

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA (INPA)
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
AGRICULTURA NO TRÓPICO ÚMIDO

DESENVOLVIMENTO DE *Artemisia annua* L. CULTIVADA EM
DIFERENTES CLASSES DE SOLOS COM E SEM ADIÇÃO DE SOLUÇÃO
NUTRITIVA

JONE LIBÓRIO UCHÔA CARNEIRO

Manaus, Amazonas

Agosto, 2010

JONE LIBÓRIO UCHÔA CARNEIRO

DESENVOLVIMENTO DE *Artemisia annua* L. CULTIVADA EM
DIFERENTES CLASSES DE SOLOS COM E SEM ADIÇÃO DE SOLUÇÃO
NUTRITIVA

Orientador(a): Dr. Newton Paulo de Souza Falcão

Co-orientador(es): Dr. Pedro Melillo de Magalhães

Dr. Adrian Martin Pohlit

Projeto apresentado ao Programa de Pós-Graduação do INPA como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em CIÊNCIAS AGRÁRIAS, área de concentração em Agricultura no Trópico Úmido.

Manaus, Amazonas

Agosto, 2010

C289

Carneiro, Jone Libório Uchôa

Desenvolvimento de *Artemisia annua* L. cultivada em diferentes classes de solos com e sem adição de solução nutritiva /

Jone Libório Uchôa Carneiro.--- Manaus : [s.n.], 2010.

42 f.: il.

Dissertação (mestrado)-- INPA, Manaus, 2010

Orientador : Newton Paulo de Souza Falcão

Co-orientador : Pedro Melillo de Magalhães e Adrian Martin Pohlit

Área de concentração : Ciências Biológicas, Agrárias e Humanas

1. Solos – Fertilidade. 2. Solos – Teor de artemisinina. 3. Plantas – Nutrição.
4. *Artemisia annua* L. I. Título.

CDD 19. ed. 631.42

AGRADECIMENTOS

Ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), pelo apoio logístico e infraestrutura;

À Coordenação de Pesquisas em Ciências Agronômicas (CPCA/INPA);

À Coordenação de Pesquisas em Recursos Hídricos (CPRH/INPA);

À Coordenação de Pesquisas em Produtos Naturais (CPPN/INPA);

Ao Laboratório de Análises de Solos e Planta I e II;

Ao Laboratório de Princípios Ativos da Amazônia, pelas análises. (LAPAAM/INPA);

À Fundação de Amparo a Pesquisas do Amazonas (FAPEAM), pela bolsa;

Ao Programa de Pós-Graduação (PPG/INPA);

Ao Curso de Pós Graduação em Agricultura no Trópico Úmido (ATU/INPA);

À Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP);

Aos servidores do Laboratório Temático de Solos e Plantas I e II;

Ao orientador Dr. Newton Paulo de Souza Falcão, aos co-orientadores Dr. Pedro Melillo de Magalhães e Dr. Adrian Pohlit Martin, e

Às vítimas e pesquisadores que lutam ou morreram lutando pelo combate à malária e que seus esforços se fazem onipresentes na história desta enfermidade humana.

RESUMO

Este estudo teve por objetivo avaliar o efeito de diferentes tipos de solos com adição de solução nutritiva na produção de biomassa e teor de artemisinina em *Artemisia annua* L. O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação da Coordenação de Pesquisas em Ciências Agronômicas (CPCA) do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5x2, com dez repetições, sendo cinco classes de solo (Argissolo Vermelho-Amarelo Distrófico (PVAd); Espodossolo Ferrihumilúvicos Órtico (ESKo); Gleissolo Háptico Ta Eutrófico (GXve); Latossolo Amarelo Eutrófico (LAe); Latossolo Amarelo Distrófico típico (LAd), tratados com aplicação de solução nutritiva completa. As plantas cultivadas em solo de LAe, com solução nutritiva, obtiveram maior produtividade de biomassa, diâmetro do caule, massa seca da raiz, número de folhas, rendimento de artemisinina em relação aos demais tratamentos. O teor de artemisinina diferiu apenas em plantas cultivadas em PVAd, ao qual não foi observado nenhum padrão de caráter nutricional que pressupõe uma hipótese consistente. A aplicação de solução nutritiva diminuiu o teor de Al tóxico dos solos, e conseqüentemente a percentagem de saturação do mesmo, aumentando a soma de bases, e a capacidade de troca catiônica (CTC). As plantas cultivadas em PVAd, ESKo e LAd (sem solução) tiveram 100% de mortalidade devido ao pH ácido, o baixo conteúdo nutricional, e alta acidez potencial dos solos. O teor nutricional foliar indicou que as plantas cultivadas em LAe, com solução, apresentaram deficiência de K, confirmada pela diagnose visual. A solução nutritiva utilizada causou indisponibilidade de nutrientes do solo à planta devido a sua composição.

Palavras-chave: *Artemisia annua* L., artemisinina, nutrição de plantas, fertilidade do solo.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effect of different soil types with the addition of nutrient solution in the production of biomass and artemisinin content in *Artemisia annua* L. The experiment was conducted in a greenhouse of the Research Coordination in Agricultural Sciences (SCAC) of the National Institute for Amazonian Research (INPA). The experimental design was completely randomized in a 5x2 factorial arrangement with ten replications, with five classes of soil (Acrisol Dystrophic (PVAd); Spodosol Ferrihumilúvicos Orthic (Esko); Gleysol Haplic Eutrophic Ta (GXve); Typic Eutrophic (LAE); Yellow Latosol (LAd), treated with application of complete nutrient solution. The plants grown in soil in Lae, with nutrient solution, had higher productivity of biomass, stem diameter, root dry mass, leaf number, artemisinin yield compared to other treatments. artemisinin content differed only in plants grown in PVAd, which was not observed any pattern of character which requires a nutritional hypothesis consistent. The application of nutrient solution decreased the Al content of toxic soils, and consequently the percentage of saturation of that, increasing the sum of bases, and cation exchange capacity (CEC). Plants grown in PVAd, Esko and LAd (unresolved) had 100% mortality due to acidic pH, the low nutritional content, and high potential acidity of the soil. The foliar nutrient content indicated that plants grown in Lae, with solution, showed K deficiency, confirmed by visual diagnosis. The nutrient solution used caused the unavailability of soil nutrients to the plant due to its composition.

Key words: *Artemisia annua* L., artemisinin, plant nutrition, soil fertility

SUMÁRIO	Pág.
1. INTRODUÇÃO.....	08
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	09
2.1. Malária.....	09
2.2. Agente etiológico e vetor.....	09
2.3. Artemisinina (princípio ativo).....	10
2.4. <i>Artemisia annua</i> L.....	11
2.5. Cultivo.....	12
2.6. Exigências nutricionais.....	13
2.6.1. Macronutrientes.....	13
2.6.2. Micronutrientes.....	14
2.7. Solução nutritiva.....	14
2.8. Solos da Amazônia.....	14
2.8.1. Características dos solos estudados.....	15
3. OBJETIVO.....	16
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	17
4.1. Local e Delineamento experimental.....	17
4.5. Preparo da solução nutritiva.....	18
4. Análises.....	18
4.1. Fertilidade do solo.....	18
4.2. Avaliações biométricas das plantas.....	19
4.3. Nutrição da planta.....	20
4.4. Determinação do teor de artemisinina.....	20
4.5. Análise de dados.....	21
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	22
 Artigo I - Efeito da adição de solução nutritiva em diferentes tipos de solos cultivados com <i>Artemisia annua</i> L.....	 29
 RESUMO.....	 29
ABSTRACT.....	30
INTRODUÇÃO.....	31
MATERIAL E MÉTODO.....	32
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
Fertilidade do solo.....	34
pH do solo.....	35
Nutrição da planta.....	36
Diagnose Visual.....	38
Parâmetros biométricos e produção.....	39
Teor de Artemisinina.....	40
Peso seco da raiz.....	41
Altura.....	41
Diâmetro do caule.....	42
Número de ramos.....	42
CONCLUSÃO.....	43
REFERÊNCIA.....	44

1. INTRODUÇÃO

De acordo com a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (RENISUS, 2009), a qual prevê uma relação de plantas medicinais e de fitoterápicos a serem disponibilizados criteriosamente no sistema de saúde, foi observado para o caso da malária, que a espécie vegetal de maior interesse em função do uso comprovado e do respaldo científico sobre sua eficácia e segurança é a *Artemisia absinthium*, que possui o mesmo princípio ativo da planta *Artemisia annua*.

Até o momento, a melhor alternativa para o tratamento da malária, causada pelo *Plasmodium falciparum*, é a utilização dos derivados semi-sintéticos da artemisinina (arteméter e artesunato de sódio), de comprovado eficácia e apresenta pouco efeito colateral (WHO, 2008).

Embora originária de regiões de clima temperado, apresenta boa adaptabilidade em locais de clima tropical através da seleção de sementes e híbridos. Um dos fatores que contribuem para isso é a capacidade que tem em crescer em diferentes tipos de solo (Laughlin apud Ferreira 2005).

No Brasil, as pesquisas têm como objetivo adaptá-la às condições tropicais pelo estudo da reprodução, seleção de genótipos de florescimento tardio e seleção de híbridos com boa produção de biomassa e artemisinina. Esses estudos tiveram início na década de oitenta e se estende até os dias atuais sempre em busca de otimizar a produção de artemisinina (Magalhães, 1996a).

O processo de melhoramento genético desenvolvido no CPQBA (Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas) da UNICAMP, iniciou-se com uma grande variedade de populações, as quais rendiam baixas produções de artemisinina e biomassa. Somente com a introdução de genótipos superiores vindos do Vietnã, e do desenvolvimento de novas técnicas realizadas na Suíça, foi possível desenvolver híbridos específicos adaptados às condições brasileiras (Magalhães *et al.* 1996b).

Devido a um elevado índice de casos de malária nos trópicos, como ocorre na Amazônia, está se estudando a viabilidade do cultivo da planta em comunidades que possuam ecossistemas diferenciados de solos, no intuito de se conhecer o melhor bioma para o desenvolvimento da espécie. Os ensaios com *A. annua* na região Amazônica são necessários nos ecossistemas amazônicos. Portanto, ao se obter a matéria prima para antimaláricos na própria região amazônica, tem-se um grande alcance estratégico na luta contra a malária

inclusive para melhorar a distribuição dos medicamentos que poderão contemplar formas mais simples, desde que eficazes e seguras, principalmente para comunidades ribeirinhas em áreas remotas da Amazônia, onde a malária é endêmica e crescente.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Malária

A malária é uma típica doença parasitária das regiões tropicais e subtropicais que aflige o ser humano ao longo de sua existência. A estimativa mundial de ocorrência da doença é da ordem de 247 milhões de casos clínicos no ano de 2006 e a mortalidade é superior a 881 mil (WHO, 2008).

No Brasil, 98% da transmissão da malária concentra-se na Amazônia Legal, composta pelos estados do Acre, Amazonas, Amapá, Maranhão, Mato Grosso, Pará, Rondônia, Roraima e Tocantins, abrangendo cerca de 807 municípios. Na região amazônica, 79 municípios foram classificados como de alto risco, dos quais 11 apresentaram incidência acima de 300 casos/mil habitantes. A incidência de malária é semelhante nos diversos grupos etários, sendo menor apenas nos maiores de 60 anos e menores de um ano de idade. A maior transmissão da doença coincide com o período após as chuvas, quando existem condições propícias à proliferação do vetor no meio aquoso (Ministério da Saúde, 2008).

Segundo Magalhães (1996b), vários autores apontam soluções diversas para o controle da doença, mas o fato é que, até hoje, o problema persiste e não se estabiliza, em função de alguns fatores: resistência dos parasitos a drogas tradicionais; tolerância dos vetores aos inseticidas; aumento das áreas desmatadas e desflorestadas, e populações não adaptadas, que imigram para tais áreas de risco (por motivos econômicos e outros).

2.2. Agente etiológico e vetor

Os parasitos causadores de malária pertencem ao gênero *Plasmodium*, sendo quatro espécies que parasitam o homem: *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* e *P. ovale*. O *P. falciparum* é a mais grave, pois causa fortes dores de cabeça e derrame cerebral sendo responsável por 80% das mortes. O vetor, no caso da malária humana, são mosquitos do gênero *Anopheles* (Klayman, apud Quitério, 2006).

