

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ - UNIOESTE  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS – *CAMPUS CASCAVEL*  
PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AGRÍCOLA

CLAUDIA TATIANA ARAUJO DA CRUZ SILVA

ANÁLISE FITOQUÍMICA, ANTIOXIDANTE E FITOTÓXICA DOS EXTRATOS DE FOLHAS  
DE *Salvia officinalis* L. SOBRE *Lycopersicon esculentum* Mill., *Panicum maximum*  
Jacq. E *Salvia hispanica* L.

CASCAVEL – PARANÁ - BRASIL

2016

**CLAUDIA TATIANA ARAUJO DA CRUZ SILVA**

**ANÁLISE FITOQUÍMICA, ANTIOXIDANTE E FITOTÓXICA DOS EXTRATOS DE FOLHAS  
DE *Salvia officinalis* L. SOBRE *Lycopersicon esculentum* Mill., *Panicum maximum*  
Jacq. E *Salvia hispanica* L.**

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção do Título de Doutor em Engenharia Agrícola da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, *Campus* Cascavel, Área de concentração Engenharia de Sistemas Biológicos e Agroindustriais.

Orientadora: Dra. Lúcia Helena Pereira Nóbrega

Co-Orientadora: Dra. Fabiana Gisele da Silva Pinto

**CASCADEL – PARANÁ - BRASIL**

**2016**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

S579a

Silva, Claudia Tatiana da Cruz

Análise fitoquímica, antioxidante e fitotóxica dos extratos de folhas de *Salvia officinalis* L. sobre *Lycopersicon esculentum* Mill., *Panicum maximum* Jacq. E *Salvia hispânica* L. /Claudia Tatiana Araujo da Cruz Silva. Cascavel, 2016.

88 p.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Lúcia Helena Pereira Nóbrega

Coorientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Fabiana Gisele da Silva Pinto

Revisão Português, Inglês e Normas: Ana Maria Martins Alves

Vasconcelos

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Cascavel, 2016

Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Engenharia Agrícola

1. Alelopatia. 2. Cobertura vegetal. 3. Compostos voláteis. 4. Fitoquímica. 5. Fitotoxicidade. I. Nóbrega, Lúcia Helena Pereira. II. Pinto, Fabiana Gisele da. III. Vasconcelos, Ana Maria Martins Alves. Rev. IV. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. V. Título.

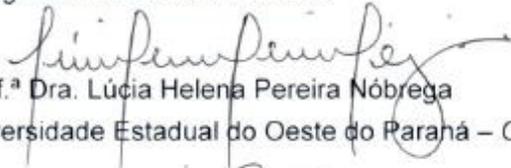
CDD 21.ed. 632.96

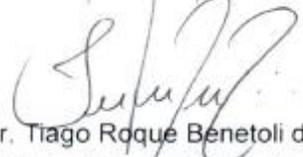
CIP-NBR 12899

**CLAUDIA TATIANA ARAUJO DA CRUZ SILVA**

, "ANÁLISE FITOQUÍMICA, ANTIOXIDANTE E FITOTÓXICA DOS EXTRATOS DE FOLHAS DE *Salvia officinalis* L. SOBRE *Lycopersicon esculentum* Mill., *Panicum maximum* Jacq. E *Salvia hispânica* L. "

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação "Stricto Sensu" em Engenharia Agrícola em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de doutora em Engenharia Agrícola, área de concentração Sistemas Biológicos e Agroindustriais, **aprovada** pela seguinte banca examinadora:

  
Orientadora: Prof.ª Dra. Lúcia Helena Pereira Nóbrega  
Universidade Estadual do Oeste do Paraná – *Campus* de Cascavel

  
Prof. Dr. Tiago Roque Benetoli da Silva  
Universidade Estadual de Maringá – UEM - *Campus* de Umuarama

  
Prof.ª Dra. Clair Aparecida Viecelli  
Pontifícia Universidade Católica – PUC/Toledo

  
Prof.ª Dra. Maritane Prior  
Universidade Estadual do Oeste do Paraná – *Campus* de Cascavel

  
Prof. Dr. Divair Christ  
Universidade Estadual do Oeste do Paraná – *Campus* de Cascavel

