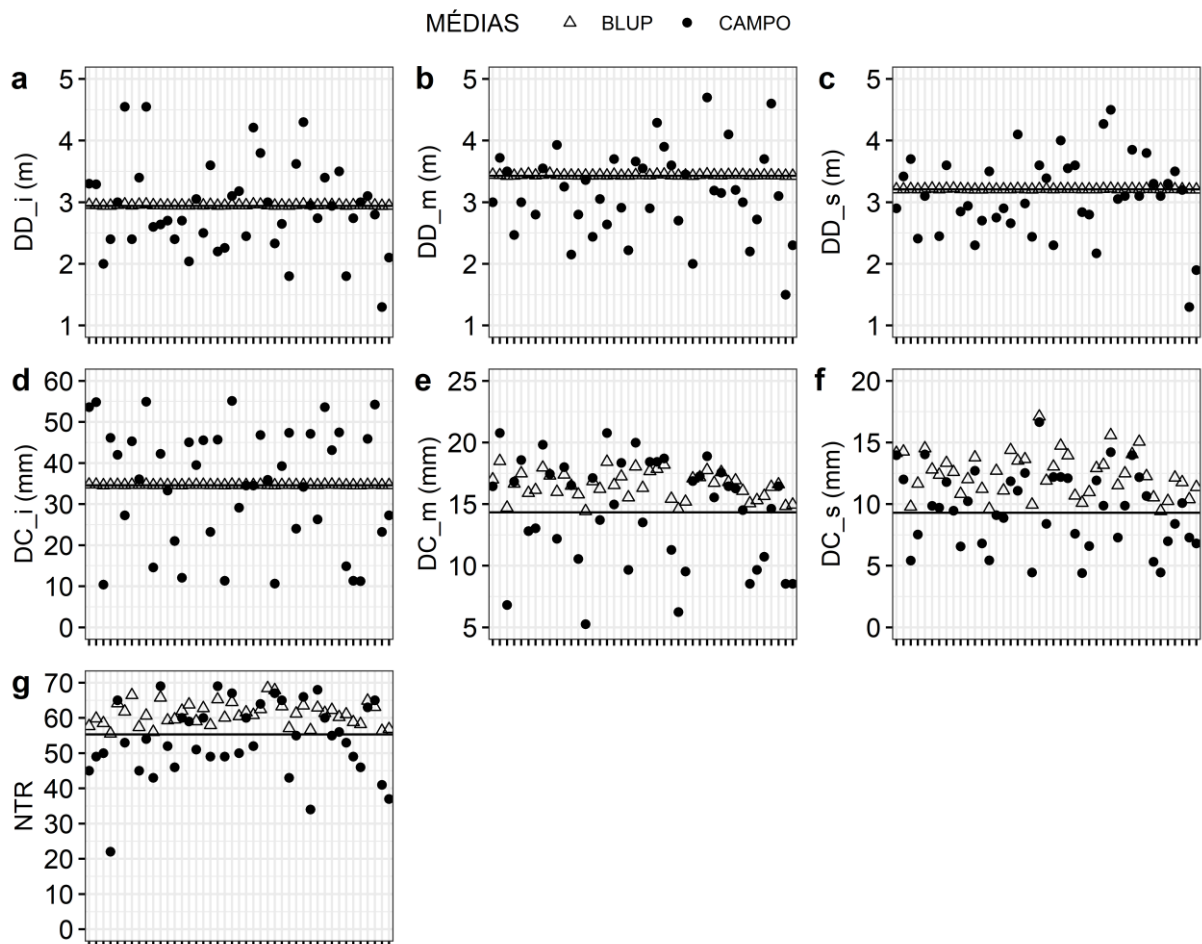
**Figura 13 - Distribuição dos valores observados no campo e estimados por BLUP para os caracteres agrônômicos MSR, MSF, BIOT, RFR, AIP e APL de *A. annua* em 2021. UTFPR – Pato Branco, 2022.**



MSR: Massa seca dos ramos (g); MSF: Massa seca de folhas (g); BIOT: Biomassa total da parte aérea (MSF + MSR), RFR: Relação massa de folhas/massa de ramos; AIP: Altura de inserção do primeiro para de ramos plagiotrópicos, ALPL: Altura de planta.



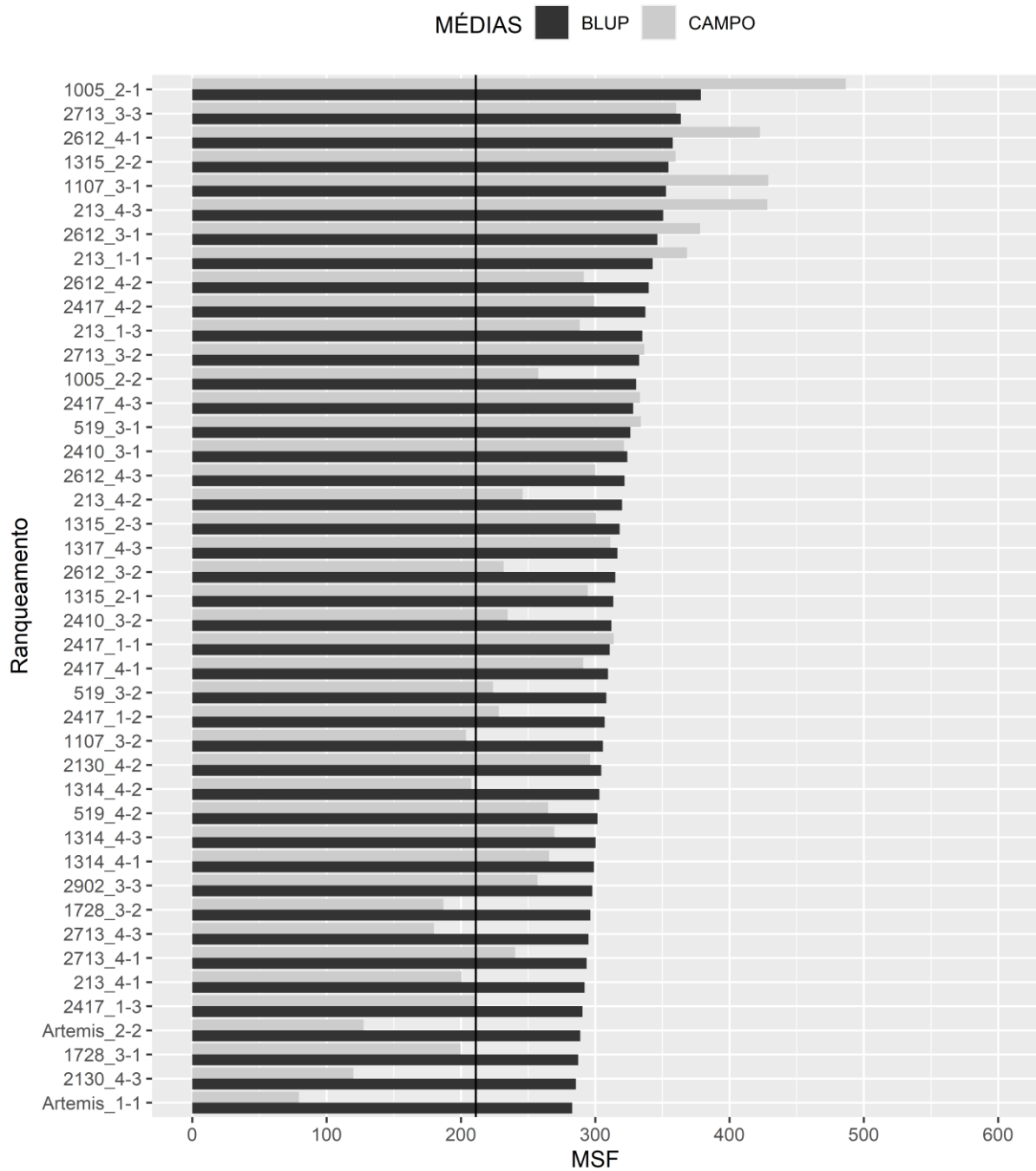
**Figura 14 - Distribuição dos valores observados no campo e estimados por BLUP para os caracteres agrônômicos DD<sub>i</sub>, DD<sub>m</sub>, DD<sub>s</sub>, DC<sub>i</sub>, DC<sub>m</sub>, DC<sub>s</sub> e NTR de *A. annua* em 2021. UTFPR – Pato Branco, 2022.**



DD<sub>i</sub>: Diâmetro da sessão inferior do dossel (m); DD<sub>m</sub>: Diâmetro da sessão mediana do dossel (m); Diâmetro da sessão superior do dossel (m); DC<sub>i</sub>: Diâmetro do da sessão inferior do ramo principal (mm); DC<sub>m</sub>: Diâmetro da sessão mediana do ramo principal (mm); DC<sub>s</sub>: Diâmetro da sessão superior do ramo principal (mm); NTR: número total de ramos.

Pelo ranqueamento das plantas a partir da média estimada por BLUP para o caractere de MSF (Figura 15), podemos destacar as plantas 1005\_2-1; 2713\_3-2; 2612\_4-1; 1315\_2-2; 1107\_3-1; 213\_4-3; 2612\_3-1; 213\_1-1; 2612\_4-2; e 2417\_4-2 que foram as 10 primeiras colocadas e os 10 piores ranqueados foram 1314\_4-1; 2902\_3-1; 1728\_3-2; 2713\_4-2; 2713\_4-1; 213\_4-1; 2417\_1-3; Artemis-2; 1728\_3-1; 2130\_4-2; Artemis-1.