Em 2007, apenas três estados, Amazonas, Rondônia e Pará, foram registrados cerca de 354 mil casos, o que corresponde a 78% das ocorrências. No Brasil, há transmissão de três espécies de malária: *P. vivax*, *P. falciparum* e *P. malariae*. No entanto, as infecções causadas por *P. vivax* predominam (www.ministeriodasaude.com.br, 2008).

2.3. Artemisinina (princípio ativo)

Com o surgimento do mosquito *Anopheles* resistente aos inseticidas e o aparecimento de cepas, principalmente do *P. falciparum*, resistentes às drogas para o combate à malária como a cloroquina e a mefloquina (derivados da casca da árvore conhecida como *Cinchona*), há uma necessidade urgente de alternativas seguras para as drogas que estão perdendo eficácia (Butler *et al.*, apud Marchese, 1999).

Na década de 60, a república popular da China deu início um programa sistemático em busca de novos fármacos, empregando plantas nativas usadas como remédios em sua medicina tradicional (Klayman, apud Marchese, 1999). Uma dessas plantas, *Artemisia annua*, já tinha uma longa história de uso. Conhecida como “*Qinghaosu*” desde 168 a.C., foi usada inicialmente no tratamento de hemorróidas. No ano 340 d.C., a *A. annua* foi descrita como antifebril no Manual de Prescrições para Emergências, escrito por Ge Heng. Em 1596, foi descrito no compêndio de matéria médica que a febre poderia ser combatida com preparações de *A. annua* (Meshnick, apud Taranto, 2006).

Em 1798, a decocção de *A. annua* foi sugerida como tratamento para a malária. O princípio ativo da *A. annua* ficou conhecido no Ocidente como artemisinina (Figura1), sendo citada pelo Chemical Abstracts (Resumo Químico) como “artemisinin”. Em 1979, o Qinghaosu Antimalaria Coordinating Research Group (Coordenação do Grupo de Pesquisas do Antimalárico Artemisinina) descreveu que 2.099 casos de malária foram tratados com *A. annua* e todos os pacientes levados à cura clínica (Klayman, apud Quitério 2006).

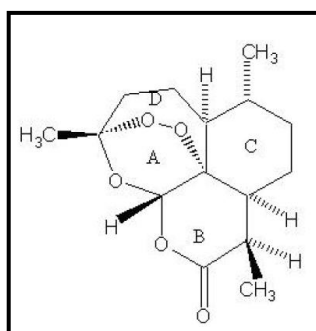


Figura1. Estrutura molecular de artemisinina (Magalhães, 1996b).

A artemisinina é o princípio antimalárico isolado da *A. annua* por cientistas chineses. A artemisinina e seus derivados são esquizonticidas sanguíneos potentes e de ação rápida, provocando a eliminação do parasito e melhora dos sintomas em menos tempo que a cloroquina ou a quinina. Atinge diretamente a corrente sanguínea local, penetrando nas hemácias e destruindo a membrana do *Plasmodium* (Bunnag, apud Salcedo, 1997).

Há uma preocupação geral de que o uso abusivo de apresentações orais de artemisinina e seus derivados poderiam acarretar um declínio rápido em sua eficácia. A fim de preservar sua potente ação antimalárica, o uso de artemisinina e seus derivados devem restringir-se principalmente ao tratamento de malária grave em áreas de multirresistência do *P. falciparum* (www.ministeriodasaude.com.br, 2001).

2.4. *Artemisia annua* L.

A família *Asteraceae* engloba cerca de 1.100 gêneros com aproximadamente 25.000 espécies e o gênero *Artemisia* possui em torno de 400 espécies (Heywood *et al.*, apud Magalhães, 1996b).

A. annua (Figura 2) é uma planta anual, herbácea, aromática, pertencente à família *Asteraceae*, sua altura varia de 0,80 a 2 m (Ferreira *et al.*, apud Marchese, 1999), possui fecundação cruzada e multiplica-se por sementes, além de propagar-se vegetativamente por estacas ou por cultura de tecidos (Magalhães, 1996b). Ocorre naturalmente como parte da vegetação das planícies ao norte das províncias de Chadar e Suiyan, na China, entre 1.000 e 1.500 m de altitude.

A área geográfica de *A. annua* é fundamental em determinar as áreas potenciais para cultivo. Apesar de *A. annua* ser originária de clima temperado, pode crescer muito bem em clima tropical (Woerdenbag *et al.*, apud Ferreira, 2005).



Figura 2. *Artemisia annua* L., com três meses de crescimento (casa de vegetação/INPA).

Segundo Ferreira *et al.* (apud Marchese, 1999) a distribuição de artemisinina na planta está concentrada em suas folhas e inflorescências, com baixos teores nos talos e nenhuma na raiz e pólen, e os tricomas glandulares que ocorrem nas folhas, colmos e flores são os prováveis sítios de acumulação de artemisinina.

2.5. Cultivo

A administração de artemisinina com outros fármacos antimaláricos (Terapia Combinada à Base de Artemisinina - TCA) tem sido recomendada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) desde 2001, onde a resistência à drogas antimaláricas convencional tem sido observada. De 2001 a 2004, 53 países na África, Ásia, e América do Sul adotaram atuar como primeiro ou segunda linha antimalárica a cloroquina, onde não é mais eficaz. Esta recomendação causou a procura de artemisinina para aumentar, levando à escassez de abastecimento até 2004, embora a situação foi recentemente relatada como estando sob controle (Cyranoski, apud Ferreira, 2007).

Para atender à demanda gerada pela recomendação da OMS, empresas de produção expandiram o cultivo de *A. annua* em de 200 para cerca de 1.600 hectares, no Quênia, Tanzânia e Uganda. Esta área está em expansão com o cultivo de artemísia em Moçambique, Malawi, Zâmbia, Senegal, Gana, Ruanda, África do Sul e Madagáscar. Na China, os produtores e os agricultores associados têm anunciaram sua intenção de aumentar a produção anual de artemisinina de 14 para 40 toneladas por ano. Estima-se que a área mundial necessárias para satisfazer a demanda está entre 10.000 e 11.000 hectares, com base na estimativa de que um hectare da espécie produz artemisinina para o tratamento de 25.000 adultos (NAS, 2004).

Na Índia experimentos com *A. annua* cultivada em solos pH 4,9 e 9,9 obtiveram rendimentos de óleo essencial, com de 75% e 25% (Prasad *et al.*, apud Ferreira, 2005). Foi demonstrado que algumas linhagens de *A. annua* são sensíveis ao pH do solo abaixo de 5,0 a 5,5 (Laughlin apud Ferreira, 2005).

A época de plantio é importante para o estabelecimento da cultura no início da estação chuvosa, que permite o rápido crescimento nas fases iniciais da colheita e da produção de maior biomassa antes da floração. Em Indiana, E.U.A., um experimento em casa de vegetação com temperatura constante de 27 °C utilizando estacas mostraram que *A. annua* que é uma

planta de dias curtos, floresceu após duas semanas de exposição aos fotoperíodos de 8, 10 e 12 horas, mas não de 16, 20 ou 24 horas (Ferreira *et al.*, 1997).

As sementes da planta permanecem viáveis por até três anos se armazenado em local seco e fresco (Ferreira *et al.*, 1997). Vários pesquisadores transplantam *A. annua* para o campo quando as plantas possuem dez folhas, que exige de 4 a 6 semanas de crescimento em casa de vegetação. A propagação vegetativa da *A. annua* é normalmente realizada a partir de estacas. Os brotos podem ser tomados a partir de plantas jovens ou adultos e têm uma taxa de enraizamento de 95 a 99%. As estacas formarão raízes com cerca de duas semanas em uma câmara de nebulização (Ferreira, apud Magalhães, 1996b).

Embora o método de estacas produza plantas homogêneas, quanto ao teor de artemisinina, não é considerado viável para grandes áreas destinadas para fins comerciais. Por outro lado, as sementes geradas por plantas varia muito em conteúdo de artemisinina, que podem chegar a 1,5% (Debrunner *et al.*, apud Ferreira, 2005).

Outro experimento de campo perto de Hanói foi realizado com uma cepa vietnamita de *A. annua* e obteve a máxima produção de matéria seca de folhas (5,3 t ha⁻¹), máximo da concentração de artemisinina foi de 0,86% e máximo rendimento de artemisinina foi de 45,4 kg ha⁻¹ que ocorreram na fase vegetativa com o comprimento do dia 13 horas (Woerdenbag *et al.*, apud Ferreira, 2005).

Na Tasmânia (Austrália), um experimento de campo com uma variedade iugoslava comparou 1, 5, 10, 15 e 20 plantas/m², que o rendimento de biomassa foi maior em uma densidade de 20 plantas/m². No entanto, 10 plantas/m² permitiram cerca de 90% do máximo de rendimento de 6,8 t ha⁻¹ (Laughlin, apud Ferreira, 2005).

A *A. annua* requer a umidade do solo adequada, devendo ser cultivada no início da estação das chuvas, com freqüentes irrigações para garantir bom estabelecimento da cultura. A freqüência de irrigação dependerá de tipo de solo, o clima e estação. Outro motivo para evitar a queda de umidade no solo é a possibilidade da “queima” por fertilizante. Esse problema é causado por um prejudicial efeito osmótico de altas concentrações de elementos móveis, tais como N e K (Laughlin & Chung, apud Ferreira, 2005).

Os níveis de artemisinina pelas plantas são na sua maioria ligadas a fatores genéticos, o trabalho de Simonnet *et al.* (apud Ferreira, 2005) indicou que é possível artemisinina aumentar até 30% depois que as plantas colhidas são deixadas para secar a pleno sol por 20 a 30 dias.

Padrões similares do aumento da concentração de artemisinina em plantas secas ao sol de *A. annua* de 21 dias foram descritas por Laughlin (apud Quitério, 2006). Este aumento pode ser devido ao foto-estresse oxidativo sofrido pelas plantas durante o processo de secagem.

2.6. Exigências Nutricionais

2.6.1. Macronutrientes

Existem poucas publicações sobre crescimento vegetativo de *A. annua* e respostas específicas para os teores de macro e micronutrientes, de seus efeitos sobre a concentração de artemisinina e compostos afins. A *A. annua* pode ser cultivada em uma ampla gama de pH (5,0-8,0), dependendo da origem vegetal, mas existem poucos estudos sobre o efeito do pH do solo na o crescimento vegetativo e concentração de artemisinina em *A. annua*. Na Tasmânia, na Austrália, o efeito de 10 t ha⁻¹ de calcário moído fino (carbonato de cálcio) aumentou o pH do solo de 5,0 a 5,5 e o rendimento de matéria seca da variedade iugoslava aumentou de 1,0 para 6,5 t ha⁻¹, enquanto a chinesa aumentou de 4,5 para 8,0 t ha⁻¹ (Laughlin, apud Ferreira, 2005).

Foi obtido em um experimento no Mississippi (E.U.A.), o aumento significativo da matéria seca das folhas (1 a 3 t ha⁻¹), aplicando-se uniformemente no solo uma adubação completa (100 kg de N, 100 kg de P e 100 kg ha⁻¹ de K) (WHO, 2008). Da mesma forma na Tasmânia, Austrália foi obtida em experimentos 6,12 t ha⁻¹ de folhas secas com uma mistura de adubo contendo 60 kg de N, 60 kg de P e 50 kg ha⁻¹ de K (Laughlin, apud Ferreira, 2005).

Existem alguns trabalhos sobre a resposta da *A. annua* para Nitrogênio em condições de campo, e P e K em cultura de tecidos. Liu *et al.* (apud Ferreira, 2005) relatou que o aumento da biomassa da planta, KH₂PO₄ e teor de artemisinina (0,05 - 0,20 %) até 200 mg L.

Experiências em Indiana (E.U.A.), comparou três doses de N (0; 67 e 134 kg N ha⁻¹) e três densidades de plantas (27.778; 55.555 e 111.111 plantas/ha⁻¹). O estudo obteve quantidades elevadas de óleo essencial (85 kg ha⁻¹) e biomassa fresca total de plantas (30 t ha⁻¹). Estudos hidropônicos no Brasil concluíram que a omissão de N ou P reduz drasticamente o crescimento das plantas e da produção de matéria seca (Figueira, 1995).