## BIOGRAFIA RESUMIDA

Claudia Tatiana Araújo da Cruz Silva, nascida em Cascavel, Paraná, em 18 de fevereiro de 1976. Bacharel em Ciências Biológicas, pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), conclusão do curso em 1998. Licenciada na mesma instituição e curso no ano de 1999. Professora Colaboradora na Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE) das disciplinas: Botânica Morfológica, Botânica Fisiológica, Preservação dos Recursos Naturais para o curso de Ciências Biológicas; Botânica aplicada à Farmácia para o curso de Farmácia, nos anos de 1999 e 2000. Bolsista da CAPES no programa de pós-graduação em Botânica de 2001 a 2003. Mestre em Botânica pela Universidade Federal do Paraná (UFPR) em 2003. Professora na Universidade Paranaense (UNIPAR), *Campus* Cascavel das disciplinas: Botânica Morfológica, Botânica Fisiológica, Botânica Sistemática e Ecologia Geral para o curso de Ciências Biológicas (Bacharelado e Licenciatura) no período de 2003 a 2008. Professora da Faculdade Assis Gurgacz (FAG), da disciplina de Farmacobotânica, para o curso de Farmácia no período de 2005 a 2009. Da disciplina de Botânica Sistemática e Fisiologia Vegetal para o curso de Agronomia, período 2004 a 2008. Das disciplinas: Anatomia Vegetal, Fisiologia Vegetal, Botânica Sistemática I, Botânica Sistemática II, Ecologia I e Ecologia II para os cursos de Ciências Biológicas Bacharelado e Licenciatura, no período de 2004 a 2011. Professora da Faculdade Dom Bosco, da disciplina de Ecologia para o curso Tecnologia em Gestão Ambiental, no ano de 2007 e 2008. Bolsista da CAPES no programa de pós-graduação em Engenharia Agrícola entre 2012-2016. Pesquisador visitante da USDA-ARS (*Natural Products Utilization Research Unit*), Universidade do Mississippi, bolsista Programa Sem Fronteiras CNPQ, por 8 meses (maio a dezembro de 2015).

“O Senhor é o meu pastor e nada me faltará. Em verdes prados me faz repousar; conduz-me junto às águas refrescantes; restaura as forças de minha alma. Pelos caminhos retos ele me leva, por amor do seu nome. Ainda que eu atravessasse o vale escuro nada temerei, pois tu estás comigo; a tua vara e o teu cajado me protegem”.

Salmo

## DEDICATÓRIA

Eu dedico o meu trabalho a  
minha família, meu marido  
Marcos e meus filhos João Pedro,  
Guilherme e Eduardo, meu BEM  
MAIOR.

## AGRADECIMENTOS

A DEUS, força maior que rege nossas vidas, obrigada por todas as oportunidades e por cada obstáculo que surgiu no meu caminho, pois eles me tornaram mais forte.

À minha família amada, meu marido Marcos, sem você nada seria possível, sempre me apoiando e me incentivando a seguir em frente. Filhos amados, João Pedro, Guilherme e Eduardo, vocês são a luz da minha vida e me dão forças sempre, mesmo sem saber, me ensinando a ser uma pessoa melhor a cada dia.

Aos meus pais, Assis e Elizete, meu exemplo de amor e honestidade. À minha sogritia Sônia, mesmo longe, sempre amiga. Ao meu irmão, Luiz Fernando e cunhada, Vergínia, apoio constante, minhas menininhas Maria e Ana, e ao baby Luiz, jainhas da tia, com sua ingenuidade sempre me fazendo rir.

À minha orientadora, Dra. Lúcia Helena Pereira Nóbrega, pela orientação e oportunidades e, principalmente, pelo carinho e amizade que se formaram ao longo desses quatro anos.

À professora Dra. Fabiana Gisele da Silva Pinto, pela co-orientação e auxílio com as técnicas de extração do óleo essencial, fitoquímica e atividade antioxidante.

Aos meus colegas do laboratório, Adriana, Ariane, Christian, Daiane, Danielle, Davi, Dirceu, Éder, Eduardo, Gabriela, Gislaine, Márcia, Vanessa, que se tornaram meus companheiros, alguns por meses, outros por anos, preenchendo meus dias, montando experimentos e trocando ideias. E, àqueles que, além de companheiros se tornaram irmãos, uma família diferente, choraram comigo e fizeram me sentir especial, Fábio, Joseli, Michele e Simone obrigada por cada abraço e palavra de carinho.

Às minhas amigas, Beti, Carla, Dai, Edi, Erica, Fabi, Joyce, Laiz, Pri, Rose e Ver que, de alguma forma, sempre estavam me apoiando e que mantiveram contato, mesmo com uma simples mensagem, no tempo que fiquei distante, sempre me auxiliando a seguir em frente. Algumas se tornaram mais presentes e sabem o quanto foram importantes. Carla e Edi, adorei a visita e apoio no Mississippi. Às Lulus que encheram minha vida de risos e alegria.