**Figura 15 - Ranqueamento de plantas de *A. annua* quanto ao caractere MSF pela média de BLUP em comparação ao valor da leitura a campo em 2021. UTFPR – Pato Branco – PR. 2022.**



**MSF: Massa seca de folhas (g planta<sup>-1</sup>); BLUP: valor estimado pela metodologia REML/BLUP, CAMPO: Valor obtido a campo com a planta; a linha indica a média geral da variável.**

#### 4.2.2 Análise de caracteres fisiológicos

A mensuração de caracteres fisiológicos é apresentada na tabela 7. Devido à dificuldade em leitura de trocas gasosas nas plantas, os caracteres fisiológicos foram mensurados em 26 plantas, sendo 2 leituras em cada planta.

Quando realizamos a avaliação de caracteres fisiológicos de uma planta, devemos levar em consideração diversos fatores, como localização do campo experimental, temperaturas médias da região, regime hídrico a qual a planta está sujeita, etc.

Segundo Blum (2011), a eficiência no uso da água (WUE) foi desenvolvida para mensurar a eficiência na irrigação, mas, atualmente, é considerada a razão entre a fixação de carbono e a transpiração. A média obtida para WUE de 0,25 foi similar aos valores de 0,28 e 0,24 obtidos por Bolina (2011); enquanto a média de Photo, 8,35, foi menor aos valores 12,66 e 15,40.

Os baixos valores observados na mensuração dos caracteres fisiológicos podem ser decorrentes do espaçamento utilizado; ainda, devido à estatura da planta, a leitura se deu em folhas sombreadas; além disso, segundo Taiz e Zigger (2013), folhas sombreadas são expostas a níveis menores de irradiação, conseqüentemente, têm taxas fotossintéticas muito baixas.

**Tabela 7 - Medidas de caracteres fisiológicos mensurados em 26 plantas de *A. annua* em 2021. UTFPR, Pato Branco – PR. 2022**

PLANTA	Rep	WUE	Photo	Cond	Ci	Trmmol
1005_2	1	0,24	9,61	0,15	274,2	3,69
1005_2	2	0,22	4,96	0,07	269,02	2,26
1314_4	1	0,39	9,4	0,1	231,47	2,38
1314_4	2	0,43	12,25	0,13	216,77	2,86
1315_2	1	0,27	6,16	0,11	276,4	2,41
1315_2	2	0,27	6,35	0,1	277,65	2,36
1317_4	1	0,27	8,33	0,17	286,68	3,24
1317_4	2	0,24	10,77	0,2	286,54	4,47
1728_3	1	0,23	6,23	0,11	287,04	2,69
1728_3	2	0,22	6,47	0,13	286,05	3,16
213_1	1	0,22	9,91	0,15	265,39	4,49
213_1	2	0,26	4,62	0,05	224,59	1,74
2130_4	1	0,22	4,66	0,09	291,46	2,16
2130_4	2	0,23	16,16	0,37	292,9	6,95
2410_3	1	0,18	6,23	0,15	305,92	3,7
2410_3	2	0,22	6,58	0,11	272,52	3,09
2417_1	1	0,22	7,22	0,14	293,92	3,24
2417_1	2	0,16	6,88	0,18	304,98	4,51
2417_4	1	0,24	5,84	0,08	250,75	2,42
2417_4	2	0,23	6,56	0,09	252,82	2,83
2612_3	1	0,31	9,07	0,13	258,9	2,85
2612_3	2	0,33	10,96	0,15	248,64	3,44
2902_3	1	0,26	8,05	0,17	285,79	3,33
2902_3	2	0,26	14,76	0,3	275,81	6,16
519_3	1	0,15	12,41	0,47	324,93	8,04
519_3	2	0,25	6,77	0,11	265,34	2,85
CV		24,25	36,39	60,79	9,25	42,89
MAX		0,43	16,16	0,47	324,93	8,04
MED		0,25	8,35	0,15	273,33	3,51
MIN		0,15	4,62	0,05	216,77	1,74

**WUE: Water use efficiency – Eficiência do uso da água ( $\mu\text{mol}^{-1}$ ), PHOTO: Assimilação líquida de CO<sub>2</sub> ( $\mu\text{mol CO}_2\text{ m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ ); COND: Condutância estomática ( $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ ), Ci: Concentração Interna de CO<sub>2</sub> ( $\mu\text{mol CO}_2\text{ mol}^{-1}$ ) TRMMOL: Taxa de transpiração ( $\mu\text{mol H}_2\text{O mol m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ ). CV: Coeficiente de variação (%), MAX: Valor máximo obtido, MED: Média geral, MIN: Valor mínimo obtido.**

Naeen *et al.* (2020) obtiveram valores médios de Photo de 13,8 e 16,10  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{ s}^{-1}$  e valores de Cond de 0,22 a 0,28  $\text{m mol}^{-2}\text{ s}^{-1}$ , resultados acima das médias de 8,35 e 0,15 para Photo e Cond, respectivamente, que foram obtidos no experimento. Zanatta (2018), no primeiro ano deste projeto, obteve valores médios de Photo e Cond de 22,75  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{ s}^{-1}$  e 0,99  $\text{mmol}^{-2}\text{ s}^{-1}$ , em Pato Branco, no ano de 2017. Bolina (2012) observou valores médios de Photo e Cond de 15,40  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{ s}^{-1}$  e 0,56  $\text{m mol}^{-2}\text{ s}^{-1}$ . O mesmo genótipo cultivado em locais diferentes pode apresentar variações fenotípicas, dependendo do local, segundo Marchese (2006), pois plantas de *A. annua* produziram cerca de uma tonelada de folhas secas a mais quando cultivadas em Pato Branco – PR, se comparadas ao cultivo em Campinas – SP. Segundo o autor, esse fenômeno possivelmente se deu pela fotorrespiração das plantas em Campinas ter

sido maior devido a uma maior temperatura em questão da região. Isso ocorre porque a fotorrespiração das plantas limita a assimilação fotossintética do carbono sob temperaturas elevadas.

#### 4.2.3 Análise de caracteres fitoquímicos

##### 4.2.3.1 Conteúdo e rendimento de artemisinina

Considerando a cultura, é necessário ponderar estes dois caracteres para a seleção. Podemos ter uma cultivar com elevado conteúdo de ART (CART, g 100 g MSF<sup>-1</sup>), mas com baixa produção de biomassa, tem-se um baixo rendimento de artemisinina (RART, kg ha<sup>-1</sup>).

A quantificação do CART foi realizada em 39 plantas. Assim como nos dados agrônômicos, devido a problemas em campo, os dados ficaram desbalanceados, o que justificou o uso do Modelo 15 do Selegem para a análise. A tabela 8 apresenta a análise de variância REML para os caracteres.

Fu *et al.* (2016) observaram valores de coeficiente de variação superior a 20%, resultados similares foram encontrados (Tabela 13). O valor médio obtido, de 0,7%, foi similar ao resultado obtido por Fu *et al.* (2016), de 0,6%, e por Zanatta (2018), de 0,73%, sendo superior ao obtido por Tiwari (2014), de 0,33%.

**Tabela 8 - Componentes de Variância (REML) individual dos caracteres de CART e RART de *A. annua* em 2021. UTFPR, Pato Branco – PR. 2022.**

	CART	RART
<b>V<sub>a</sub></b>	0,006 (6,45%)	55,404 (60,32%)
<b>V<sub>bloc</sub></b>	0,009 (9,6%)	0,279 (0,31%)
<b>V<sub>e</sub></b>	0,078 (83,95%)	36,162 (39,37%)
<b>V<sub>f</sub></b>	0,093 (100%)	91,846 (100%)
<b>h<sup>2</sup><sub>a</sub></b>	0,06 ± 0,234	0,603 ± 0,765
<b>c<sup>2</sup><sub>bloc</sub></b>	0,101	0,003
<b>h<sup>2</sup><sub>mp</sub></b>	0,051	0,535
<b>Ac<sub>prog</sub></b>	0,226	0,731
<b>CV<sub>gi</sub>%</b>	10,694	37,652
<b>Média</b>	0,70	19,77

CART: Conteúdo de artemisinina (g 100 g- MSF<sup>-1</sup>), RART: Rendimento de artemisinina (kg ha<sup>-1</sup>).  
**V<sub>a</sub>**: variância genética aditiva; **V<sub>bloc</sub>**: variância ambiental entre blocos; **V<sub>e</sub>**: variância residual;  
**V<sub>f</sub>**: variância fenotípica individual; **h<sub>2a</sub> = h<sub>2</sub>**: herdabilidade individual no sentido restrito, ou seja, dos efeitos aditivos; **c<sub>2bloc</sub> = c<sub>2</sub>**: coeficiente de determinação dos efeitos de bloco;  
**h<sub>2mp</sub>**: herdabilidade da média de progênie, assumindo sobrevivência completa; **Ac<sub>prog</sub>**:  
 acurácia da seleção de progênie, assumindo sobrevivência completa; **CV<sub>gi</sub>%**: coeficiente de  
 variação genética aditiva individual.

CART e RART apresentaram valores de  $h^2$  diferentes, sendo  $0,06 \pm 0,234$  e  $0,603 \pm 0,765$ , respectivamente. A  $V_a$  contribuiu para o maior percentual (60,32%) da  $V_f$  do caractere de RART, similar ao observado para MSF do ano de 2021 e 2020, o que era esperado, uma vez que o RART depende do CART e da MSF. Devido a isso, a seleção a deve ser praticada para a RART para ter ganhos genéticos.

Foi obtido um baixo valor para a  $h^2$  para o conteúdo de ART (CART), mas um alto valor para o rendimento de ART (RART). Delabays *et al.* (2001) destacam que estimativas de herdabilidade para esta espécie devem ser consideradas apenas para o material de estudo, o local e o ano de avaliação; ainda sublinham que muitos trabalhos devem ser conduzidos antes de generalizar estes valores para demais locais. A média observada para CART de 0,7% está entre os valores geralmente atribuídos à planta, de 0,1 a 1%.

A maior parcela de participação da  $V_a$  na  $V_f$  em RART indica grande variabilidade genética entre as plantas e possibilidade de ganhos de seleção dentro da população devido a alta herdabilidade.