Posteriormente experiências no campo com adubação nitrogenada em dosagens de 0; 32; 64 e 97 kg N ha⁻¹ aplicados como uréia (Magalhães *et al.*, 1996a). Neste ensaio, foi obtido o rendimento de folha seca em torno de 2.420 kg ha⁻¹, e rendimento de artemisinina de 26 kg ha⁻¹ obtida em 0 kg N ha⁻¹ aumentou para 4.690 kg ha⁻¹ a matéria foliar seca e 41 kg ha⁻¹ de

artemisinina em 97 kg N ha⁻¹, embora a concentração de artemisinina por planta foi reduzida por 22% a essa alta dose de N, a taxa de 64 kg N ha⁻¹ resultou em 3.880 kg ha⁻¹ de biomassa e produção de artemisinina 40,4 kg ha⁻¹ (um aumento de 51% a 0 kg N ha⁻¹).

A comparação das diferentes formas de N disponível, tais como a uréia e nitrato de amônio, com sulfato de amônio e nitrato de amônio podem ser úteis. O sulfato de amônio foi comparado com o nitrato de amônio em um campo experimento em solo arenoso, na Suíça. Quando 90 kg N ha⁻¹ foi aplicado, tanto formas de Nitrogênio foliar aumentou produção de matéria seca e o rendimento artemisinina em cerca de 50%. No entanto, um cultivo hidropônico sugere que uma maior proporção de nitrato de amônio que pode induzir melhor biomassa foliar (Magalhães *et al.*, 1996a).

Figueira (1995) desenvolveu um estudo em hidroponia onde avaliou a influência de nutrientes na produção de artemisinina, verificando que a omissão dos elementos N, P, K, Ca, Mg ou S diminuiu drasticamente a produção de matéria seca e limitou a produção de artemisinina e ácido artemisinínico.

2.6.2. Micronutrientes

Experimentos com *A. annua* (Washington, DC) mostrou que os baixos níveis dos micronutrientes Fe, Mn, Cu, Zn e Bo, quando comparados aos níveis superiores, resultaram em reduções significativas na altura das plantas (26 - 63% mais curtos), peso fresco (19 - 45% mais leves) (Chen & Zhang, apud Figueira, 1995). Nos estudos de Srivastava & Sharma (apud Ferreira, 2005) a artemisinina nas plantas foi em média 0,02% (w/w), diminuindo significativamente em plantas submetidas a níveis baixos de Fe (duas vezes mais baixa), Cu (20x menor), Zn (10x inferior) e Bo (10x menor).

2.7. Solução nutritiva

A utilização de solução nutritiva, constitui uma importante técnica para a realização de estudos envolvendo aspectos associados à nutrição de plantas, tais como: eficiência de absorção e utilização de nutrientes; caracterização de sintomatologias de carências e excessos de nutrientes; estudos sobre aspectos histológicos, morfológicos e anatômicos de raízes submetidas a diferentes teores e relações entre nutrientes; translocação e

compartimentalização de nutrientes nas plantas; interações – antagonismo e sinergismo – entre nutrientes, etc. (Lehmann *et al.*, 2003b).

De fato, o grau de controle que se pode exercer sobre os fatores em estudo, quando se trabalha com solução nutritiva, é muito maior do que em condições de solo. Dessa forma, em solução, pode-se discriminar e avaliar melhor os efeitos e as causas, o que permite maior entendimento do fenômeno ou aspecto em estudo. A partir desta compreensão o grau de previsão e extrapolação de resultados é sensivelmente melhorado. Não obstante esses aspectos, os fatores testados em condições de solução nutritiva devem também ser avaliados em condições de solo – casa de vegetação e campo – para melhor validação das informações obtidas (Malavolta, 1997).

2.8. Solos da Amazônia

A Amazônia Central apresenta uma grande variedade de solos que, em sua grande maioria, exibem elevada acidez, baixa capacidade de troca catiônica e baixa fertilidade natural (Vieira, 1975).

Cerca de 75% dos solos da região Amazônica pertencem as classes dos Latossolos e dos Argissolos, ambos caracterizados por apresentar baixa concentração de bases trocáveis, minerais de argila de atividade baixa, como a caulinita, e óxidos e hidróxidos de Fe e Al, baixa disponibilidade de P, elevada acidez e, conseqüentemente, maior concentração de Alumínio trocável e, em certos casos, Mn, ambos tóxicos para maioria das plantas. Nos 25% restantes estão ainda incluídos os solos extremamente arenosos e quimicamente pobres, onde a vegetação natural é em geral do tipo savana (3,3%), e as áreas com problemas de drenagem (13,6%). Os solos moderadamente férteis e bem drenados ocupam cerca de 8,4% da região, correspondendo a uma extensão de aproximadamente 40 milhões de hectares (Vieira, 1975).

2.8.1. Características dos solos estudados

Latossolo Amarelo com A antrópico (LAe - Terra Preta de Índio) – As Terras Preta de Índio (TPI) são solos que exibem coloração escura, elevada fertilidade, capacidade de retenção de nutrientes, apresentando altos teores de carbono orgânico, Ca, Mg e P e possuem alta saturação de base ($V \leq 50\%$). São manchas de solo que ocorrem por toda a Amazônia,

geralmente encontradas próximas aos cursos de água, em locais bem drenados (Falcão *et al.*, 2001).

Uma hipótese mais recente sobre a origem das Terras Pretas acredita que o aparecimento e a persistência desses solos são resultados do acúmulo gradual de matéria orgânica, fragmentos de carvão e de cerâmica, feito pelo homem ao longo do tempo, em áreas de assentamentos humanos pré-colombianos (Lehmann *et al.*, 2003a; Woods & McCann, 1999).

Latossolo Amarelo Distrófico típico (LAd) – São em geral solos fortemente ácidos, com baixa saturação por bases, distróficos ou alumínicos, encontrados em zonas que apresentam estação seca pronunciada, semi-áridas ou não, ou ainda por influência de rochas básicas ou calcárias. Variam de fortemente a bem drenados, embora ocorram solos que têm cores pálidas, de drenagem moderada ou até mesmo imperfeitamente drenada, sendo normalmente muito profundos de avançado estágio de intemperização (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2006).

Esta classe de solo ocorre em regiões equatorial, tropicais e subtropicais, nos tabuleiros costeiros e numa extensão muito grande da Amazônia. Possui baixos teores de Fe_2O_3 , cor amarelada e são tipicamente caulínico e goethítico, apresentando os torrões com uma grande coerência. É quase sempre álico (alta saturação por Al), segundo Resende *et al.* (1999).

Argissolo Vermelho Amarelo distrófico (PVAd) – Compreende solos constituídos por material mineral, que têm como características diferenciais a presença de horizonte B textural de argila a arenosa de atividade baixa, ou alta conjugada com saturação por bases baixa ou caráter alítico, e saturação de alumínio a 50%. Possui textura arenosa desde a superfície até a profundidade superior a 100 cm e com horizonte B textural dentro de 200 cm da superfície do solo (Embrapa, 2006).

Espodossolo Cárbico Órtico (ESKo) – Compreende solos constituídos por material mineral com horizonte B espódico subjacente a horizonte eluvial E (álbico ou não), ou subjacente a horizonte A, que pode ser de qualquer tipo. A textura do solo é predominantemente arenosa, sendo menos comumente textura média e raramente argilosa, de drenagem variável, muito pobre em fertilidade, moderada a fortemente ácidos, normalmente com saturação por bases

baixa, podendo ocorrer altos teores de alumínio. Em geral, estão associados aos ambientes de restingas, mas ocorrem em outros tipos de vegetação (Embrapa, 2006).

Gleissolo Háptico Ta eutrófico (GXve) – Estes solos mal drenados, em condições de hidromorfia, estão concentrados em planícies de inundação, cujos sedimentos começaram a se depositar no holoceno durante os últimos 10.000 anos, é parental de solos andinos e pré-andinos, localizados a cerca de 3.500 km a oeste (Padoch *et al.*, 2000). Solos com argila de atividade alta e alta saturação por bases ($V \geq 50\%$) na maior parte dos primeiros 100cm a partir da superfície do solo (Embrapa, 2006).

2. OBJETIVO GERAL

Avaliar efeito de diferentes tipos de solos com e sem adição de solução nutritiva na produtividade de biomassa, teor de artemisinina, parâmetros biométricos da planta (número de ramos, diâmetro do caule, altura da planta e biomassa da raiz), a nutrição da planta e a fertilidade dos diferentes tipos de solos em função dos tratamentos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local e Delineamento experimental

O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação da Coordenação de Pesquisas em Ciências Agrônômicas (CPCA) do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). Segundo Ribeiro (1976), o clima da região é do tipo “Afi” de temperatura média anual de 26°C, e máxima de 32 °C, a umidade relativa do ar é muito elevada apresentando entre 71% e 91% ao longo do ano.

O estudo foi realizado entre os meses de outubro e dezembro, sendo o delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5x2, com dez repetições, sendo cinco tipos de solos da Amazônia Central tratados com e sem aplicação de solução nutritiva completa (Sarruge & Haag, 1974), totalizando 100 unidades experimentais, utilizando vasos com capacidade de 2,5 Kg.

Foram utilizadas amostras de cinco classes de solos ocorrentes na Amazônia Central, classificados segundo Embrapa (2006). Seus respectivos locais de coleta foram: 1) Argissolo Vermelho-Amarelo Distrófico (PVAd); 2) Espodossolo Ferrihumilúvicos Órtico (ESKo); 3)

Gleissolo Háptico Ta Eutrófico (GXve); 4) Latossolo Amarelo Eutrófico (LAe), e 5) Latossolo Amarelo Distrófico típico (LAd).

A coleta dos solos foi realizada com tempo ensolarado. O solo úmido foi coletado com auxílio de uma pá, o ponto de amostragem foi limpo superficialmente para retirada da vegetação. Foram coletadas amostras da camada de 0 a 20 cm de profundidade de cada classe dos solos estudados e armazenados em sacos de polietileno para posteriores análises e para utilização no experimento.

Os solos coletados foram encaminhados para os procedimentos de secagem à temperatura ambiente para formação de terra seca fina ao ar (TSFA), foram destorroados e em seguida passados em peneira com malha de 20 mm de diâmetro. Os mesmos foram submetidos à caracterização química no Laboratório Temático de Solos e Planta (LTSP / CPCA / INPA) e tiveram sua capacidade de campo (Carvalho, 2001) determinada para controle de umidade durante o experimento, determinando assim o volume de água a necessidades hídricas de cada tipo de solo.

Após os solos serem secos, destorroados, passados em peneiradas e postos nos vasos, foram devidamente umedecidos por uma semana respeitando suas respectivas capacidades de campo, para que os solos tivessem semelhante aspecto de quando estivera em campo.

Os vasos foram casualizado entre os tratamentos e os tipos de solos, no intuito da eliminação de qualquer influência ambiental no crescimento ou variabilidade experimental, atribuída a determinada posição em casa de vegetação, contribuindo estatisticamente para igualar probabilidades dos tratamentos.

A aplicação da solução nutritiva nos vasos contendo os diferentes tipos de solo ocorreu antes dos transplântio das mudas de *A. annua*. Os mesmos foram irrigados com solução nutritiva completa (Sarruge e Haag, 1974). As soluções de Macro e Micronutrientes foram aplicadas na diluição de 1 L de água para cada vaso.

As sementes de *Artemísia annua* utilizadas na pesquisa foram as do CPQBA-Silves, fornecidas pela Embrapa Amazônia Ocidental. Utilizando sementeiras de isopor (64 células), preenchidas com um substrato comercial PlantMax[®], sendo possível cultivar as plantas em viveiro. Quando as plantas lançaram o segundo par de folhas definitivas, foram repicadas para vasos de polietileno com capacidade de 2,5 Kg de solo.

3.3. PREPARO DA SOLUÇÃO NUTRITIVA

Os reagentes utilizados foram classificados como P.A. (para análise) por ter uma elevada pureza química, no intuito de se evitar a introdução de agentes contaminantes e manter uma confiabilidade no teor nutricional aplicado.