Aos casais Gulgielmin, Lioto, Piazza, Stanoga e amiga Fabi, pelos encontros, saídas, viagens, pela amizade que sempre cresce, alguns há mais de 18 anos.

Às minhas amigas, Agnes, Ana Paula, Clair, Isa, Luciane e Maristela, que mesmo sem se ver, são sempre especiais e importantes. Quando nos encontramos parece que o tempo não passou.

À minha amiga Dai, por me pedir carona para ir à reunião Espírita, e a partir daí comecei a participar dos estudos, que embora por pouco tempo, me trouxeram muito conhecimento e me tornaram melhor, cada dia mais confiante sobre a grandeza de DEUS e que ELE é único, não importa a crença, Ele sempre é o começo e o fim. E por me ligar quase toda semana, foi muito importante.

Aos professores das disciplinas, que sempre me ensinaram algo, coisas a saber, coisas a fazer e também coisas que nunca devo fazer.

Aos funcionários e colegas da UNIOESTE que de alguma forma contribuíram com a jornada acadêmica, nem que tenha sido me fazendo buscar na internet, também com paciência.

À Tati por auxiliar com a impressão final, sempre disposta e atenciosa.

Aos meus orientadores no exterior, Stephen O. Duke e Charles L. Cantrell, pelo exemplo de simplicidade e sabedoria, pela paciência e auxílio constantes.

Aos técnicos da USDA, Amber, Glória, Linda, Ramona, Robert e Salomon, por todos os ensinamentos, incentivo e paciência. Aprendi muito nesses nove meses.

À Yelkaira, minha amiga da Cidade do Panamá, sempre presente, minha tradutora e interprete no Mississippi, que me levou para a igreja, foi minha companheira sempre que precisei e me enturmou. À Maria Lúcia, minha primeira amiga no Mississippi, que logo voltou para Argentina.

Aos companheiros de almoço, aula de inglês ou de um simples oi Afwa (Tunísia), Carla (Costa Rica), Charlotte e Méderic (França), Cristina, Marco e Sebastiano (Itália), Farida (Argélia) e Francisco (Colombia).

Aos brasileiros que conheci no Mississippi, Arthur, Cezar, Gilberto, Janice, Julia, Kátia, Lorena, Marcela, Renan, Selva, Suzete, Vanessa. Júlia você é show e a salvação de muitos brasileiros que chegam aqui.

À CAPES e ao CNPQ pelo apoio financeiro.

A todas as pessoas que me ajudaram de alguma forma. Eu sei que muitas, eu nem sei ou percebi que me ajudaram, com um sorriso, com uma oração, com um oi no corredor. Às vezes precisamos de coisas simples para nos sentirmos gente. Algumas me magoaram, foram grosseiras, sem paciência, mas tudo é aprendido na nossa evolução como cientista e, principalmente, como pessoa.

MUITO OBRIGADA!!!

**ANÁLISE FITOQUÍMICA, ANTIOXIDANTE E FITOTÓXICA DOS EXTRATOS DE FOLHAS DE *Salvia officinalis* L. SOBRE *Lycopersicon esculentum* Mill., *Panicum maximum* Jacq. E *Salvia hispânica* L.**