A figura 16 apresenta ranqueamento por BLUP para os caracteres de CART e RART do ano de 2021. Pode ser observada uma grande variabilidade nos resultados, até mesmo entre plantas meios-irmãs. Por exemplo, plantas da família 1317\_4, apresentaram os conteúdos de ART de 1,04%, 0,90% e 0,48%, e as plantas da família 213\_4 apresentaram conteúdos de 0,97, 0,48 e 0,55%.

Das plantas melhores ranqueadas para RART apenas duas, 1005\_2-1 e 1317\_4-1, não estiveram entre as melhores para CART, diferente do observado para COL e ROL no ano de 2020.

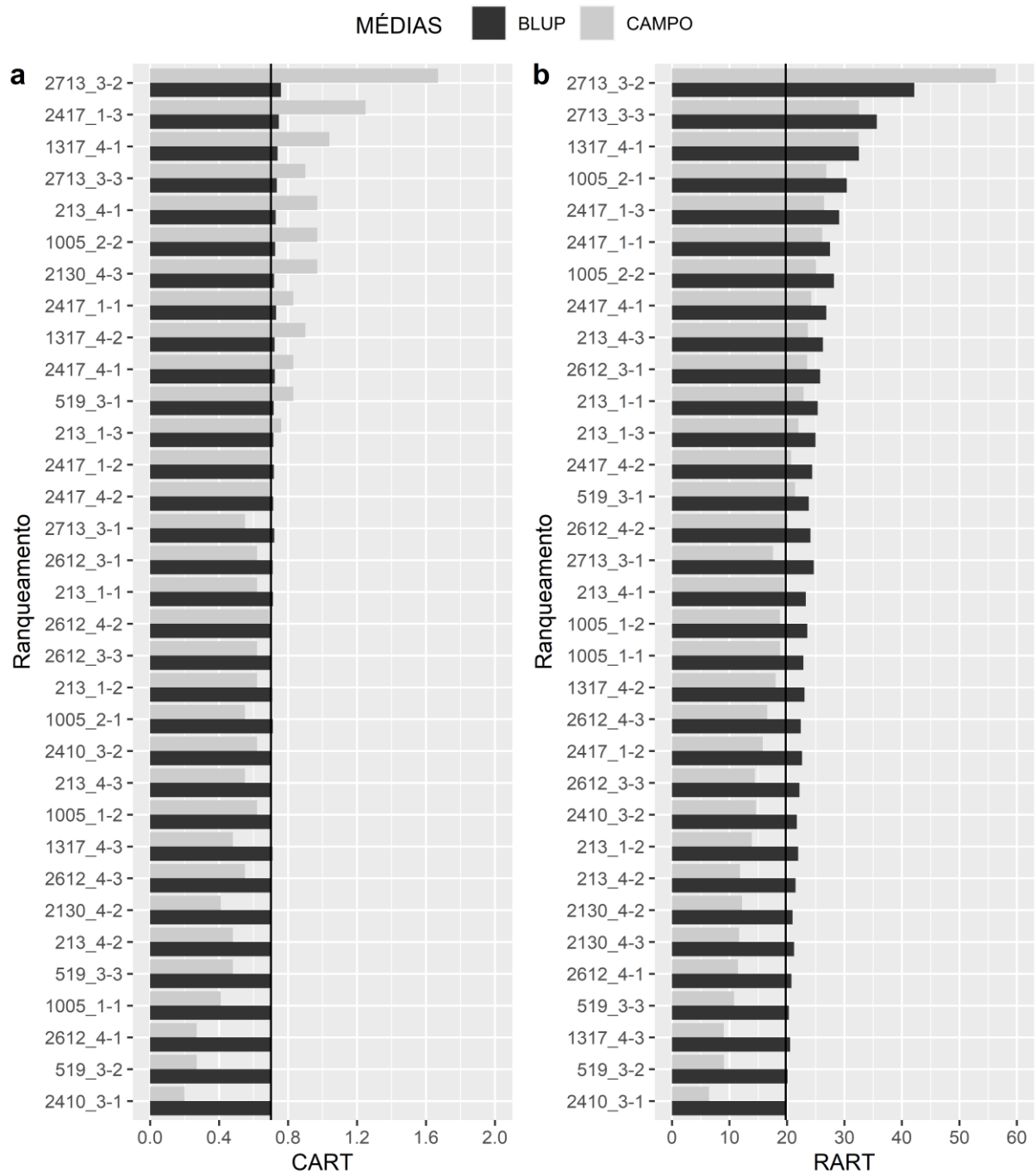
A média observada para CART foi de 0,7%, embora os valores tenham oscilado entre 0,2 a 1,67%. Esses valores mínimo e máximo observados são superiores aos obtidos por Zanatta (2018), que oscilaram entre 0,33 a 1,28%, e com valor médio de 0,73%. A média de 0,7% foi similar ao obtido por Bolina (2011), avaliando acessos da variedade 2/39x5x3M, embora os valores obtidos por ela tenham variado de 0,5 a 0,95%. Essa menor variabilidade observada é explicada pelo fato de todas as plantas serem acessos de uma mesma variedade, mesmo sendo oriundas de sementes. Segundo Rodrigues *et al.* (2017), esse problema pode ser contornado disponibilizando materiais rapidamente para os produtores através da

seleção e clonagem dessas plantas. Também essas porcentagens de CART não tem importância para melhorar a população pela baixa herdabilidade. Ainda, a variação ambiental é muito alta indicando que o conteúdo vai depender exclusivamente do ambiente favorável no local e ano e não será encontrado o mesmo de 2021 porque a  $h^2$  é muito baixa.

Devido à polinização aberta da espécie e a propagação ter sido com sementes, obtivemos uma grande variabilidade genética. Uma alternativa para isso seria o uso de clonagem por estaquia, como observado por Ferreira *et al.* (2018), em que as plantas propagadas assim mostraram uma variação significativamente menor entre plantas do que as propagadas por sementes.

A baixa oscilação entre os valores de BLUP obtidos pode ser explicada pela alta influência das condições de manejo no conteúdo de ART, por exemplo. Damtew *et al.* (2011) observaram conteúdo de 0,41% com densidade de 10.000 plantas  $ha^{-1}$ , e conteúdo de 0,31% com densidade de 49.383 plantas  $ha^{-1}$ .

**Figura 16 - Ranqueamento de plantas para CART e RART pelos Componentes da Média (BLUP individual) em *A. annua* em 2021. UTFPR – Pato Branco – PR, 2022.**



**CART: Conteúdo de artemisinina ( $\text{g } 100 \text{ g}^{-1} \text{ MSF}$ ), RART: Rendimento de artemisinina ( $\text{kg ha}^{-1}$ ).  
A linha representa a média geral do experimento.**



#### 4.2.3.2 Conteúdo e rendimento do óleo essencial

Foram selecionadas 48 plantas para realizar as análises de conteúdo e rendimento do óleo essencial (COL e ROL, respectivamente). A tabela 9 apresenta a análise de REML do caractere de conteúdo e rendimento do óleo essencial.

**Tabela 9 - Componentes de Variância (REML Individual) para os caracteres COL e ROL de *A. annua* em 2021. UTFPR, Pato Branco-PR, 2022.**

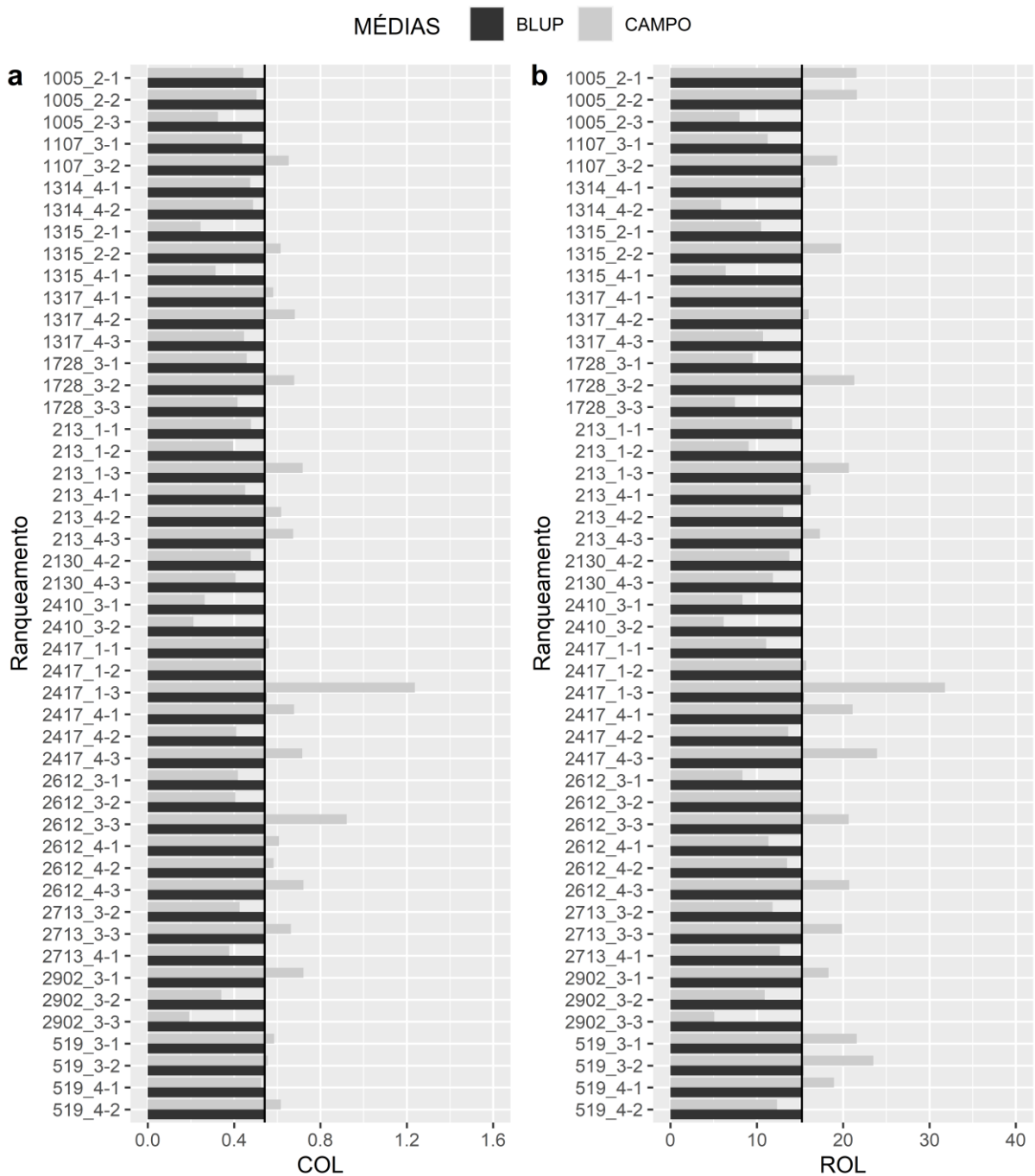
	COL	ROL
<b>Va</b>	0,000	0,354
<b>V<sub>bloc</sub></b>	0,000	0,008
<b>Ve</b>	0,032	32,114
<b>Vf</b>	0,032	32,477
<b>h<sup>2</sup><sub>a</sub></b>	0,012 ± 0,088	0,011 ± 0,085
<b>c<sup>2</sup><sub>bloc</sub></b>	0,000	0,000
<b>h<sup>2</sup><sub>mp</sub></b>	0,009	0,008
<b>Ac<sub>prog</sub></b>	0,093	0,091
<b>CV<sub>gi</sub>%</b>	3,571	3,909
<b>Média geral</b>	0,541	15,231