Inicialmente os reagentes foram pesados, combinados e diluídos de tal forma a originar as soluções estoques, no Laboratório Temático de Solos e Planta (INPA), que consistiram de soluções concentradas a partir das quais, mediante a tomada de alíquotas, foram preparadas as soluções nutritivas aplicadas nos solos. As fontes de macro e micronutrientes foram manejadas de modo a dar origem a soluções 1M. Após preparo das soluções, as mesmas foram transferidas para frascos de cor escura sendo armazenados em geladeira e recobertos com papel alumínio para evitar reações químicas adversas pela luminosidade e temperatura ambiental.

4. ANÁLISES

4.1. FERTILIDADE DO SOLO

As análises químicas de solo, segundo Embrapa (1997), objetivaram a determinação dos macros e micronutrientes disponíveis. Amostras de solos de cada vaso foram coletadas antes e após o plantio, foram retiradas amostras aleatórias e posteriormente homogeneizadas para compor três repetições, onde foram postas para secagem à temperatura ambiente. Após esta etapa, o mesmo foi destorroado e passado em peneira com malha de 2 mm denominando-o de terra fina seca ao ar (TFSA), sendo armazenado em saco plástico para posteriormente realizar as seguintes determinações:

Carbono orgânico (CO), determinado pelo método Walkley & Black, pela oxidação da matéria orgânica via úmida com dicromato de K em meio sulfúrico, empregando-se como fonte de energia o calor desprendido do ácido sulfúrico e/ ou aquecimento. O excesso de dicromato após a oxidação é titulado com solução de sulfato ferroso amoniacal.

Potencial de hidrogênio - pH (em água), analisados por meio de eletrodo combinado, imerso em suspensão solo:água na proporção de 1:2,5 mL.

O Ca, Mg e Al foram extraídos por KCl M (1M). Em outra fração do extrato o Ca e Mg foram determinados por Espectrofotometria de Absorção Atômica (EAA). O Al trocável, foi através de titulação em uma fração do extrato com NaOH 0,025 N, na presença de azul de bromotimol como indicador.

Para P, K, Fe, Zn, Mn foi utilizada a solução extratora de Mehlich I, também chamada de solução de duplo-ácido ou Carolina do Norte, ela é constituída por uma mistura de HCl 0,05 M (ácido clorídrico a 1 molar) + H₂SO₄ 0,0125 M (ácido sulfúrico). O emprego dessa solução como extratora de fósforo, potássio, sódio e micronutrientes do solo, baseia-se na solubilização desses elementos pelo efeito de pH, entre 2 e 3, sendo o papel do Cloro (Cl) o de restringir o processo de reabsorção dos fosfatos recém extraídos. A relação solo: extrato sugerido é de 1:10 mL.

A acidez potencial (H + Al) foi extraída pela acidez potencial dos solos com solução de acetato de Ca e titulação alcalimétrica do extrato. A extração do H⁺⁺ + Al⁺⁺⁺ pelo acetato de Ca é baseada na propriedade tampão do sal, decorrente da presença de ânions acetatos. Com o pH ajustado em 7, ele extrai grande parte da acidez potencial do solo até esse valor de pH.

O N foi extraído pelo método fundamentado na conversão do nitrogênio em sulfato de amônio por meio de uma digestão com uma mistura de sulfato de cobre, ácido sulfúrico e selenito de sódio. Posteriormente, em meio alcalino, o sulfato de amônio convertido da matéria orgânica libera amônia (NH⁴⁺) que, em câmara de difusão, é complexada em solução de ácido bórico contendo indicador misto, sendo a dosagem deste por meio da quantificação de NH₃ liberada pela destilação do digerido. O N foi determinado por acidimetria (ácido sulfúrico ou clorídrico). Assim o método processa-se em duas etapas: digestão sulfúrica e destilação seguida de titulação.

4.2. AVALIAÇÕES BIOMÉTRICAS DAS PLANTAS

Após o período de três meses de crescimento da plantas foi realizado o desbaste com auxílio de uma tesoura de poda fazendo um corte na base da planta e rente ao solo e fez-se a extração da raiz da mesma para secagem ao ar livre. Foi determinado o peso seco total da parte aérea para determinação da biomassa fresca, e após a secagem em estufa de circulação fechada a 45 °C (48 h) foi determinado o peso seco da parte aérea (biomassa seca) e o peso seco da raiz, segundo Malavolta *et al.* (1997). Foram realizadas avaliações biométricas da planta tais como: altura, diâmetro do caule e número de ramos.

4.3. NUTRIÇÃO DA PLANTA

As análises químicas de material vegetal objetivaram a determinação quantitativa de macro e micronutrientes. Foi coletada a parte aérea total das plantas (caule e folhas), sendo postas para secar em estufa com ventilação forçada a 60 °C durante 48 horas, a fim de se evitar degradação das substâncias antimetabólicas, em seguida realizada a pesagem do material para determinação do peso seco da matéria seca. Após a etapa de secagem do material vegetal foi feita a moagem em moinho tipo Wiley, com quatro lâminas e armazenando o material em sacos de papel para posterior análise nutricional, segundo Malavolta *et al.*, 1997.

Para analisar N-total foi usado o método desenvolvido por Kjeldahl em 1883, cujo nome foi dado ao método. Posteriormente, em meio alcalino, o sulfato de amônio convertido da matéria orgânica libera amônia (NH_4^+) que, em câmara de difusão, é complexada em solução de ácido bórico contendo indicador misto. Finalmente, o nitrogênio é determinado por acidimetria (ácido sulfúrico ou clorídrico). Assim o método processa-se em duas etapas: digestão sulfúrica e destilação.

Para os nutrientes Ca, Mg, Al, P, K, Zn, Fe, Mn foi utilizado o método da digestão nitroperclórica, ou seja, utilizando-se uma mistura de ácido nítrico - HNO_3 concentrado e ácido perclórico - HClO_4 concentrado. Essa mistura, na proporção de 3:1 é muito oxidante, dissolvendo todos os tecidos vegetais, liberando na solução a quantidade total dos nutrientes da amostra. O carbono foi analisado pelo método de perda ao fogo em mufla.

4.4. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE ARTEMISININA

A determinação do teor de artemisinina foi realizada utilizando a técnica de Cromatografia de Camada Delgada (CCD) acoplada a fotodensitômetro (Bhandari, 2005).

Foram coletadas amostras de folhas deixadas em pequenos sacos de papel, e secas em estufa com circulação forçada de ar, a 45 °C por 48 horas. O material seco foi passado em moinho. Foi pesado 200 mg do material moído, em balança analítica, e as amostras foram transferidas para tubos de ensaio apropriados para o misturador “Politron” e receberam 5 mL de tolueno, utilizando uma proveta, em seguida levadas ao agitador Turrax (CT-138) por trinta segundos em velocidade média.

Após cada amostra agitada, lavou-se a haste do aparelho com etanol, para remover resíduos das amostras, e levadas a balança para estabilização do peso dos tubos com adição de tolueno, sendo levadas para centrífuga com capacidade para quatro amostras, regulada para velocidade de 3.000 rpm, durante 6 min.

Foi utilizada uma cromatoplaça de sílica (Merk, modelo 60F254) para realizar a separação dos componentes das amostras. Foi aplicada uma solução padrão de artemisinina (3; 6; 9; 1,2 µL) na placa, com uma seringa (Hamilton 80300, 10µL SYR – 26s/2”/2) de 10µL, para referências quantitativos. Foram retirados 3µL de cada amostras para aplicação na placa e suas respectivas repetições.

Após aplicação das amostras em placa, a mesma foi imersa em eluente composto de uma mistura de clorofórmio/metanol (98,5 : 1,5; v/v) para realização da ‘corrida’. Utilizando cuba (2 L, 30 x 30 cm) de fundo chato e com vedação eficiente com 100 mL da solução eluente. Mediante saturação da placa com o eluente, retirou-se com o auxílio de pinça e deixou secar para em seguida utilizar a solução de revelação (Solução de anisaldeído) sendo preparada em um erlenmeyer de 100 mL adicionando 50 mL de ácido acético glacial e 0,5 mL de anisaldeído. Em seguida, adicionando lentamente e sob agitação 1,0 mL de ácido sulfúrico concentrado. Não deixando escorrer pelas paredes para evitar oxidação do anisaldeído (Delabays *et al.*, 1992).

A solução reveladora foi aplicada sobre a cromatoplaça da forma mais homogênea possível, utilizando-se um borrifador acoplado em uma bomba de pressão. Aplicado no sentido horizontal e vertical até a placa ficar completamente umedecida, tomando o cuidado para que o revelador não escorra, evitando deformação das bandas. Em seguida, a placa foi colocada em estufa a 110 °C durante cinco minutos.

Para avaliação por densitometria, as placas foram escaneadas pelo aparelho Image Scanner III (General Electric Company[®]), então as imagens são transferidas e analisadas pelo programa computacional Image Quant[®] (TL/1D - v.7).

4.5. ANÁLISE DE DADOS

Foi realizada análise de variância no intuito de comparar a variação devida os tratamentos e a variação devida ao acaso. Quando foram detectados diferenças significativas entre os tratamentos, foi aplicado um teste de média (Tukey, 5% de probabilidade). Todos os dados tabulados foram analisados, estatisticamente, com auxílio do programa Assstat[®] (7.5, beta).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bhandari P.; Gupta A.P.; Singh, B. 2005. Simultaneous densitometric determination of artemisinin, artemisinic acid and arteannuin-B in *Artemisia annua* using reversed-phase thin layer chromatography. *Journal of Separation Science*, 28(17):2288-2292.

Butler, D.; Maurice, J.; O'Brien, C. Time to put malária control on the global agenda. *In: Produção e detecção de artemisinina em plantas de Artemisia annua L. submetidas a estresse abiótico*. Tese de doutorado, Marchese, J.A., 1999. Campinas, São Paulo. 97p.

Bunnag, D.; Viravan, C.; Looreesuan, S; Karbwang, J.; Harinasuta, T. Double blind randomised clinical trial of oral artesunate at once or twice daily dose in falciparum malaria. *In: Salcedo, V.; Miguel, J., et al.* 1997. Avaliação da eficácia do artesunato associado à tetraciclina na terapêutica da malária falciparum. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 30(3):215-222.

Carvalho, L.M. 2001. *Disponibilidade de água, irradiância e homeopatia no crescimento e teor de partenolídeo em Artemisia*. Tese de doutorado, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas gerais. 139pp.

Chen, F.I. & Zhang, G.H. Studies on several physiological factors in artemisinin synthesis in *Artemisia annua* L. *In: Figueira, G.M.* 1995. Mineral nutrition, production, and artemisinin content in *Artemisia annua* L. Dissertação de mestrado. Proceedings of the International, 91p.

Delabays, N.; Blanc, C.; Collet G. 1992. La culture et selection d' *A. annua* L. en vue de la production d' artemisinine. *Revue Suisse Viticulture, Arboriculture et Horticulture*, 24(4):245-251.

EMBRAPA. 1997. *Manual de métodos de análises de solo*. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Rio de Janeiro, Brasil. 212pp.

EMBRAPA. 2006. *Sistema brasileiro de classificação de solos*. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Rio de Janeiro, Brasil. 306pp.

Falcão, N.P.S.; Carvalho, E.J.M.; Comerford, N.B. 2001. Avaliação da fertilidade de solos Antropogênicos da Amazônia Central. *In: Congresso da Sociedade de Arqueologia Brasileira, XI. Grupo de trabalho: Terras pretas arqueológicas na Amazônia: estado da arte. Congresso. Rio de Janeiro, Brasil. 2p.*

Figueira, G.M. 1995. *Nutrição mineral, produção e concentração de artemisinina em Artemisia annua L.* Dissertação de mestrado. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 91p.

Ferreira, J.F.S. *Production and detection of Artemisinin in Artemisia annua L.* *In: Magalhães, P.M. ; Raharinaivo, J.; Delabays, N. 1996. Influences de la dose et du type d'azote sur la production en artemisinine de l'Artemisia annua L. Revue Suisse de Viticulture, Arboriculture et Horticulture 28:349–353.*

Ferreira, J.F.S., Simon, J.E.; Janick, J. Developmental studies of *Artemisia annua*: Flowering and Artemisinin production under greenhouse and field conditions. *In: Marchese, J.A., 1999. Produção e detecção de artemisinina em plantas de Artemisia annua L. submetidas a estresse abiótico.* Tese de Doutorado. Campinas, São Paulo. 97p.