**RESUMO GERAL**

Aleloquímicos são substâncias presentes nos vegetais, liberadas no ambiente e influenciam a comunidade ao redor, visto que, o potencial alelopático de uma planta pode se manifestar inibindo ou estimulando o desenvolvimento de outras. As plantas medicinais que apresentam óleos essenciais em sua composição, normalmente, têm e mostrado promissoras no controle de plantas. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial alelopático de folhas secas, extratos e óleo essencial de sálvia sobre a germinação e o desenvolvimento de tomate, capim mombaça e chia, em condições de laboratório e casa de vegetação bem como identificar a composição química e atividade antioxidante. Para os testes de laboratório, folhas de sálvia foram submetidas à extração com os solventes hexano, acetato de etila, acetona e metanol que passaram por reações de caracterização fitoquímica. O óleo essencial foi obtido por hidrodestilação e sua composição foi determinada usando cromatografia gasosa/espectrometria de massa. A atividade antioxidante foi medida pela eliminação de radicais livres DPPH. Os testes alelopáticos utilizaram extratos na concentração de 1% e o óleo nas concentrações: 0, 100, 200, 400, 600, 800, 1000 e 2000 mg L<sup>-1</sup> (v/v). Nos testes em casa de vegetação, a massa seca de sálvia foi utilizada nas proporções de 3,75; 7,5 e 15 t ha<sup>-1</sup>, além da testemunha. A análise fitoquímica indicou a presença de taninos, saponinas, flavonóides e triterpenóides nos extratos. Os extratos acetônico e metanólico apresentaram maior atividade antioxidante. Todos os extratos influenciaram negativamente os parâmetros germinativos do tomate e os produzidos com hexano e acetato de etila reduziram o crescimento aéreo. O extrato acetônico não influenciou os parâmetros germinativos de capim mombaça, enquanto os demais extratos inibiram as respostas e o extrato hexânico reduziu o crescimento da plântula. As sementes de chia tiveram a germinação inibida pelo extrato hexânico. Entretanto, os demais parâmetros germinativos foram afetados pelos demais extratos, sem efeito sobre o crescimento. No óleo essencial, foram detectados 28 compostos (98,82% do óleo) e os majoritários foram: cânfora (27,59%), canfeno (23,70%), α-pineno (13,75%), β-pineno (6,28%) e limoneno (5,38%). Monoterpenóides foram predominantes no óleo essencial (68%). O óleo apresentou 85,3% de capacidade de sequestro do radical DPPH e EC<sub>50</sub> de 3,67 µg mL<sup>-1</sup>, caracterizando-o como ótimo antioxidante. O percentual final de germinação das três espécies não foi inibido pelo óleo essencial nas concentrações testadas. Entretanto, os índices de velocidade, tempo e velocidade média de germinação foram influenciados de forma negativa na maioria das concentrações testadas, para as sementes de tomate e chia. O mesmo não foi observado para sementes de capim mombaça. Em casa de vegetação, o teor de clorofila das plantas de tomate e capim mombaça foi reduzido com 7,5 e 15 t ha<sup>-1</sup> de sálvia em cobertura. O comprimento da parte aérea do tomate foi inibido em todas as proporções testadas e as plantas de capim mombaça apresentaram redução do crescimento quando foram utilizados 15 t ha<sup>-1</sup> de sálvia. A massa seca das plantas de tomate reduziu com o uso de 15 t ha<sup>-1</sup> de sálvia como cobertura e a de capim mombaça com 7,5 e 15 t ha<sup>-1</sup>. De forma geral, os extratos apresentaram melhores respostas alelopáticas para os parâmetros germinativos do que para o crescimento das plântulas. O efeito variou em função da espécie alvo e do solvente utilizado para preparo do extrato. A sálvia em cobertura reduziu as variáveis avaliadas em tomate e capim mombaça. Assim, a semeadura em sequência ou muito próxima deve ser evitada. Entretanto, não apresentou efeito nas plantas de chia. Ao passo que o óleo essencial não influenciou o capim mombaça. Deve ser destacado que as espécies botânicas respondem de forma diferenciada e muitas vezes o efeito alelopático não está sobre o percentual de germinação.

**PALAVRAS-CHAVE:** alelopatia, cobertura vegetal, compostos voláteis, fitoquímica, fitotoxicidade.

**PHYTOCHEMICAL, ANTIOXIDANT AND PHYTOTOXIC ANALYSES OF LEAVES  
EXTRACTS FROM *Salvia officinalis* L. ON *Lycopersicon esculentum* Mill., *Panicum  
maximum* Jacq. E *Salvia hispanica* L.**