COL: Conteúdo de óleo essencial (g 100 g<sup>-1</sup> MSF), ROL: Rendimento de óleo essencial (kg ha<sup>-1</sup>), Va: variância genética aditiva; V<sub>bloc</sub>: variância ambiental entre blocos; Ve: variância residual; Vf: variância fenotípica individual; h<sup>2</sup><sub>a</sub> = h<sup>2</sup>: herdabilidade individual no sentido restrito, ou seja, dos efeitos aditivos; c<sup>2</sup><sub>bloc</sub> = c<sup>2</sup>: coeficiente de determinação dos efeitos de bloco; h<sup>2</sup><sub>mp</sub>: herdabilidade da média de progênie, assumindo sobrevivência completa; Ac<sub>prog</sub>: acurácia da seleção de progênie, assumindo sobrevivência completa; CV<sub>gi</sub>%: coeficiente de variação genética aditiva individual; CV<sub>gp</sub>%: coeficiente de variação genética entre progênies.

Para COL e ROL, pode-se observar que a Ve foi responsável pela maior parte da Vf, como observado em 2020 (Tabela 4). Esse fator resultou no baixo valor de h<sup>2</sup><sub>a</sub> observado (0,087 ± 0,268 e 0,011 ± 0,085, baixa magnitude). Não existe uma grande variabilidade para o caractere, conforme observado pelos baixos valores de Va e V<sub>bloc</sub>. Os baixos valores estimados de herdabilidades indicam que a seleção será ineficiente nesse ano e por isso haverá pouco ganho genético e as estimativas pelo REML/BLUP são praticamente as mesmas. Assim,

A variabilidade presente entre as plantas avaliadas, onde COL nas plantas oscilou de 0,24% (2410\_3<sup>-2</sup>) a 1,24% (2417\_1-3) nas leituras a campo é devido a causa exclusivamente ambiental (Figura 17).

**Figura 17 - Ranqueamento de plantas de *A. annua* quanto aos caracteres COL e ROL pela média de BLUP em comparação ao valor da leitura a campo em 2021. UTFPR – Pato Branco, 2022.**



A média estimada por BLUP foi similar em todas as plantas, tanto para COL como para ROL, além de serem similares à média geral dos caracteres porque a herdabilidade é próxima de zero.

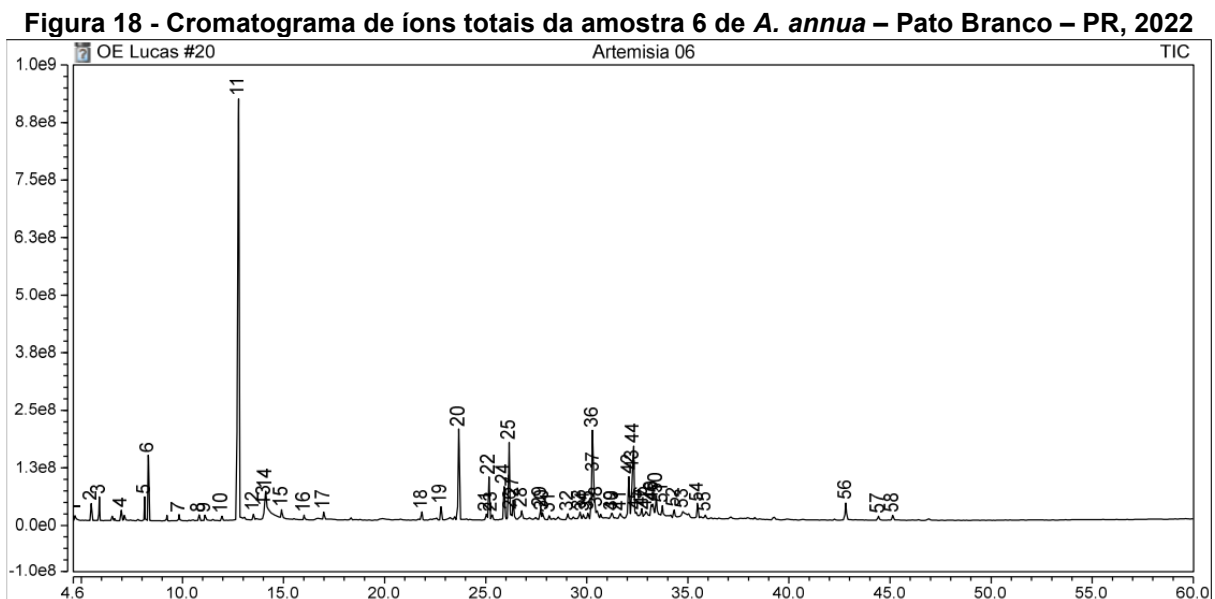
Um dos motivos pode ser decorrente do COL e ROL serem altamente influenciados por caracteres da planta, como observado por Paul *et al.* (2011), em que o conteúdo de óleo essencial teve correlação positiva com o número de ramos. Bolina

(2011) observou que o rendimento do óleo essencial teve correlação positiva com diâmetro das seções inferior e média e com o volume do dossel de plantas de *A. annua*.

Além disso, Capelin (2012) observou que a densidade de plantio possui alta influência na massa de ramos e folhas e estatura de planta, conseqüentemente, afetando o desenvolvimento desta. Dantew *et al.* (2011) observaram que a densidade populacional teve efeito significativo no conteúdo e no rendimento do óleo essencial. Paladini (2012) observou resultados similares com diferentes níveis de adubação nas plantas; enquanto ocorreu o incremento na massa de folhas, ocorreu a redução no rendimento do óleo essencial.

#### 4.2.3.3 Perfil fotoquímico do óleo essencial

A figura 18 representa todos os picos de detecção de compostos na amostra 6 de *A. annua*, podemos destacar o pico nº 11, que consiste em cânfora, o composto majoritário do óleo essencial da planta.



Na tabela 10 é apresentado o perfil fotoquímico dos principais compostos presentes no óleo essencial das amostras quantificados em 2021 por meio de cromatografia gasosa.

**Tabela 10 - Perfil fotoquímico de monoterpenos e sesquiterpenos de 39 plantas de *A. annua* analisadas por cromatografia em fase gasosa. UTFPR. Pato Branco – PR, 2022**