Ferreira, J.F.S., Simon, J.E.; Janick, J. 1997. *Artemisia annua*: botany, horticulture, pharmacology (a review). *Horticultural Reviews*, 19:319–371.

Ferreira, J.F.S. 2007. Nutrient Deficiency in the Production of Artemisinin, Dihydroartemisinic Acid, and Artemisinic Acid in *Artemisia annua L.* *J. Agric. Food Chem.* 55:1686–1694.

Heywood, V.H., Harbone, J.B., Turner, B.L. Anthemidae. *In: Magalhães, P.M.; Raharinaivo, J.; Delabays, N. 1996. Influences de la dose et du type d'azote sur la production en artemisinine de l'Artemisia annua L. Revue Suisse de Viticulture, Arboriculture et Horticulture, 28:349–353.*

Klayman, D.L. Qinqhaosu (Artemisinin): an antimalarial drug from China. *Science In: Marchese, J.A., 1999. Produção e detecção de artemisinina em plantas de Artemisia annua L. submetidas a estresse abiótico.* Tese de Doutorado. Campinas, São Paulo. 97 p.

Klayman, D.L. Weeding out malaria. *In: Quitério, G. C. M., 2006. Produção de artemisinina por Artemisia annua L. Sob influência de micorriza arbuscular.* Dissertação de mestrado. Instituto Agronômico, Campinas, São Paulo. 38p.

Laughlin, J.C. The effect of band placed nitrogen and phosphorus fertilizer on the yield of poppies (*Papaver somniferum* L.) grown on krasnozem soil. *In: Ferreira, J.F.S.; Laughlin, J.C.; Delabays, N.; Magalhães, P.M. 2005. Cultivation and genetics of Artemisia annua L. for increased production of the antimalarial artemisinina. Plant Genetic Resources, 3(2):206–229.*

Laughlin, J.; Cand Chung B. Nitrogen and irrigation effects on the yield of poppies (*Papaver somniferum* L.). *In: Ferreira, J.F.S.; Laughlin, J.C.; Delabays, N.; Magalhães, P.M. 2005. Cultivation and genetics of Artemisia annua L. for increased production of the antimalarial artemisinina. Plant Genetic Resources, 3(2):206–229.*

Laughlin, J.C., Heazlewood, G.N.; Beattie, B.M. Cultivation of *Artemisia annua* L. *In: Quitério, G. C. M., 2006. Produção de artemisinina por Artemisia annua L. Sob influência de micorriza arbuscular.* Dissertação de mestrado. Instituto Agronômico, Campinas, São Paulo. 38p.

Lehmann, J.; Kern, D.C.; Glaser, B.; Woods, W.I. (Eds.) 2003a. Amazon Dark Earths: origin, properties and management. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers. U.S.A. 505pp.

Lehmann, J.; Kern, D.C.; Glaser, B.; Woods, W.I. (Eds.) 2003b. Amazon Dark Earths: origin, properties and management. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers. U.S.A. 505pp.

Liu, C.Z.; Guo, C.; Wang, Y.; Ouyang, F. Factors influencing artemisinin production from shoot cultures of *Artemisia annua* L. *In: Ferreira, J.F.S.; Laughlin, J.C.; Delabays, N.; Magalhães, P.M. 2005. Cultivation and genetics of Artemisia annua L. for increased production of the antimalarial artemisinina. Plant Genetic Resources, 3(2):206–229.*

Magalhães, P.M.; Raharinaivo, J.; Delabays, N. 1996a. Influences de la dose et du type d'azote sur la production en artemisinine de l'*Artemisia annua* L. *Revue Suisse de Viticulture, Arboriculture et Horticulture*, 28:349–353.

Magalhães, P.M. 1996b. *Seleção, melhoramento e nutrição da Artemisia annua L., para cultivo em região intertropical*. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, São Paulo. 116p.

Malavolta, E.; Vitti, G.C.; Oliveira, S.A. 1997. *Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações*. Potafos, Piracicaba, São Paulo. 319pp.

Meshnick, S.R. Artemisinin: mechanisms of action, resistance and toxicity. In: Taranto, A.G.; Carneiro, J.W.M.; Araujo, M.T.; Silva, B.M., 2006. Estudos sobre o mecanismo de ação da artemisinina e dos endoperóxidos, a mais nova classe de agentes antimaláricos. *Sitientibus*, Feira de Santana, n.34, p.47-58, 2006.

Ministério da Saúde. 2001. Manual de Terapêutica da Malária (www.ministeriodasaude.com.br/). Acesso em: 12/12/2009.

Ministério da Saúde. 2008. Situação epidemiológica da malária no Brasil, ano de 2008. (www.ministeriodasaude.com.br/). Acesso em: 14/11/2009.

N.A.S. 2004. *Saing Lies, Buying Time: Economics of Malaria Drugsinan Ageof Resistance*. 15pp.

Padoch, C.; Ayres, M.; Henderson, P.V. 2000. *Várzea: Diversity, Development, and Conservation in Amazonia's Whitewater Floodplains*. The New York Botanical Garden Press, New York. 407pp.

Quitério, G.C.M., 2006. *Produção de artemisinina por Artemisia annua L. Sob influência de micorriza arbuscular*. Dissertação de mestrado. Instituto Agronômico, Campinas, São Paulo. 38p.

Resende, M.; Curi, N.; de Rezende, S.B.; Corrêa, G.F. 1999. *Pedologia: base para distinção de ambientes*. Neput, Viçosa, Minas Gerais. 338p.

RENISUS. Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde. (<http://portalweb05.saude.gov.br/prtal/arquivos/pdf/RENISUS.pdf>). Acesso em: Dez / 2009.

Ribeiro, M.N.G. 1976. Aspectos climatológicos de Manaus. *Acta Amazonica*, 6(2):229-233.

Sarruge, J.R.; Haag, H.P. 1974. *Análises químicas em plantas*. Escola superior de agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo. 56pp.

Srivastava, N.K.; Sharma S. Influence of micronutrient imbalance on growth and artemisinin content in *Artemisia annua*. In: Ferreira, J.F.S.; Laughlin, J.C.; Delabays, N.; Magalhães, P.M. 2005. Cultivation and genetics of *Artemisia annua* L. for increased production of the antimalarial artemisinina. *Plant Genetic Resources*, 3(2):206 – 229.

Vieira, L.S. *Manual da ciência do solo*. São Paulo: ed. Agronomia, Ceres. 1975.

WHO (World Health Organization). 2008. *Global malaria control and elimination: report of a technical review*. Global Malaria Programme. Geneva. Disponível em: <<http://malaria.who.int/wmr2008/malaria2008.pdf>> Acesso em: JAN / 2010.

Woerdenbag, H. J.; Pras, N.; Chan, N. G.; Bang, B. T.; Bos, R; Uden, W.; Van, Y. P.; Boi, N. V.; Batterman, S.; Lugt, C. B. Artemisinin, related sesquiterpenes, and essential oil in *Artemisia annua* during a vegetation period in Vietnam. In: Ferreira, J.F.S.; Laughlin, J.C.; Delabays, N.; Magalhães, P.M. 2005. Cultivation and genetics of *Artemisia annua* L. for increased production of the antimalarial artemisinina. *Plant Genetic Resources*, 3(2):206–229.

Woods, W.I.; McCann, J.M., 1999. *The anthropogenic origin and persistence of amazonian dark earths*. In: Conference of latin americanist geographers, Yearbook, 25:7-14.

ARTIGO I - Efeito da presença e ausência de solução nutritiva em diferentes classes de solos da Amazônia Central cultivados com *Artemisia annua* L.

**CARNEIRO, J.L.U.^{1*}; FALCÃO, N.P.S.¹; POHLIT, A.M.¹; MAGALHÃES, P.M.²;
CHAVES, F.C.M.⁴; HIDALGO, A.F.⁵**

¹Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Av. André Araújo, 2936, Aleixo, CEP: 69060-001, Manaus - Brasil *joneliborio@gmail.com; ²Universidade Estadual de Campinas, Rua Alexandre Cazelatto, 999, Vila Betel, CEP: 13081-970, Campinas - Brasil; ³Embrapa Amazônia Ocidental, Rodovia AM -10, Km 29 - CEP 69010-970, Manaus - Brasil; ⁴Universidade Federal do Amazonas, Av. General Rodrigo Octávio Jordão Ramos, 3000, Campus Universitário, Coroado I – CEP: 69077-000, Manaus - Brasil.

RESUMO: Este estudo teve por objetivo avaliar o efeito de diferentes tipos de solos com adição de solução nutritiva na produção de biomassa e teor de artemisinina em *Artemisia annua* L. O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação da Coordenação de Pesquisas em Ciências Agrônômicas (CPCA) do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5x2, com dez repetições, sendo cinco classes de solo (Argissolo Vermelho-Amarelo Distrófico (PVAd); Espodossolo Ferrihumilúvicos Órtico (ESKo); Gleissolo Háptico Ta Eutrófico (GXve); Latossolo Amarelo Eutrófico (LAe); Latossolo Amarelo Distrófico típico (LAd), tratados com aplicação de solução nutritiva completa. As plantas cultivadas em solo de LAe, com solução nutritiva, obtiveram maior produtividade de biomassa, diâmetro do caule, massa seca da raiz, número de folhas, rendimento de artemisinina em relação aos demais tratamentos. O teor de artemisinina diferiu apenas em plantas cultivadas em PVAd, ao qual não foi observado nenhum padrão de caráter nutricional que pressupõe uma hipótese consistente. A aplicação de solução nutritiva diminuiu o teor de Al tóxico dos solos, e conseqüentemente a percentagem de saturação do mesmo, aumentando a soma de bases, e a capacidade de troca catiônica (CTC). As plantas cultivadas em PVAd, ESKo e LAd (sem solução) tiveram 100% de mortalidade devido ao pH ácido, o baixo conteúdo nutricional, e alta acidez potencial dos solos. O teor nutricional foliar indicou que as plantas cultivadas em LAe, com

solução, apresentaram deficiência de K, confirmada pela diagnose visual. A solução nutritiva utilizada causou indisponibilidade de nutrientes do solo à planta devido a sua composição.

Palavras-chave: *Artemisia annua* L., artemisinina, nutrição de plantas, fertilidade do solo.

ABSTRACT: Effect of presence and absence of nutrient solution in different classes of Central Amazonian soils cultivated with *Artemisia annua* L. This study aimed to evaluate the effect of different soil types with the addition of nutrient solution in the production of biomass and artemisinin content in *Artemisia annua* L. The experiment was conducted in a greenhouse of the Research Coordination in Agricultural Sciences (SCAC) of the National Institute for Amazonian Research (INPA). The experimental design was completely randomized in a 5x2 factorial arrangement with ten replications, with five classes of soil (Acrisol Dystrophic (PVAd); Spodosol Ferrihumilúvicos Orthic (Esko); Gleysol Haplic Eutrophic Ta (GXve); Typic Eutrophic (LAE); Yellow Latosol (LAd), treated with application of complete nutrient solution. The plants grown in soil in Lae, with nutrient solution, had higher productivity of biomass, stem diameter, root dry mass, leaf number, artemisinin yield compared to other treatments. artemisinin content differed only in plants grown in PVAd, which was not observed any pattern of character which requires a nutritional hypothesis consistent. The application of nutrient solution decreased the Al content of toxic soils, and consequently the percentage of saturation of that, increasing the sum of bases, and cation exchange capacity (CEC). Plants grown in PVAd, Esko and LAd (unresolved) had 100% mortality due to acidic pH, the low nutritional content, and high potential acidity of the soil. The foliar nutrient content indicated that plants grown in Lae, with solution, showed K deficiency, confirmed by visual diagnosis. The nutrient solution used caused the unavailability of soil nutrients to the plant due to its composition.