PLA	Bl	Monoterpenos										Sesquiterpenos										Total identificado (%)
		$\alpha$ -pineno	mirceno	$\alpha$ -cimeno	1,8-cineol	2-metilbutil-2-metilbutirato	cânfora	isoborneol	borneol	$\alpha$ -terpineol	Carvona	$\alpha$ -copaeno	E-cariofileno	$\alpha$ -humuleno	humuleno (MW 204)	germacreno D	$\beta$ -selineno	biciclogermacreno	óxido de cariofileno	espatulenol	cis-cadin-4-en-7-ol	
1005_2	1	tr	3.56	3.22	10.34	tr	9.95	1.60	tr	1.24	0.54	8.51	0.29	3.00	7.29	1.37	1.17	8.98	0.31	5.73	0.54	67.11
1005_2	2	0.70	5.29	4.17	10.76	tr	17.65	1.35	tr	0.81	0.45	7.28	0.43	2.21	5.61	1.35	1.04	5.41	0.94	5.13	0.45	70.58
1005_2	3	tr	tr	0.60	3.18	tr	28.02	1.45	tr	0.40	0.54	6.18	0.45	2.35	7.97	1.45	0.93	3.98	1.69	5.78	0.54	64.99
1314_4	1	1.23	1.06	0.77	6.68	0.85	47.31	1.06	tr	0.78	0.44	4.28	0.14	1.22	4.98	0.52	tr	4.64	1.36	2.60	0.44	79.92
1314_4	2	1.28	5.28	3.39	13.19	tr	27.14	1.91	tr	1.41	0.44	3.92	tr	2.34	4.63	0.91	0.47	3.05	1.02	3.73	0.44	74.12
1317_3	2	tr	2.21	tr	1.95	tr	19.54	tr	tr	tr	8.90	0.34	3.77	8.79	1.95	tr	10.48	3.26	9.00	tr	70.18	
1317_3	3	tr	4.52	1.95	8.79	0.97	43.08	2.02	tr	1.88	tr	2.64	tr	2.09	4.09	0.60	0.24	1.90	0.79	2.62	tr	78.18
1317_4	1	tr	tr	1.26	2.97	tr	41.83	0.97	tr	0.58	7.02	0.23	2.41	5.70	1.10	tr	6.10	1.38	4.89	0.58	76.44	
1317_4	2	0.54	1.70	tr	5.19	0.68	50.18	1.23	tr	1.30	tr	3.32	tr	2.45	4.19	0.93	tr	3.19	1.37	3.71	tr	79.98
1317_4	3	0.68	0.50	1.14	2.74	tr	35.71	0.91	1.50	0.41	0.52	5.97	0.18	2.38	5.16	1.44	0.46	6.25	1.36	4.52	0.52	72.54
1728_3	1	0.68	0.71	1.50	3.50	tr	49.55	0.96	tr	tr	0.55	5.12	0.16	2.15	6.07	1.00	1.05	2.81	1.27	4.13	0.55	81.22
1728_3	3	0.70	0.66	2.00	2.83	tr	34.67	1.16	tr	tr	tr	4.68	0.17	1.98	5.29	1.10	0.97	5.19	1.82	6.12	tr	69.33
213_1	1	1.65	tr	2.38	2.59	tr	37.37	0.94	tr	tr	0.67	6.13	tr	2.07	6.86	0.80	0.79	4.02	1.05	4.35	0.67	71.68
213_1	2	1.18	tr	0.54	2.16	tr	30.07	0.71	tr	tr	0.64	6.15	0.22	2.26	4.53	0.97	0.57	7.69	1.94	6.55	0.64	66.17
213_1	3	0.85	3.01	0.86	9.83	0.62	44.91	1.83	tr	1.44	tr	3.29	tr	2.43	5.70	0.71	0.89	1.79	0.94	2.13	tr	81.23
213_4	1	0.54	3.38	0.71	11.05	tr	33.91	1.56	tr	1.60	0.89	1.12	tr	2.80	5.53	0.72	0.83	1.19	1.07	3.79	0.89	70.70
213_4	2	tr	0.66	1.96	3.72	0.45	42.25	0.83	tr	0.73	tr	6.71	0.22	1.90	7.20	0.78	1.27	3.03	0.77	4.85	tr	77.82
213_4	3	0.60	1.62	1.54	9.72	tr	41.79	1.96	tr	1.22	0.42	4.15	0.10	2.05	4.15	0.60	0.47	2.89	0.86	3.00	0.42	77.14
2130_4	2	tr	0.87	0.85	3.21	tr	41.49	1.38	tr	0.67	0.97	2.61	tr	1.68	2.83	0.90	0.54	5.47	1.00	3.91	0.97	68.38
2130_4	3	0.83	1.62	0.82	9.25	tr	38.16	1.77	tr	1.04	tr	3.74	tr	2.23	2.88	1.52	tr	5.82	1.46	4.09	tr	75.23
2410_3	1	1.21	tr	0.50	3.95	0.67	30.70	0.79	tr	tr	0.66	7.37	0.26	2.48	7.88	1.55	0.61	6.85	1.63	5.89	0.66	72.99
2410_3	2	0.46	tr	0.46	4.31	0.42	23.83	1.22	tr	0.59	0.55	5.09	0.16	2.36	7.46	1.28	1.74	3.59	1.42	7.17	0.55	62.11
2417_1	1	0.89	0.76	1.86	5.53	0.44	41.23	1.38	5.68	1.07	0.48	4.36	0.33	2.16	4.38	1.11	0.52	3.50	0.99	2.95	0.48	79.62
2417_1	1	1.29	5.09	1.45	9.08	0.43	35.02	1.04	tr	1.02	tr	5.94	tr	1.75	5.42	1.02	0.93	7.48	1.03	5.84	tr	74.97
2417_1	2	0.60	0.60	2.78	4.85	tr	33.37	0.87	tr	0.58	tr	4.04	0.11	1.64	4.77	0.64	0.69	3.72	0.85	3.71	tr	73.08
2417_1	2	1.27	1.41	0.66	6.15	tr	35.37	1.12	tr	0.75	0.51	3.80	tr	2.17	5.13	0.82	0.53	3.40	0.66	3.52	0.51	72.25
2417_1	3	1.27	1.54	4.23	6.25	tr	32.37	1.39	7.96	1.35	tr	3.43	0.11	3.07	3.45	1.95	tr	5.92	1.50	6.10	tr	76.55
2417_1	3	0.88	3.30	0.74	7.02	tr	39.17	1.59	tr	1.55	0.51	3.67	tr	3.17	5.23	0.77	0.56	3.46	0.81	3.18	0.51	75.61
2612_3	1	0.59	tr	1.37	2.46	tr	28.89	0.74	tr	tr	0.68	7.87	0.22	2.49	9.35	1.13	2.29	4.04	2.00	5.45	0.68	69.56
2612_3	3	0.66	7.53	2.55	7.59	0.93	33.85	1.59	tr	1.42	tr	3.02	tr	2.17	4.83	tr	0.75	2.70	0.68	3.51	tr	73.78
2612_4	1	1.62	4.79	1.00	10.75	tr	31.32	1.42	2.59	0.98	tr	2.86	tr	4.00	3.70	1.76	0.59	2.79	0.70	3.31	tr	74.19
2612_4	2	1.37	1.51	0.70	6.68	0.53	39.20	1.17	1.00	tr	0.48	4.67	tr	3.37	4.49	1.39	0.63	2.87	1.07	3.53	0.48	74.67
2612_4	3	0.96	0.65	1.24	11.98	1.13	31.83	1.57	tr	1.67	tr	3.53	tr	2.50	6.67	0.63	0.92	2.31	1.12	2.24	tr	70.91
2713_3	2	tr	tr	1.36	2.95	tr	37.59	1.34	tr	tr	tr	3.86	tr	2.72	3.37	2.23	tr	4.10	1.50	8.02	tr	69.03
2713_3	3	0.53	0.69	2.83	4.46	0.56	19.34	0.95	tr	tr	0.56	8.58	0.53	2.99	10.40	1.68	1.63	3.68	1.15	6.79	0.56	67.34
2903_3	1	tr	0.57	2.39	3.50	0.46	40.83	1.22	tr	0.60	tr	5.29	tr	2.73	4.10	1.27	tr	7.47	0.34	5.56	tr	76.32
2903_3	2	tr	tr	0.70	2.04	tr	27.48	1.01	tr	tr	tr	7.15	tr	2.52	6.36	1.77	1.31	3.61	2.12	9.73	tr	65.78
519_3	1	0.48	tr	3.08	5.46	tr	25.88	1.42	tr	0.79	0.47	4.43	0.12	3.36	6.10	2.01	0.77	3.94	0.98	7.58	0.47	66.88
519_3	2	1.02	3.98	3.79	14.81	tr	27.49	2.01	tr	1.40	0.40	3.63	0.11	1.86	3.77	0.67	0.44	3.92	0.89	3.01	0.40	73.19
MEDIA		0.92	2.38	1.71	6.24	0.65	34.09	1.30	3.75	1.06	0.56	4.98	0.23	2.44	5.55	1.17	0.86	4.44	1.21	4.81	0.56	

Tr: traços da substância; PLA: planta; bl: bloco.

O cultivo e o manejo pós-colheita, a qual a planta é submetida, possuem ação direta na composição química e propriedades biológicas do óleo essencial de *A. annua* (GOUVEIA E CASTILHO, 2013; NURZYNKA-WIERDAK 2013).

Os 5 compostos majoritários no óleo essencial das plantas foram cânfora (34,09%), 1,8-cineol (6,24%), germacreno D (5,55%), E-cariofileno (4,98%) e cis-cadin-4-en-7-ol (4,81%), considerando a média obtida.

Os conteúdos de cânfora variaram de 9,95% (1005\_2-1) a 50,18% (1317\_4-2), com valor médio de 34,09%, em que 19 plantas apresentaram valor abaixo da média geral. Essa variabilidade é esperada para a espécie, conforme observado por Zanatta (2018), que obteve variação semelhante entre plantas de *A. annua*, onde o conteúdo de cânfora e 1,8-cineol oscilaram entre 9,6 a 38,7% e 3,1 a 13,3%, respectivamente.

Gouveia e Castilho (2013) observaram em plantas oriundas de quatro locais do Arquipélago Madeira, em Portugal, que apenas o conteúdo de cânfora (cerca de 40%) e germacreno-D (cerca de 8%) dos compostos majoritários apresentaram conteúdos similares, enquanto o conteúdo de 1,8-cineol variaram de 6,54% a 11,6%.

Diferentemente, Ćavar *et al.* (2012) observaram que artemisia cetona e cânfora foram os compostos majoritários do óleo essencial (30,7% e 15,8%, respectivamente) de plantas de *A. annua* oriundas da Bósnia.

Oftadeh *et al.* (2020) observaram que os principais componentes do óleo essencial foram 1,8-cineol (18,68%), cânfora (11,4%),  $\alpha$ -pineno (9,3%) e pinocarvone (7,5%) em plantas do Irã.

Risaliti *et al.* (2020) observaram que os compostos majoritários do óleo foram cânfora (22,6%), artemisia cetona (17,3%), 1,8-cineol (15,8%), miceno (5,5%) e  $\alpha$ -pineno (4,7%) em plantas oriundas de Toscana, na Itália.

Além disso, Ghatas *et al.* (2021) observaram que a aplicação foliar de micronutrientes pode aumentar o conteúdo de cânfora e artemisia cetona, enquanto diminui o conteúdo de  $\beta$ -cariofileno e de  $p$  – pinene. Os autores ainda observaram que o conteúdo máximo de cânfora e artemisia cetona foram de 10,01% e 47,28%, respectivamente.

Avaliando plantas oriundas da Sérvia, Janačković *et al.* (2019) observaram que os principais componentes do óleo de *A. annua* foram artemisia cetona (19,19%), pinocarvona (29,40%) e 1,8-Cineol (4,72%), e registraram apenas 1,34% de conteúdo de cânfora.