Key words: *Artemisia annua* L., artemisinin, plant nutrition, soil fertility

INTRODUÇÃO

A malária é uma típica doença parasitária das regiões tropicais e subtropicais que aflige o ser humano ao longo da existência. A estimativa mundial de ocorrência da doença é da ordem de 247 milhões de casos clínicos no ano de 2006 e a mortalidade é superior a 881 mil (WHO, 2008).

A *Artemisia annua* é uma planta muito utilizada no tratamento da malária, pelo princípio ativo artemisinina, sendo anual, herbácea, aromática, pertencente à família *Asteraceae*, sua altura varia de 0,80 a 2 m (Ferreira et al., apud Marchese, 1999). Devido a um elevado índice de casos de malária nos trópicos, como ocorre na Amazônia, está se estudando a viabilidade do cultivo da planta em comunidades que possuam ecossistemas diferenciados de solos, no intuito de se conhecer o melhor bioma para o desenvolvimento da espécie.

Segundo Magalhães (1996), vários autores apontam soluções diversas para o controle da doença, mas o fato é que, até hoje, o problema persiste e não se estabiliza, em função de alguns fatores, como resistência dos parasitos a drogas tradicionais; tolerância dos vetores aos inseticidas; aumento das áreas desmatadas e desflorestadas e populações não adaptadas, que imigram para tais áreas de risco (por motivos econômicos e outros).

Os ensaios com *Artemisia annua* na região Amazônica são necessários e oportunos e para o melhoramento genético nos ecossistemas amazônicos. Portanto, ao se obter a matéria prima para antimaláricos na própria região amazônica, tem-se um grande alcance estratégico na luta contra a malária inclusive para melhorar a distribuição dos medicamentos que poderão contemplar formas mais simples, desde

que eficazes e seguras, principalmente para comunidades ribeirinhas em áreas remotas da Amazônia, onde a malária é endêmica e crescente.

Existem poucas publicações sobre crescimento vegetativo de *Artemisia annua* e respostas específicas para os teores de macro e micronutrientes, e dos efeitos sobre a concentração de artemisinina e compostos afins.

Segundo Lehmann et al. (2003), a utilização de solução nutritiva, que constitui uma importante técnica para a realização de estudos envolvendo aspectos associados à nutrição de plantas, tais como: eficiência de absorção e utilização de nutrientes; caracterização de sintomatologias de carências e excessos de nutrientes; estudos sobre aspectos histológicos, morfológicos e anatômicos de raízes submetidas a diferentes teores e relações entre nutrientes; translocação e compartimentalização de nutrientes nas plantas; interações – antagonismo e sinergismo – entre nutrientes, etc.

O objetivo deste trabalho foi avaliar efeito de diferentes tipos de solos com e sem adição de solução nutritiva na produtividade de biomassa, teor de artemisinina, parâmetros biométricos da planta (número de ramos, diâmetro do caule, altura da planta e biomassa da raiz), a nutrição da planta e a fertilidade dos diferentes tipos de solos em função dos tratamentos.

MATERIAL E MÉTODO

O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação da Coordenação de Pesquisas em Ciências Agrônomicas (CPCA) do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), entre os meses de setembro e dezembro. Segundo Ribeiro (1976), o clima da região é do tipo “Afi” de temperatura média anual de 26°C e máxima de 32°C, com umidade relativa do ar em média entre 71% a 91%.

O estudo teve delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5x2, com dez repetições, totalizando em 100 unidades experimentais, utilizando vasos com capacidade de 2,5Kg. Foi utilizado cinco classes de solos encontrados na Amazônia Central, tratados com aplicação de solução nutritiva completa, segundo Sarruge & Haag, 1974 (Tabela 1).

TABELA 1. Composição química da solução nutritiva (ml/L), Sarruge (1974).

Soluções estoque	
Reagentes	g/100 mL
KH_2PO_4	13,60
KNO_3	10,11
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	23,61
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	24,64
KCl	7,45
CaCl_2	11,09
$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	11,5
NH_4NO_3	8,0
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	13,2
$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	14,8
H_3BO_3	2,86
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1,81
ZnCl_2	0,1
CuCl_2	0,04
$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0,0196
*Fe-EDTA	
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	2,41
Na-EDTA	2,51

*A solução de Fe-EDTA é preparada com 26,1g de EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético) dissódico em 286mL de NaOH 1N (hidróxido de sódio a 1N), misturando com 24,9g de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (sulfato ferroso heptahidratado, arejando por uma noite e completando para um litro de água bi-distilada no dia seguinte).

Foram coletadas, amostras de solo, de 0 a 20 cm de profundidade para análises de fertilidade e utilização no experimento, sendo classificados segundo Embrapa (2006), tais como: 1) Argissolo Vermelho-Amarelo Distrófico (PVAd); 2) Espodossolo Ferrihumilúvicos Órtico (ESKo); 3) Gleissolo Háplico Ta Eutrófico (GXve); 4) Latossolo Amarelo Eutrófico (LAe) e 5) Latossolo Amarelo Distrófico típico (LAd).

As plantas de *Artemísia annua* L. foram provenientes de sementes de plantas cultivadas no município de Silves (AM), fornecidas pela Empresa Brasileira de

Pesquisa Agropecuária da Amazônia Ocidental com 30 dias de crescimento em sementeiras (64 células) e preenchidas com o substrato comercial PlantMax[®].

As amostras de solo e planta foram conduzidas ao Laboratório Temático de Solos e Planta I e II (CPCA/INPA) para análise de fertilidade do solo e nutrição de planta (micro e macronutrientes), segundo Malavolta et al., 1997. No Laboratório de Princípios Ativos da Amazônia (LAPAAM/INPA) foi realizada a determinação do teor de artemisinina, utilizando a técnica de Cromatografia de Camada Delgada (CCD) acoplada a fotodensitômetro (Bhandari, 2005). Foram realizadas medidas biométricas da planta, como número de ramos, altura e diâmetro do caule, e diagnose visual no intuito evidenciar algum tipo de alteração na área foliar provocado pela deficiência ou excesso de nutrientes, segundo Malavolta et al. 1997.

As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa Assistat[®] (7.5, beta), sendo realizada análise de variância para comparar a variação devida os tratamentos e a variação devida ao acaso e quando detectado diferença significativa entre os tratamentos, foi aplicado um teste de média (Tukey, 5% de probabilidade).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Fertilidade dos solos

Verifica-se na Tabela 2, que o solo LAe apresentou o pH alcalino (moderadamente ácido), maior teor de N, P, Ca, Mg, C, Zn em relação aos demais tratamentos. No ESKo nota-se o solo extremamente ácido, maior teor de Al, e alta acidez potencial. O GXve apresentou maior teor de K, Fe e Mn, segundo Ribeiro et al. (1999).

TABELA 2. Análise da fertilidade de diferentes classes de solos encontrados na Amazônia Central.

Solo	pH		Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	ac.pot.	K	P	Fe	Zn	Mn	C	N
	H ₂ O	KCl	.-----cmol _c kg ⁻¹ -----.				.-----mg kg ⁻¹ -----.			.-----g kg ⁻¹ -----.			
PVAd	4,83c	5,08ab	1,40b	0,05b	0,95b	4,24b	0,09b	0,04c	151,16b	0,23c	1,06c	6,97cd	0,66d
ESKo	4,02d	3,83b	0,02b	0,04b	1,49a	4,83a	0,05b	0,14c	147,33b	0,26c	0,63c	10b	0,89c
LAe	6,32a	5,90a	7,60a	1,91a	0,10c	3,81c	0,38b	158,23a	21c	9,90a	71,66b	15,31a	2,85a
GXve	5,39b	3,95b	5,06a	1,74a	0,84b	4,19b	6,50a	82,63b	535a	4,76b	88,33a	7,50bc	0,90c
LAd	4,96c	4,41b	0,07b	0,04b	0,79b	3,62d	0,41b	0,56c	49,33c	0,23c	0,50c	4,08d	1,76b
CV%	2,44	13,8	47,85	46,38	12,51	1,67	15,5	30,18	15,65	14,7	4,31	15,2	5,98

Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Os solos de GXve e LAe apresentaram um maior capacidade de troca de cátions (CTC) a pH 7 (T) e CTC efetiva (t) muito boa, soma de bases trocáveis (SB) muito bom e percentagem de saturação de bases a pH 7 (V%) muito bom e percentagem de saturação por Al (m%) muito baixo. Os solos ESKo e PVAd e LAd apresentaram a menor SB muito baixo, t médio, T médio, ESKo e LAd com V% muito baixo e ESKo baixo, também PVAd com m% alto (prejudicial), ESKo e LAd muito alto (muito prejudicial), Em todos os solos a acidez potencial foi considerada média, segundo Tomé Jr. (1997).

Observa-se na Tabela 3, nos tratamentos que receberam solução nutritiva, que os maiores teores de N foram encontrados nos solos LAe e LAd, contudo, não houve variação significativa em relação aos tratamentos sem solução.

Os solos PVAd e LAe (com solução) exibiram elevado teor de P, porém somente houve variação em LAd tiveram aumento significativo em comparação aos tratamentos sem solução nutritiva, enquanto que o único tratamento a obter diminuição no teor de P em relação ao tratamento controle foi o GXve. Segundo Malavolta (1986), o aumento no teor de Ca tende a reação de imobilização do P

disponível pela formação de fosfato de potássio, o que explica a diminuição em GXve.

TABELA 3. Análise química de diferentes classes de solos encontrados na Amazônia Central, com e sem a presença de solução nutritiva após um período de três meses de crescimento da *Artemisia annua* L. em casa de vegetação.

Tratamento s	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	Ac. Pot.	K	P	Fe	Zn	Mn	C	N
	cmol _c Kg ⁻¹						mg Kg ⁻¹			g Kg ⁻¹	
Tratamentos com solução nutritiva											
PVAd	0,44aC	0,16aCD	0,51aB	2,06bC	0,13bC	200aA	170,5bB	0,35	1,25aD	3,6aB	0,80aC
ESKo	0,32aC	0,09aD	0,38bC	2,6aB	0,26aA	100aC	15aD	0,45	1,6aD	9,57aC	0,64aD
LAe	5,66bB	2,18aB	0,15aD	2,47aB	0,10bC	220aA	37,5bD	11,85	B	7,4aA	1,84aA
GXve	11,36aA	2,80bA	0,14bD	0,82aD	0,22bA	140bB	161bB	3,8	45,5aA	7,8bA	0,99aB
LAd	1,16aC	0,28aC	0,95bA	5,36bA	0,23bA	130aB	249aA	1,5	4,65aC	3,0aB	1,85aA
Tratamento sem solução nutritiva											
PVAd	0,06bC	0,08aCD	0,57aB	3,5aB	0,23aC	90bC	129aC	0,35	0,25bB	2,0aC	0,52bD
ESKo	0,05bC	0,01aD	0,45aC	3,3aB	0,20aC	100aB	17,5aD	0	0,05bC	8,01aD	0,70aC
LAe	3,85bA	2,61aB	0,11aE	2,68aC	0,28aC	140bA	52,5aA	10,5	A	6,2aB	1,89aA
GXve	3,2bA	3,74aA	0,24aD	0,41bD	0,55aB	170aA	257,5aB	4,4	44,3aA	12,0aA	0,98aB
LAd	0,39bB	0,27aC	1,25aA	8,04aA	0,79aA	60bD	176,5bB	3,65	3,05bB	3,1aC	1,90aA
CV%	35,81	7,96	8,44a	4,05	11,34	2,96	17,29	14,72	19,72	26,29	3,68

Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade (Letra maiúscula = entre os mesmos tratamentos / minúsculas = entre os solos de diferentes tratamentos). Ac.Pot. = acidez potencial, CV% = coeficiente de variação.

O solo de ESKo obteve o maior teor de K entre os tratamentos. No entanto, GXve, LAd e PVAd tiveram diminuição nos teores de K, Ca, Mg que é explicado por Raij (1982) que pode ter havido uma reação com a composição da solução nutritiva que continha muitos elementos como, MgSO₄.7H₂O; (NH₄)₂SO₄; FeSO₄.7H₂O; NH₄NO₃; KNO₃; KH₂PO₄; Mg(NO₃)₂; que são compostos que reagem no solo imobilizando outros elementos químicos tornando-os indisponíveis. Em solo LAe a acidez potencial apresentou nível médio e alto em PVAd, ESKo e LAd (Malavolta, 1986).