Pode ser observada uma grande variabilidade do perfil fitoquímico dos óleos essenciais, mesmo entre meios irmãos, por exemplo, 1005\_2-1, 1005\_2-2 e 1005\_2-3 apresentaram valores de cânfora de 9,95, 17,65 e 28,02%, todos valores abaixo da média geral.

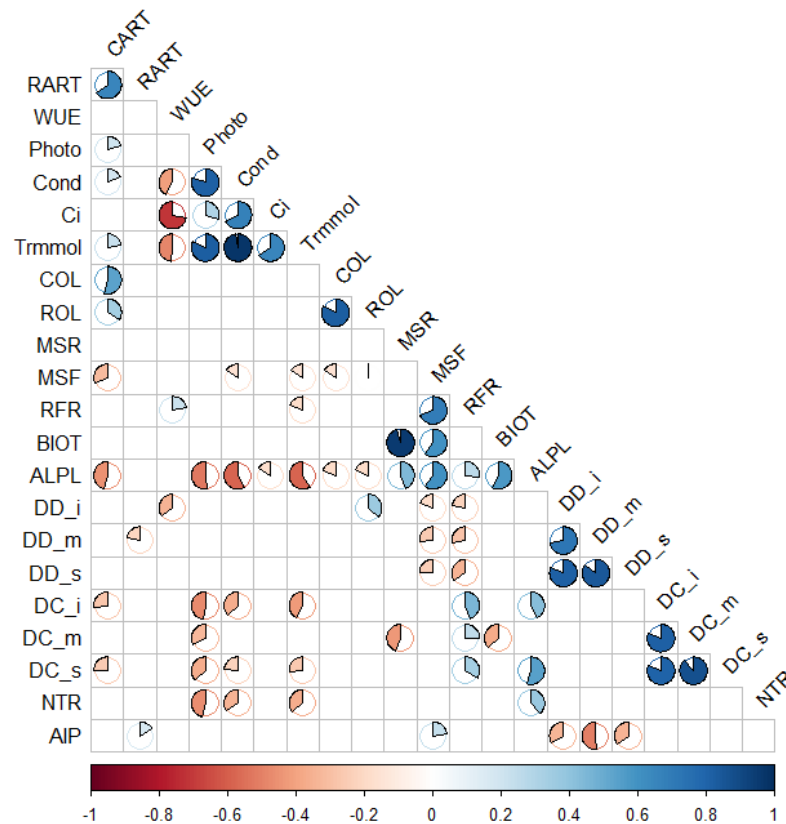
Nazen *et al.* (2019) observaram variação entre os componentes voláteis do óleo essencial de duas espécies de *Mentha* quando comparou clones aparentados, auto-polinizados e polinização aberta. Khanahmadi *et al.* (2021) obtiveram variação na composição do óleo essencial de plantas do gênero *Thymus* spp. comparando plantas obtidas por autopolinização e polinização aberta com seus respectivos genitores. Esses resultados indicam que o meio de reprodução da planta acarreta alterações na composição do óleo essencial devido à alta variabilidade genética das plantas.

#### 4.2.4 Correlação entre caracteres

Quando utilizamos análise de correlação, temos um resultado positivo ou negativo. Assim, mensuramos o grau de relacionamento mútuo entre dois caracteres, cuja seleção pode ser utilizada para realizar o melhoramento genético da produção de maneira indireta (PAUL *et al.*, 2011). Além disso, o principal objetivo do melhoramento de *A. annua* é o incremento no conteúdo e no rendimento de ART, assim, é essencial conhecer os fatores que afetam este conteúdo ou que pode ser utilizado para seleção indireta sem as complicadas análises fitoquímicas como a MSF (FU *et al.* 2016).

A figura 19 apresenta a análise de correlação linear de Pearson entre os caracteres avaliados de 20 plantas, devido à baixa quantidade de plantas avaliadas com o IRGA para os caracteres fisiológicos.

**Figura 19 - Correlação linear de Pearson entre os caracteres agronômicos, fisiológicos e fitoquímicos de *A. annua* em 2021. UTFPR, Pato Branco – PR, 2022.**



**CART: conteúdo de artemisinina ( g 100 g MSF<sup>-1</sup>), RART: rendimento de artemisinina (kg ha<sup>-1</sup>), WUE: eficiência no uso da água (μ mol<sup>-1</sup>), PHOTO: assimilação líquida de co2 (μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>); COND: condutância estomática (mol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>), CI: concentração interna de co2 (μmol co<sub>2</sub> mol<sup>-1</sup>); TRMMOL: taxa de transpiração (μmol H<sub>2</sub>O mol<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>; COL: conteúdo de óleo essencial (g 100 g MSF<sup>-1</sup>); ROL: rendimento de óleo essencial (kg ha<sup>-1</sup>); MSR: massa seca de ramos; MSF: massa seca de folhas; RFR: relação MSF/MSR; BIOT: biomassa total da parte aérea; ALPL: altura de planta; DD\_i: diâmetro da seção inferior do dossel; DD\_m: diâmetro da seção mediana do dossel; DD\_s: diâmetro da seção superior do dossel; DC\_i: diâmetro da seção inferior do ramo principal; DC\_m: diâmetro da seção mediana do ramo principal, DC\_s: diâmetro da sessão superior do ramo principal; NTR: número total de ramos; AIP: altura de inserção do primeiro par de ramos plagiotrópicos. Valores próximos a -1 (coloração vermelha) indicam associação negativa, e valores próximos a 1 (coloração azul) indicam associação positiva. Apenas as correlações significativas a 5% são representadas na figura.**

O caractere de MSF teve correlação negativa com os caracteres CART, e ROL. Resultado similar ao observado na literatura, devido a competição entre metabolismo primário e especializado.

O CART teve correlação positiva significativa com RART, Photo, Cond, Trmmol e correlação negativa com MSF, ALPL, DC\_i e DC\_s. Damtew *et al.* (2011), obtiveram correlação positiva do conteúdo de ART com altura de plantas e com

conteúdo de óleo essencial, e correlação negativa do rendimento de ART com o rendimento de folhas secas, testando diferentes densidades populacionais.

Podemos observar uma correlação negativa entre ALPL e CART, similar ao resultado de Kumar *et al.* (2004), que observaram correlação negativa do conteúdo de ART com massa de folhas e massa de ramos; e aos obtidos por Raymond *et al.* (2015), em que plantas com maior comprimento de ramos, massa de folhas e altura tiveram correlação negativa com a produção de ART.

No entanto, diferem dos obtidos por Paul *et al.* (2011), que observaram correlações positivas do conteúdo de ART com altura de plantas e número de ramos; e Fu *et al.* (2016) que obtiveram correlação positiva do conteúdo e rendimento de ART com estatura de planta. Jain *et al.* (1996) já relataram que plantas de *A. annua* com porte mais elevado apresentaram maior conteúdo de ART.

Similarmente ao resultado de CART, o COL também apresentou correlação negativa com a MSF. Esta correlação também é similar à observada no ano anterior (Figura 12). Ou seja, quanto maior a MSF, menor é o conteúdo porque a ART está mais distribuída na planta, uma vez que o metabolismo especializado é mais restritivo na planta.

A correlação negativa entre CART e DC<sub>i</sub> e DC<sub>s</sub> difere da afirmação de Tiwari (2014), que sinaliza que caules mais grossos estariam associados a elevado conteúdo de ART.

Conforme visto na figura, o CART obteve correlação negativa significativa, com o caractere MSF e ALPL. Similarmente, Zanatta (2018) obteve correlação negativa entre o conteúdo de ART e MSF. Esses resultados diferem dos obtidos por Bolina *et al.* (2013) que teve correlação negativa entre o conteúdo de ART e o número de ramos nas plantas.

#### 4.2.5 Plantas selecionadas em 2021

Considerando os caracteres fitoquímicos como principais para seleção por representarem retorno econômico direto, selecionamos 5 plantas promissoras para serem exploradas.

Podemos destacar as plantas 1005\_2-2 e 1317\_4 1, que estiveram entre as melhores ranqueadas para COL, CART e RART, e as plantas 2417\_1-3; 2417\_4<sup>1</sup> e 2713\_3 3, que estiveram bem ranqueadas para COL, ROL, CART e RART.



## 5 CONCLUSÃO

As plantas de *Artemisia annua* L. apresentam alta variabilidade entre si nos caracteres agronômicos, fitoquímicos e fisiológicos.

Nas duas seleções subsequentes conduzidas por sementes em seleção recorrente, obteve-se o conteúdo máximo de 1,67% de ART (Planta 2713\_3-2).

Os caracteres agronômicos de massa seca de folhas e número de ramos totais apresentaram maior herdabilidade para a espécie.

O conteúdo de ART e óleo essencial da planta mostraram correlação negativa com massa seca de folhas.