Verifica-se na Tabela 3, que todos os solos apresentaram diminuição da percentagem de saturação por Al (m%) podendo-se inferir a influência da presença de solução nutritiva no aumento de soma de bases (SB). A capacidade de troca de

cátions efetiva (t) aumentou nos solos em relação aos tratamentos controle, permitindo pressupor que o pH provocou alteração no balanço de cargas da soma de bases.

Houve aumento da soma de bases em relação aos tratamentos controle, destacando-se o solo de GXve e diferindo dos solos de PVAd, ESKo, LAe e LAd . Segundo Raij (1981), os solos LAe (76%) e GXve (94%) apresentam alta percentagem de saturação de bases a pH 7 (V%), demonstrando que grande parte do seu complexo coloidal está ocupado por cátions em comparação com aqueles ocupados por H + Al (acidez potencial). Os solos Lad (36,35%), ESKo (36,22%) e PVAd (41,20%) apresentam alta percentagem de saturação por Al (m%).

De acordo com Ribeiro et al. (1999), o solo PVAd, ESKo e LAd apresentaram uma SB, t, T e V% considerada baixa, uma m% médio e apenas LAd com T médio. Os solos LAd e GXve com SB, t e V% considerado muito bom, m% muito baixa, T bom, apenas T do GXve classificado como muito bom.

Houve um aumento na relação C/N nos solos, com exceção do solo GXve (12,24:1 para 7,87:1), este fato pode estar associado a diminuição do teor matéria orgânica, devido a decomposição, sendo o maior relação C/N em ESKo.

Constata-se que o teor de Fe apresentou aumento nos solos LAd e PVAd apresentando toxidez, enquanto que houve diminuição em LAe e GXVe. O teor de Zn apresentou uma diminuição no solo LAd enquanto que os demais tratamentos não diferiram estatisticamente.

pH do solo

Observa-se na Tabela 4 que, em geral os solos que receberam solução nutritiva apresentaram variações no pH, uma diminuição em ESKo e GXve e aumento em PVAd e LAd. Os solos que apresentaram pH extremamente ácido

podem ter proporcionado deficiência de P e aumento no teor de Fe e Al que estão associados à fixação de P que explica sua baixa disponibilidade, podendo limitar diretamente na decomposição da matéria orgânica presente nos solos dos estudos de Ferreira (2007).

O tratamento em PVAd (fortemente ácido) e LAd (extremamente ácido) apresentaram um pH mais altos e superior ao controle, criando um ambiente hostil para o desenvolvimento da parte aérea e radicular, sendo suficiente para solubilizar Al e Mn no solo.

TABELA 4. pH de diferentes classes de solos encontrados na Amazônia Central, com e sem a presença de solução nutritiva após um período de três meses de crescimento da *Artemisia annua* L. em casa de vegetação.

Tratamento	pH	
	COM	SEM
PVAd	4.62 aC	4.16 bC
PD	3.73 bD	4.67 aB
LAe	5.67 aA	5.70 aA
GXve	5.01 bB	5.63 aA
LAd	3.68 aD	3.47 bD
CV%	2.57	

Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade (Letra maiúscula = entre os mesmos tratamentos / minúsculas = entre os solos de diferentes tratamentos).

Nos solos ESKo (extremamente ácido) e GXve (fortemente ácido) apresentaram uma diminuição de 20% e 11% respectivamente, e no solo LAe (moderadamente ácido) não apresentou diferença significativa entre os tratamentos. Com o aumento do pH houve uma diminuição do teor de Al dos tratamentos, exceto no solo LAe que não apresentou variação, apresentando caráter de toxidez no mesmo. Portanto, com a elevação do pH houve sensível liberação de cargas dependentes do mesmo, com profundas implicações em uma maior retenção de cátions.

Segundo Laughlin (apud Ferreira 2005), *A. annua* pode ser cultivada em uma ampla gama de pH (5,0 a 8,0), dependendo da origem vegetal, mas existem poucos estudos sobre o efeito do pH do solo no crescimento vegetativo e concentração de artemisinina em *A. annua*. Neste contexto, os solos da Amazônia podem também ter implicações para as práticas de correção do solo pela aplicação de calcário, como os solos ESKo, PVAd e LAd.

Nutrição da Planta

Na Tabela 5, nota-se a falta de informações referentes a solos que não receberam solução nutritiva que é explicado por 100% de mortalidade das plantas cultivadas nos solos PVAd, ESKo e LAd (sem solução). Isto pode estar relacionado a fertilidade do solo, que aponta uma elevada acidez potencial, toxidez por Al e baixas concentrações de P, Ca, Mg e Mn, que contribuiu para o não desenvolvimento radicular e um pH extremamente ácido.

TABELA 5. Análise foliar de *Artemisia annua* L. cultivada em diferentes classes de solos encontrados na Amazônia Central com a aplicação de solução nutritiva.

Tratamento	N	P	K	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Fe	Zn	Mn
	g Kg ⁻¹					mg Kg ⁻¹		
Tratamento com solução								
PVAd	36,16A	2,11C	8,2D	0,98C	0,74C	219A	44A	393A
ESKo	31,44B	2,31aC	34,8B	0,98C	0,64C	138B	26C	271B
LAe	22,98aC	3,93aA	9,6bD	1,6aA	1,58aA	141bB	26bC	43bD
GXve	21,21aC	3,07B	27,9bC	1,42bB	1,04aB	216bA	37bB	126bC
LAd	29,89B	2,52C	42,9A	1,08C	0,66C	122B	46A	350A
Tratamento sem solução								
LAe	19,13bA	3,15bA	24,5aB	1,24bB	0,94bA	363aA	30aB	128aB
GXve	11,41bB	2,44bB	31aA	1,64aA	0,98bA	342aA	44aA	394aA
CV%	3,06	4,26	0,7	1,29	0,88	0,4	1,8	0,27

Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade (Letra maiúscula = entre os mesmos tratamentos / minúsculas = entre os solos de diferentes tratamentos). Devido a mortalidade nos tratamentos nos solos de PVAd, ESKo, LAd foram insuficientes para análises.

As plantas cultivadas em PVAd (com solução) apresentaram o maior teor de N foliar, e as cultivadas em LAe e GXve apresentaram um aumento no teor do

mesmo elemento em relação ao controle, contudo os menores teores dentre os tratamentos. Entre os tratamentos a análise foliar indicou que LAe obteve o maior teor de P, e um aumento nos teores de Ca de 29%, Mg, em relação ao tratamento sem solução nutritiva, assim como as plantas cultivadas em GXve. Apenas o solo GXve apresentou aumento no teor de P de 25%.

A análise foliar indicou que o LAd apresentou maior teor de K, sendo que os tratamentos LAe de 60% e GXve de 10% diminuíram no teor do mesmo elemento. No GXve obteve maior teor de Mg, menores teores de Ca. Houve aumento significativo no teor de Mg total nos solos LAe, GXve com aplicação de solução nutritiva.

Nos estudos de Davies et al. (2009), foi observado que o aumento da aplicação de adubação diminuiu a concentração de Ca e Mn do solo, fato semelhante constatado no presente experimento em solo de GXve que recebeu a solução nutritiva, diminuindo os teores de Ca, Mn diminuíram 68% e K 10%.

A aplicação de solução nutritiva GXve não diferiu em relação aos que não receberam solução no teor de N, no entanto apresentou uma diferença significativa no teor foliar. Houve uma diminuição no teor de P no solo em relação ao controle, no entanto apresentou um aumento no teor foliar. O teor foliar de K diminuiu com a aplicação de solução nutritiva, apresentando efeito semelhante na concentração do solo.

Um exame dos outros minerais fundamentais mostra que aplicação de solução está ligada ao aumento da concentração tecidual da folha de S e declínios em K, Ca e, em menor medida, Mn. Isto pode ser devido ao "efeito de diluição", pois exemplo como o crescimento de limitação elemento, ou de nutrientes, é aplicado, a taxa relativa de aumento de acúmulo de matéria seca mais do que a taxa de

absorção de um elemento particular, causando a sua concentração a diminuir (Jarrell & Beverly, apud Davies et al., 2009).

A concentração do micronutriente Fe no solo diminuiu, apresentando efeito semelhante no teor foliar. Enquanto que Zn e Mg não apresentaram diferença estatística no solo, houve diminuição no teor foliar comportando-se de forma diferenciada. As plantas cultivadas em PVAd e GXve apresentaram o maior teor de Fe. Os teores de Zn e Mn foram maiores em plantas cultivadas PVAd e LAd respectivamente. Houve diminuição significativa no teor de Fe, Zn, Mn nos solos LAe, GXve com aplicação de solução nutritiva.

Diagnose Visual

Na Figura 1, com três meses de cultivo, as plantas cultivadas em LAe (sem solução) apresentaram folhas (1º Terço base da planta) com clorose (amareladas), inicialmente as mais antigas, e depois manchas necróticas das pontas e margens indicando uma deficiência de K. A análise foliar constata uma diminuição de K com aplicação da solução nutritiva, valor que assemelha o encontrado por Ferreira (2007), que foi de 7g kg^{-1} , ao qual as plantas apresentaram sintomas de deficiência. Nas análises de solo LAe o único elemento que teve aumento em teor foi o P de 57%, é possível que se tenha a imobilização do K com a formação de fosfato de potássio.

Segundo Ferreira (2007), não existe nenhum nível pré-estabelecido de deficiência de macronutrientes em *A. annua* L., as plantas foram consideradas sob estresse de nutrientes após foram expressos sintomas nas folhas.



FIGURA 1. Sintomas de carência nutricional encontrada em folhas (retiradas do 1º terço da base da planta) de *Artemisia annua* L. cultivada em LAe com a presença de solução nutritiva com três meses de crescimento em casa de vegetação.

Em plantas cultivadas em LAe na presença de solução nutritiva apresentaram clorose uniforme na folha e necrose das pontas das margens, inicialmente das mais antigas na base do caule. Aumentar a oferta de K aumentou a concentração foliar nos estudos de Davies et al. (2009), oposto do presente estudo, houve diminuição na concentração de K foliar nos solos de GXve e LAe.

As plantas com dois meses de cultivo em solo LAd, apresentaram coloração amarelada nas folhas, sintomas visuais indicam uma deficiência de N (clorose uniforme nas folhas mais antigas), contudo a análise do solo indica uma toxidez por Al e Fe em LAd. Apresentando valores altos de Al e acidez potencial.

Parâmetros biométricos e produção

Na Tabela 6, observa-se que os solos que receberam solução nutritiva apresentaram uma produtividade superior em relação aos sem solução, destacando-se as plantas cultivadas em LAe que obtiveram 44,17% de ganho de biomassa, e apresentando os maiores teores foliares de P, Ca e Mg. Os demais tratamentos tiveram baixa produtividade como em PVAd, ESKo, LAd e as plantas cultivadas em GXve que não apresentaram diferença estatística em relação ao controle (Tabela 6).

TABELA 6. Parâmetros biométricos, biomassa e teor de artemisinina das plantas de *Artemisia annua* L. cultivadas em diferentes classes de solos encontrados na Amazônia Central, com e sem a presença de solução nutritiva após um período de três meses de crescimento da em casa de vegetação.

Tratamento	Diâmetro cm	Altura	Ramos	Artemisinina	Biomassa	Rendimento
				%	g	% g
Tratamentos com solução						
PVAd	4,17aC	53,5aB	22,25aC	0,98aA	9,85aCD	9,15B

ESKo	2,05aD	17aC	15,5aD	0,50aB	6,74aD	4,55C
LAe	8,55aA	85,75aA	36,5aA	0,90aA	24,38aA	20,01aA
GXve	8,98aA	80,75aA	29aB	0,92aA	13,25aB	11,76aB
LAd	5,42aB	52aB	24,5aBC	0,96aA	10,65aBC	9,93B
Tratamento sem solução						
LAe	7,58bA	84,25aA	29,5bA	0,94aA	16,91bA	14,85bA
GXve	6,65bA	65,75bA	26aA	0,92aA	12,72aB	10,30aB
CV%	12,91	20,68	5,82	17,93	3,33	

Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade (Letra maiúscula = entre os mesmos tratamentos / minúsculas = entre os solos de diferentes tratamentos).