## REFERÊNCIAS

- ABDIN., M. Z., ALAM, P. Genetic engineering of artemisinin biosynthesis: prospects to improve its production. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 37, 2015.
- ADAMS, P; *et al.* Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. Carol Stream, IL: Allured publishing corporation, 2017.
- ALAM, P., ALBALAWI, T. H. In vitro alteration of artemisinin biosynthesis in *Artemisia annua* L during treatment with methyl jasmonate. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 19, p. 33–37, 2020.
- ALEJOS-GONZALEZ, F.; *et al.* Efficient Somatic Embryogenesis and Organogenesis of Self-Pollination *Artemisia annua* Progeny and Artemisinin Formation in Regenerated Plants. **American Journal of Plant Sciences**, v. 04, p. 2206–2217, 2013.
- ALEJOS-GONZALEZ, F.; *et al.* Characterization of development and artemisinin biosynthesis in self-pollinated *Artemisia annua* plants. **Planta**, v. 234, p. 685–697, 2011.
- ARORA, M.; *et al.* Dual symbiosis between *Piriformospora indica* and *Azotobacter chroococcum* enhances the artemisinin content in *Artemisia annua* L. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 32, p. 1–10, 2016.
- ASSUNÇÃO, M. P.; *et al.* Seleção individual de plantas de maracujazeiro azedo quanto à qualidade de frutos via REML/BLUP. **Revista Caatinga**, v. 28, p. 57–63, 2015.
- ATROCH, A. L., NASCIMENTO, F. J. DO, RESENDE, M. D. V. DE. Seleção genética simultânea de progênies de guaranazeiro para produção, adaptabilidade e estabilidade temporal. Revista de Ciências Agrárias - **Amazon Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, v. 56, p. 347–352, 2013.
- BANYAI, W.; *et al.* Overexpression of farnesyl pyrophosphate synthase (FPS) gene affected Artemisinin content and growth of *Artemisia annua* L. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 103, p. 255–265, 2010.
- BARATA, A. M.; *et al.* Conservation and sustainable uses of medicinal and aromatic plants genetic resources on the worldwide for human welfare. **Industrial Crops and Products**, 88, 8-11. 2016.
- BILIA, A. R.; *et al.* Essential oil of *Artemisia annua* L.: An extraordinary component with numerous antimicrobial properties. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v., 2014.
- BLUM, A. Plant breeding for stress environments. **CRC press**. 2018.
- BOLINA, C. DE O. Variabilidade genética e associação entre caracteres agrônômicos, fisiológicos e fitoquímicos em variedades de *Artemisia annua* L. 2011.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2011.

BOLINA, C. O.; *et al.* Correlation among agronomic, physiological and phytochemical traits in *Artemisia annua* L. varieties. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, p. 135–141, 2013.

BOLINA, C. O.; *et al.* Dissimilaridade genética em variedades de *Artemisia annua* L. embasada em caracteres agrônômicos, fisiológicos e fitoquímicos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, p. 356–363, 2014a.

BORGES, V.; *et al.* Seleção de clones de batata-doce pelo procedimento REML/BLUP. **Acta Scientiarum - Agronomy**, v. 32, p. 643–649, 2010.

BORGES, V.; *et al.* Desempenho genotípico de linhagens de arroz de terras altas utilizando metodologia de modelos mistos. **Bragantia**, v. 69, p. 833–841, 2010.

BRISIBE, E. A.; *et al.* Adaptation and agronomic performance of *Artemisia annua* L. under lowland humid tropical conditions. **Industrial Crops and Products**, v. 39, p. 190–197, 2012.

CAPELIN, D. *Artemisia annua* L.: produção de biomassa, artemisinina, rendimento e composição de óleo essencial em função de diferentes variedades e densidades de plantio. 2012. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2012.

CAPISTRANO, D. C.; *et al.* Use of the REML/BLUP methodology for the selection of sweet orange genotypes. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 56, p. 1–11, 2021.

CARVALHO, L. P.; *et al.* E. Uso da metodologia REML/BLUP para seleção de genótipos de algodoeiro com maior adaptabilidade e estabilidade produtiva. **Bragantia**, v. 75, p. 314–321, 2016.

ÇAVAR, S.; *et al.* Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activity of essential oil of *Artemisia annua* L. from Bosnia. **Industrial Crops and Products**, v. 37, p. 479–485, 2012.

COCKRAM, J.; *et al.* Screening a diverse collection of *Artemisia annua* germplasm accessions for the antimalarial compound, artemisinin. **Plant Genetic Resources: Characterisation and Utilisation**, v. 10, p. 152–154, 2012.

CRUZ NETO, A. J.; *et al.* Genetic parameters, adaptability and stability to selection of yellow passion fruit hybrids. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 16, p. 321–329, 2016.

DAMTEW, Z., TESFAYE, B., BISRAT, D. Leaf, essential oil and artemisinin yield of artemisia (*Artemisia annua* L.) as influenced by harvesting age and plant population density. **World Journal of Agricultural Sciences**, v. 7, p. 404–412, 2011.

DEB, M., KUMAR, D. Bioactivity and efficacy of essential oils extracted from *Artemisia annua* against *Tribolium castaneum* (Herbst. 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae): An eco-friendly approach. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. in press, 2019.

DELABAYS, N., SIMONNET, X., GAUDIN, M. The Genetics of Artemisinin Content in *Artemisia annua* L. and the Breeding of High Yielding Cultivars. **Current Medicinal Chemistry**, v. 8, p. 1795–1801, 2001. DOI: 10. 2174/0929867013371635.

MENDIBURU, Felipe. Una herramienta de analisis estadistico para la investigacion agricola. Tesis. Universidad Nacional de Ingenieria (UNI-PERU). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima-PERU. Facultad de Economia y Planificacion Departamento Academico de Estadistica e Informatica. 2009.

EASTMAN, R. T., FIDOCK, D. A. Artemisinin-based combination therapies: A vital tool in efforts to eliminate malaria. **Nature Reviews Microbiology**, v. 7, p. 864–874, 2009.

FARIAS NETO, J. T. D., CLEMENT, C. R., & RESENDE, M. D. V. D. Estimativas de parâmetros genéticos e ganho de seleção para produção de frutos em progênies de polinização aberta de pupunheira no Estado do Pará, Brasil. **Bragantia**, 72, 122-126. 2013.

FERREIRA, J., JANICK, J. Annual wormwood (*Artemisia annua* L.). New Crop Factsheet Department of Horticulture, Purdue University, p. 9, 2009.

FERREIRA, J. F. S. Nutrient deficiency in the production of artemisinin, dihydroartemisinic acid, and artemisinic acid in *Artemisia annua* L. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 1686–1694, 2007.

FERREIRA, J. F. S.; *et al.* Seasonal and differential sesquiterpene accumulation in *Artemisia annua* suggest selection based on both artemisinin and dihydroartemisinic acid may increase artemisinin in planta. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 1–12, 2018. 2018.

FERREIRA, J. F. S.; *et al.* Cultivation and genetics of *Artemisia annua* L. for increased production of the antimalarial artemisinin. **Plant Genetic Resources**, v. 3, p. 206–229, 2005.

FERREIRA, J. F. S., SIMON, J., JANICK, J. Developmental studies of *Artemisia annua*: Flowering and artemisinin production under greenhouse and field conditions. **Plant Med**, v. 61, p. 167–170, 1995.

FERREIRA, J. F. S., ZHELJAZKOV, V. D., GONZALEZ, J. M. Artemisinin concentration and antioxidant capacity of *Artemisia annua* distillation by product. **Industrial Crops and Products**, v. 41, p. 294–298, 2013.

GARCIA, L. C. A Review of *Artemisia annua* L.: Its Genetics, Biochemical Characteristics, and Anti-Malarial Efficacy. **International Journal of Science and Technology**, v. 5, p. 38–46, 2015.

GHATAS, Y., ALI, M., ELSADEK, M., MOHAMED, Y. Enhancing growth, productivity and artemisinin content of *Artemisia annua* L. Plant using seaweed extract and micronutrients. **Industrial Crops and Products**, v. 161, p. 113, 2021.

GOUVEIA, S. C., CASTILHO, P. C. *Artemisia annua* L.: Essential oil and acetone extract composition and antioxidant capacity. **Industrial Crops and Products**, v. 45, p. 170–181, 2013.

- GUO, Z. Artemisinin anti-malarial drugs in China. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 6, p. 115–124, 2016.
- JANAČKOVIĆ, P.; *et al.* Essential oil composition of five *Artemisia* (Compositae) species in regards to chemophenetics. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 87, p. 103960, 2019.
- JIANG, L.; *et al.* Characterization and comparison of transgenic *Artemisia annua* varieties and wild-type varieties in environmental release trial. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 4., p. 2719–2728, 2010.
- KOPETZKI, D., LØVESQUE, F., SEEBERGER, P. H. A Continuous-Flow Process for the Synthesis of Artemisinin. **Chemistry a European Journal**, v. 19, p. 5450–5456, 2013.
- KOUL, B.; *et al.* The *Artemisia* Genus: a review on traditional uses, phytochemical constituents, pharmacological properties and germplasm conservation. **Journal of Glycomics & Lipidomics**, v. 7, p. 1–7, 2018.
- MAGGI, M. E.; *et al.* Laboratory evaluation of *Artemisia annua* L. extract and artemisinin activity against *Epilachna paenulata* and *Spodoptera eridania*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 31, p. 1527–1536, 2005.
- MAIA, M. C. C.; *et al.* Análise genética em genótipos de manga rosa via REML/BLUP. **Revista Agrotecnologia**, v. 5, p. 1–16, 2014.
- MALHOTRA, K.; *et al.* Compartmentalized Metabolic Engineering for Artemisinin Biosynthesis and Effective Malaria Treatment by Oral Delivery of Plant Cells. **Molecular Plant**, v. 9, p. 1464–1477, 2016.
- MARCHESE, J. A. Caracterização do mecanismo fotossintético e aspectos relacionados à floração de *Artemisia annua* L. 2006. 68p.
- MARCHESE, J. A.; *et al.* Carbon isotope composition and leaf anatomy as a tool to characterize the photosynthetic mechanism so *Artemisia annua* L. **Brazilian Journal Plant Physiology**, v. 17, p. 187–190, 2005.
- MARCHESE, J. A.; *et al.* Flowering of *Artemisia annua* L. Plants submitted to different photoperiod and temperature conditions. **Acta Horticulture**, p. 275–280, 2002.
- MARCHESE, J. A.; *et al.* Water deficit effect on the accumulation of biomass and artemisinin in annual wormwood (*Artemisia annua* L., Asteraceae). **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 22, p. 1–9, 2010.
- MAZURKIEVICZ, G. Análise fenotípica e genética do caráter florescimento em populações segregantes de aveia hexaploide. 2019. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2019.
- MEIRA, D.; *et al.* Estimates of genetic parameters between and within black oat populations. **Bragantia**, v. 78, p. 43–51, 2019.

- MENDES, F. F.; *et al.*, A. Adaptability and stability of maize varieties using mixed model methodology. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 12, p. 111–117, 2012.
- MENDIBURU, Felipe de. *Agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research*. R package version 1.3-5. <https://CRAN.R-project.org/package=agricolae>. 2021
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Malária: o que é, causas, sintomas, tratamento, diagnóstico e prevenção, 2020. Disponível em: <<https://www.saude.gov.br/saude-de-a-z/malaria>>
- NETO, A. R.; *et al.* Behavior of upland rice genotypes in the state of São Paulo, Brazil. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, p. 512–519, 2013.
- ODUGBEMI, T. O.; *et al.* Medicinal plants useful for malaria therapy in Okeigbo, Ondo state, southwest Nigeria. **Complementary and Alternative Medicines**, v. 4, p. 191–198, 2007.
- OFTADEH, M., SENDI, J. J., EBADOLLAHI, A. Toxicity and deleterious effects of *Artemisia annua* essential oil extracts on mulberry pyralid (*Glyphodes pyloalis*). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 170, p. 104702, 2020.
- OLIVEIRA, A. L. B.; *et al.* Genetic variability and predicted genetic gains for yield and laticifer system traits of rubber tree families. **Euphytica**, v. 203, p. 285–293, 2015.
- PADDON, C. J., KEASLING, J. D. Semi-synthetic artemisinin: A model for the use of synthetic biology in pharmaceutical development. **Nature Reviews Microbiology**, v. 12, p. 355–367, 2014.
- PALADINI, M. V. *Artemisia annua* L.: Produção De Biomassa, artemisinina, Rendimento E Composição De Óleo Essencial Influenciados Por Diferentes Elicidores E Níveis De Adubação Npk. 2012. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2012.
- PANDEY, A. K., SINGH, P. The genus *Artemisia*: a 2012–2017 literature review on chemical composition, antimicrobial, insecticidal and antioxidant activities of essential oils. **Medicines**, v. 4, p. 68, 2017.
- PAUL, S., KHANUJA, S. P. S., GUPTA, M. M. Breeding strategy for genetic improvement up to four generations in relation to artemisinin with canopy and other secondary metabolites in *Artemisia annua* L. **Industrial Crops and Products**, v. 56, p. 67–73, 2014.
- PAUL, S.; *et al.* Relationship between morphological traits and secondary metabolites in *Artemisia annua* L. by using correlation and path analysis. **Electronic Journal of Plant Breeding**, v. 2, p. 466–472, 2011.
- PEREIRA, T. B.; *et al.* Eficiência da seleção de progênies de café F4 pela metodologia de modelos mistos (REML/BLUP). **Bragantia**, v. 72, p. 230–236, 2013.
- PU, G.; *et al.* Salicylic acid activates artemisinin biosynthesis in *Artemisia annua* L. **Plant Cell Reports**, v. 28, p. 1127–1135, 2009.

RANDJELOVIC, P. J.; *et al.* Toxic essential oils. Part II: Chemical, toxicological, pharmacological and microbiological profiles of *Artemisia annua* L. volatiles. **Food and Chemical Toxicology journal**, v. 58, p. 37–49, 2013.

RAYMOND, M.; *et al.* Enhancement of artemisinin in *Artemisia annua* L. through induced mutation. **OALib**, v. 02, p. 1–11, 2015.

REDDY, T.; *et al.* Genetic variability analysis for the selection of elite genotypes based on pod yield and quality from the germplasm of okra (*Abelmoschus esculentus* L. Moench). **Journal of Agricultural Technology**, v. 8, p. 639–655, 2012.

RESENDE, M. A. V.; *et al.* Divergência genética e índice de seleção via BLUP em acessos de algodoeiro para características tecnológicas da fibra. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 44, p. 334–640, 2014.

RESENDE, M. D. V.; *et al.* Capítulo 3-Genética: estratégias de melhoramento e métodos de seleção 3 Genética: estratégias de melhoramento e métodos de seleção. p. 171, 2004.

RESENDE, M. D. V, SILVA ALVES, R. Linear, Generalized, Hierarchical, Bayesian and Random Regression Mixed Models in Genetics/Genomics in Plant Breeding. **Functional Plant Breeding Journal**, v. 2, p. 1–31, 2020.

RESENDE, M. D. V. DE. Avanços da genética biométrica Florestal. In: ENCONTRO SOBRE TEMAS DE GENÉTICA E MELHORAMENTO. Anais. 1997.

RESENDE, M. D. V. DE. Efeitos fixos ou aleatórios de repetições no contexto dos modelos mistos no melhoramento de plantas perenes. **EMBRAPA**, 2002.

RISALITI, L.; *et al.* *Artemisia annua* essential oil extraction, characterization, and incorporation in nanoliposomes, smart drug delivery systems against *Candida* species. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 59, p. 101849, 2020.

ROCHA, M.; *et al.* Avaliação genética de progênies de meio-irmãos de *Eucalyptus Urophylla* utilizando os procedimentos REML/BLUP e E(QM). **Ciência Florestal**, p. 369–379, 2006.

RODRIGUES, H. S. Seleção, diversidade genética e correlações em progênies de meio-irmãos de pupunheira para produção de palmito. 2017. 81p.

RODRIGUES, H. S.; *et al.* Variabilidade genética e seleção de progênies de pupunheira via modelos mistos (REML/BLUP). **Acta Scientiarum – Agronomy**, v. 39, p. 165–173, 2017.

ROSADO, A. M., .; *et al.* Seleção simultânea de clones de eucalipto de acordo com produtividade, estabilidade e adaptabilidade. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 47, p. 964–971, 2012.

R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>. 2021.

- SALEHI, M.; *et al.* Expression of artemisinin biosynthesis and trichome formation genes in five *Artemisia* species. **Industrial Crops and Products**, v. 112, p. 130–140, 2018.
- SCHILMILLER, A. L., LAST, R. L., PICHERSKY, E. Harnessing plant trichome biochemistry for the production of useful compounds. **Plant Journal**, v. 54, p. 702–711, 2008.
- SHEN, Q.; *et al.* The genome of *Artemisia annua* provides insight into the evolution of Asteraceae family and artemisinin biosynthesis. **Molecular Plant**, v. 11, p. 776–788, 2018.
- SHUKLA, K., SHASANY, A. K., KHANUJA, S. P. S. Research and development on *Artemisia annua* in India. **New Age Herbals**, p. 1–464, 2018.
- SIXT, M., STRUBE, J. Systematic and model-assisted evaluation of solvent based- or pressurized hot water extraction for the extraction of artemisinin from *Artemisia annua* L. **Processes**, v. 5, p. 1–15, 2017. DOI: 10.3390/pr5040086.
- TAIZ, Lincoln, Fisiologia vegetal [recurso eletrônico] / Lincoln Taiz, Eduardo Zeiger; [tradução: Armando Molina DivanJunior ... *et al.*]; revisão técnica: Paulo Luiz de Oliveira. - 5. ed. - Dados eletrônicos. - Porto Alegre: **Artmed**, 2013.
- TAN, H.; *et al.* TRICHOME and ARTEMISININ REGULATOR 1 is required for trichome development and artemisinin biosynthesis in *Artemisia annua*. **Molecular Plant**, v. 8, p. 1396–1411, 2015.
- TIWARI, S. Recurrent selection for breeding high artemisinin containing genotypes of *Artemisia annua*. **Trends in Biosciences**, v. 7, p. 922–924, 2014.
- TOWNSEED, T.; *et al.* A. The use of combining ability analysis to identify elite parents for *Artemisia annua* F1 hybrid production. **PLoS ONE**, v. 8, 2013.
- TRIPATHI, A. K.; *et al.* Repellency and toxicity of oil from *Artemisia annua* to certain stored-product beetles. **Journal of Economic Entomology**, v. 93, p. 43–47, 2000.
- VAN DEN DOOL, H. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Jornal Chromatography**. A, v. 11, p. 463-471, 1963.
- WANG, W.; *et al.* Advances and challenges in medicinal plant breeding. **Plant Science**, 2020.
- WEI, T. e SIMKO, V. R package 'corrplot': Visualization of a Correlation Matrix (Version 0.92). Available from <https://github.com/taiyun/corrplot>. 2021.
- WETZSTEIN, H. Y., JANICK, J., FERREIRA, J. F. S. Germplasm release of four high-artemisinin clones of *Artemisia annua* L. **Hort Science**, v. 54, p. 2081–2082, 2019.
- WETZSTEIN, H. Y.; *et al.* Selection and clonal propagation of high artemisinin genotypes of *Artemisia annua*. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, 2018.



WEI, T, SIMKO, V. R package 'corrplot': Visualization of a Correlation Matrix. (Version 0. 92). 2021. <https://github.com/taiyun/corrplot>

WHO. WHO monograph on good agricultural and collection practices (GACP) for *Artemisia annua* L. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 53, p. 1689–1699, 2006.

WHO. World Malaria Report 2021. Geneva. [s. l.] World Health Organization, 2021. 1–232p.

WOYANN, L. G. Ganho genético e seleção em gerações iniciais e em linhagens de trigo por meio de modelos mistos. 2018. Tese (Doutorado em Agronomia) - Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2018.

XIANG, L.; *et al.* Enhancement of artemisinin content and relative expression of genes of artemisinin biosynthesis in *Artemisia annua* by exogenous MeJA treatment. **Plant Growth Regul**, v. 75, p. 435–441, 2014.

ZALOUMIS, S. G.; *et al*, J. A. In silico investigation of the decline in clinical efficacy of artemisinin combination therapies due to increasing artemisinin and partner drug resistance. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 62, 2018.

ZANATTA, J. L. **Utilização de caracteres agronômicos, fisiológicos e fitoquímicos na seleção e melhoramento de *Artemisia annua* L.** Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2018.