No solo LAe a diminuiu concentração de N, no entanto houve aumento significativo no teor foliar. O P e K apresentam aumento na concentração do solo refletindo no aumento do teor foliar. O teor dos micronutrientes Fe e Zn tiveram diminuição na concentração do solo acompanhado da diminuição no teor foliar, e o Mn não apresentou diferença estatística. O envolvimento da aplicação de solução nutritiva, em influenciar o crescimento e o desenvolvimento e produção de biomassa, é universalmente reconhecida (Fernandes & Rossiello, 1995), porém nestes solos estudados não apresentaram mesmo efeito. O solo ESKo apresentou maior teor foliar de N, no entanto, o solo LAe foi que apresentou maior produtividade.

Teor de Artemisinina

Na Tabela 6, o teor de artemisinina encontrado nas plantas cultivadas em LAe e GXve, não apresentaram diferença significativa em relação aos tratamentos controle, apenas as plantas em ESKo obtiveram menor teor de artemisinina em relação aos demais tratamentos, no entanto não foi possível identificar qualquer padrão nas análises de nutrição da planta. Nos estudos de Srivastava & Sharma (apud Ferreira 2005), constataram que a diminuição de 25 para 30% na concentração de artemisinina foi identificada para as plantas deficientes em Fe, Mn, Zn e Cu.

O teor de principio ativo das folhas de Artemísia determinada no presente estudo esta abaixo dos valores relatados em estudos de Mert (apud Ozguven, 2008)

que varia de 1,38% a 1,78%. Foglio (apud Quitério, 2006) obtiveram 1% de concentração de artemisinina, aproximando-se do valor encontrado no presente estudo.

A concentração de artemisinina não variou entre os solos em relação ao teor de N, porém, nos estudos de Davies et al. (2009), indicam que o aumento da oferta de N conferiu aumento do princípio ativo, nos estudos de Wallaart et al. (apud Ozguven et al., 2008), Fritz et al. (apud Davies et al., 2009) e Ferreira (2007) relatam que o aumento no teor de Nitrogênio foliar diminuiu na concentração de artemisinina em cerca de 0,5%.

Ferreira (2007) publicou o primeiro relatório, onde a deficiência de K aumenta significativamente a concentração de artemisinina, no presente estudo não ficou constatado o mesmo padrão de comportamento.

Foram encontrados maior rendimento de artemisinina por biomassa seca nas plantas cultivadas e LAe, superando o solo GXve com diferença de 41,22%.

Peso seco da raiz

As raízes tiveram peso superior aos tratamentos controle, destacando-se as plantas cultivadas em LAe na presença de solução nutritiva que aumentou 77,2%. As raízes GXve diminuíram cerca de 28,15% de peso seco. As raízes das plantas em ESKo apresentaram menor peso (Tabela 6). Os níveis altos foliares de micronutrientes encontrados nos estudos de Jones (apud Ferreira, 2007) na maioria das culturas são fitotóxicos, podendo explicar a atrofia do crescimento radicular observado para plantas no presente estudo, ocasionado pelo alto nível de Mn, combinação com alto teor de Al e em solos extremamente ácido.

Altura

As plantas cultivadas na presença de solução nutritiva apresentaram crescimento superior aos demais tratamentos, exceto em solo LAe que não houve variação (Tabela 6). As plantas cultivadas em LAe e GXve obtiveram maior desenvolvimento em altura e no ESKo o menor valor. A aplicação de solução proporcionou ganho de 22,81% na altura nas plantas cultivadas em GXve.

Diâmetro do caule

As plantas cultivadas em LAe e GXve (Tabela 6) apresentaram maior diâmetro do caule em comparação aos tratamentos controle obtendo respectivamente 12,7% e 35,03%, registrando-se em *ESKo* o menor valor entre os tratamentos. No estudo realizado por Davies et al. (2009), relata que o aumento no peso seco da planta, em parte, foi afetado diretamente pela adubação potássica e aumento do diâmetro do caule, ocasionando uma produção de biomassa adicional, o que se assemelha ao presente estudo, aos quais os maiores diâmetros obtiveram melhor rendimento de biomassa e maior número de ramos.

Número de ramos

Os tratamentos que receberam solução nutritiva, na Tabela 6, tiveram o número de ramos superior aos demais tratamentos controle. As plantas cultivadas em PVAd, ESKo, GXve e LAd tiveram respectivamente, destacando-se as cultivadas

em LAe que apresentou diferença estatística em relação ao controle, aumentando cerca de 23,72%.

Esta contagem do número de ramos é uma característica fenotípica interessante para o melhoramento de plantas, pois confere as plantas serem identificadas como de maior produtividade por área específica das folhas e conseqüentemente uma maior concentração de artemisinina por planta. A artemisinina é produzido em glandular tricomas, que têm cloroplastos funcionais. Assim, citocininas e clorofila poderia ter um papel importante na biossíntese de artemisinina, embora indireta, através do desenvolvimento de folhas (Watson, apud Ferreira, 2007).

CONCLUSÃO

As plantas cultivadas em solo de LAe, com solução nutritiva, obtiveram maior produtividade de biomassa, diâmetro do caule, massa seca da raiz, número de folhas, rendimento de artemisinina em relação aos demais tratamentos.

O teor de artemisinina diferiu apenas em plantas cultivadas em PVAd, ao qual não foi observado nenhum padrão de caráter nutricional que pressupõe uma hipótese consistente.

A aplicação de solução nutritiva diminuiu o teor de Al tóxico dos solos, e conseqüentemente a percentagem de saturação do mesmo, aumentando a soma de bases, e a capacidade de troca catiônica (CTC).

As plantas cultivadas em PVAd, ESKo e LAd (sem solução) tiveram 100% de mortalidade devido ao pH ácido, o baixo conteúdo nutricional, e alta acidez potencial dos solos.

O teor nutricional foliar indicou que as plantas cultivadas em LAe, com solução, apresentaram deficiência de K, confirmada pela diagnose visual.

A solução nutritiva utilizada causou indisponibilidade de nutrientes do solo à planta devido a sua composição.

5. REFERÊNCIA

DAVIES, M.J.; ATKINSON, C.J. BURNS, C.; WOOLLEY, J.G.; HIPPS, N.A.; ARROO, R.R.J.; DUNGEY, N.; ROBINSON, T.; BROWN, P.; FLOCKART, I.; HILL, C.; SMITH, L.; BENTLEY, S. Enhancement of artemisinin concentration and yield in response to optimization of nitrogen and potassium supply to *Artemisia annua*. **Annals of Botany**, v.104, p.315 – 323, 2009.

EMBRAPA. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Rio de Janeiro. 2006, 306 p.

FERREIRA, J.F.S., SIMON, J.E.; JANICK, J. Developmental studies of *Artemisia annua*: Flowering and Artemisinin production under greenhouse and field conditions. In: MARCHESE, J.A., 1999. **Produção e detecção de artemisinina em plantas de *Artemisia annua* L submetidas a estresse abiótico**. 1999. 97p. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

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.

FERNANDES, M.S; ROSSIELLO, R.O.P. Mineral nitrogen in plant physiology and plant nutrition. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.14, n.2 p.111 – 148, 1995.

FOGLIO, M.A. 2005. A terapia da artemisia. In: Quitério, G.C.M., 2006. **Produção de artemisinina por *Artemisia annua* L. Sob influência de micorriza arbuscular**. 2005. 38p. Dissertação de mestrado. Instituto Agronômico, Campinas.

FRITZ, C.; ROJAS, P.N; STITT, F.R.M. Regulation of secondary metabolism by the carbon nitrogen status in tobacco:nitrate inhibits large sectors of phenylpropanoid metabolism. In: DAVIES, M.J.; ATKINSON, C.J. BURNS, C.; WOOLLEY, J.G.; HIPPS, N.A.; ARROO, R.R.J.; DUNGEY, N.; ROBINSON, T.; BROWN, P.; Flockart, I.; HILL, C.; SMITH, L.; BENTLEY, S. Enhancement of artemisinin concentration and yield in response to optimization of nitrogen and potassium supply to *Artemisia annua*. **Annals of Botany**, n.104, p.315 – 323, 2009.

HEYWOOD, V.H., HARBONE, J.B., TURNER, B.L. Anthemidae. In: MAGALHÃES, P.M.; RAHARINAIVO, J.; DELABAYS, N. Influences de la dose et du type d'azote sur la production en artemisinine de *Artemisia annua* L. **Revue Suisse de Viticulture, Arboriculture et Horticulture**. v.28, p. 349 – 353, 1996.

JARREL, W.M.; BEVERLY, R.B. The dilution effect in plant nutrition studies. In: DAVIES, M.J.; ATKINSON, C.J.; BURNS, C.; WOOLLEY, J.G.; HIPPS, N.A.; ARROO, R.R.J.; DUNGEY, N.; ROBINSON, T.; BROWN, P.; FLOCKART, I.; HILL, C.; SMITH, L.; BENTLEY, S. Enhancement of artemisinin concentration and yield in response to optimization of nitrogen and potassium supply to *Artemisia annua*. **Annals of Botany**, v.104, p.315 – 323, 2009.

JONES, J.B., Jr. Plant tissue analysis in micronutrients. In: 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.

LEHMANN, J.; KERN, D.C.; GLASER, B.; WOODS, W.I. **Amazon Dark Earths: origin, properties and management**. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers. U.S.A. 2003. 505 p.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Potafos, Piracicaba, São Paulo. 1997, 319p.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato. 1986, 201p.

MERT, A. The effect of some agronomic practices on yield and yield components with quality of *Artemisia annua* L. In: OZGUVEN, M.; SENER, B.; ORHAN, I.; SEKEROGLU, N.; KIRPIK, M.; KARTAL, M.; PESIN, I.; KAYA, Z. Effects of varying nitrogen doses on yield, yiel components and artemisinin content of *Artemisia annua* L. **Industrial Crops and Products**, n.27, p. 60 – 64, 2008.

RAIJ, B.V. **Avaliação da fertilidade do solo**. Piracicaba. Instituto da Potassa e Fosfato, 1981, 142p.

RAIJ, B. VAN. Disponibilidade de potássio em solos do Brasil. In: Simpósio sobre potássio na agricultura brasileira, Londrina. **Anais**, Piracicaba: Instituto Potassa e Fosfato, Instituto Internacional de Potassa, p. 67 – 76, 1982.

RIBEIRO, M.N.G. 1976. Aspectos climatológicos de Manaus. **Acta Amazonica**, n. 6 v.2: 229 - 233.

RIBEIRO, A.C.; GUIMARÃES, P.T.G., ALVAREZ, V.H. (1999) **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais**. 5.ed. Viçosa, Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais. 359p.

SARRUGE, J.R.; HAAG, H.P. **Análises químicas em plantas**. Escola superior de agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo, 1974, 56 pp.

TOMÉ Jr., J.B. **Manual para interpretação de análises de solo**. Guaíba: Agropecuária, 1997. 247 p.

WATSON, L.E.; BATES, P.L.; EVANS, T.M.; UNWIN, M.M.; ESTES, J.R. Molecular phylogeny of subtribe Artemisiinae (Asteraceae), including *Artemisia* na ditsallied and segregate genera. In: FERREIRA, J.F.S., 2007. 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.

WALLAART, T.E.; BOUWMEESTER, H.J.; JACQUES, H.; LUCAS, P.; MAIJERS, N.C.A. Amorpha-4,11-diene synthase:cloning and functional expression of akeyenzyme in the biosynthetic pathway of the novel antimalarial drug artemisinin. In: OZGUVEN, M.; SENER, B.; ORHAN, I.; SEKEROGLU, N.; KIRPIK, M.; KARTAL, M.; PESIN, I.; KAYA, Z. 2008. Effects of varrying nitrogen doses on yield, yiel components and artemisinin content of *Artemisia annua* L. **Insdustrial Crops and Products**. 27:60 – 64, 2008.

WHO (World Health Organization). 2008. **Global malaria control and elimination: report of a technical review**. Global Malaria Programme. Geneva. Disponível em: <<http://malaria.who.int/wmr2008/malaria2008.pdf>> Acesso em: JAN / 2010.