**ABSTRACT**

Allelochemicalare substances present in plants, released into the environment that influence on the community, since the allelopathic potential of one plant can inhibit the development of others. Medicinal plants that have essential oils in their composition have typically been promising in weed control. Thus, this study evaluated the phytotoxic potential of dried leaves, extracts and essential oil of sage on germination and growth of tomato, guinea grass and chia plants, under laboratory conditions and at greenhouse as well as identified the chemical composition and antioxidant activity. For the bioassays in laboratory, dried leaves were soaked using hexane, ethyl acetate, acetone and methanol solvents and extracts were submitted to reactions for phytochemical characterization. The essential oil was obtained by hydro-distillation of leaves and its composition was determined by gas chromatography coupled to mass spectrometry. Antioxidant activity was measured by free radicals as DPPH. Allelopathic tests used extracts at 1% concentration and essential oil at concentrations of 0, 100, 200, 400, 600, 800, 1,000 and 2,000 mg L<sup>-1</sup> (v/v). In greenhouse, dry mass of sage was tested at 3.75; 7.5 and 15 t ha<sup>-1</sup> rates and the control (no mass). Phytochemical analysis revealed the occurrence of tannins, flavonoids, saponins and triterpenoids on extracts. Acetone and methanolic extracts have registered some high antioxidant activity. All extracts reduced tomato germination parameters and the extracts produced with hexane and ethyl acetate also reduced tomato shoot growth. The acetone extract had no effect on germination of guinea grass, while other extracts tested inhibited the answers and hexane extract decreased seedling growth of this specie. Hexane extract reduced the germination of chia seeds. However, the other parameters of germination were affected by the other extracts without any effect on growth. Twenty-eight compounds were recorded (corresponding to 98.82% essential oil) and the highest were: camphor (27.59%), camphene (23.70%),  $\alpha$ -pinene (13.75%),  $\beta$ -pinene (6.28%) and limonene (5.38%). Monoterpenes (68%) have been prevalent in essential oil. The essential oil showed 85.3% of DPPH radical seizing activity and a 3.67  $\mu\text{g mL}^{-1}\text{IC}_{50}$  value characterizing it as a great antioxidant. The final germination percentage of the three species was not inhibited by the essential oil at the tested concentrations. However, germination speed, time indices and average speed of germination rates were adversely affected in most tested concentrations for tomato and chia seeds. The same behavior was not observed for guinea grass seeds. In greenhouse, chlorophyll contents of tomato and guinea grass plants were reduced with 7.5 and 15 t ha<sup>-1</sup> sage as cover crop. Tomato shoot length was inhibited in all tested rates, and guinea grass plants showed some growth decrease when using 15 t ha<sup>-1</sup> sage mass. The dry mass of tomato plants was reduced when 15 t ha<sup>-1</sup> sage and 7.5 and 15t ha<sup>-1</sup> guinea grass were used as cover crops. In general, the extracts showed better phytotoxic activity to parameters of germination than the seedling growth. The effect varied due to the target specie and solvent used to prepare the extract. Sage as cover crop reduced the evaluated variables in tomato and guinea grass, but there was no effect on chia plants. It is suggested that planting in sequence or too close must be avoided. On the other hand, the essential oil showed no influence on guinea grass seeds. But, it is worth noting that botanical species respond differently and, usually, there is no allelopathic effect on germination percentage.

**KEYWORDS:** allelopathy, coverage, volatile compounds, phytochemical, phytotoxicity.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>xii</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>xiii</b>
<b>RESUMO GERAL.....</b>	<b>ix</b>
<b>ABSTRACT GERAL.....</b>	<b>x</b>
<b>1. INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>3</b>
2.1. Objetivo geral .....	3
2.2. Objetivos específicos .....	3
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>4</b>
3.1. Alelopatia e aleloquímicos .....	4
3.2. Alelopatia e agricultura.....	6
3.3. Alelopatia e plantas medicinais.....	9
3.4. Família Lamiaceae .....	11
<b>4. REFERÊNCIAS GERAL .....</b>	<b>13</b>
<b>5. ARTIGOS .....</b>	<b>18</b>
5.1. ARTIGO 1- Análise fitoquímica, atividade antioxidante e fitotóxica de extratos com polaridade crescente de folhas de <i>Salvia officinalis</i> L.....	18
5.2. ARTIGO 2- Chemical composition, antioxidant and allelophatic activities of <i>Salvia officinalis</i> L. essential oil.....	37
5.3. ARTIGO 3 - Alelopatia da cobertura de sálvia no desenvolvimento de plantas.....	62
<b>6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>74</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>75</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.1.</b> Análise fitoquímica dos extratos de folhas de <i>Salvia officinalis</i> L.....	25
<b>Tabela 1.2.</b> Índice de DPPH (% sequestro) e EC <sub>50</sub> dos extratos de polaridade crescente de <i>Salvia officinalis</i> .....	26
<b>Tabela 1.3.</b> Parâmetros germinativos de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill. var. cerasiforme submetidos a extratos de polaridade crescente de <i>Salvia officinalis</i> L.....	28
<b>Tabela 1.4.</b> Parâmetros germinativos de <i>Panicum maximum</i> Jacq. var. mombaça submetidos a extratos de polaridade crescente de <i>Salvia officinalis</i> L.....	30
<b>Tabela 1.5.</b> Parâmetros germinativos de <i>Salvia hispanica</i> L. submetidos a extratos de polaridade crescente de <i>Salvia officinalis</i> L.....	31
<b>Tabela 2.1</b> - Composição química do óleo essencial da <i>Salvia officinalis</i> L.....	46
<b>Tabela 3.1</b> – Teor de clorofila, comprimento da parte aérea (CPA) e massa seca de plantas de tomate cereja submetido à sálvia como cobertura vegetal.....	68

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.1.</b> Curva padrão do DPPH.....	23
<b>Figura 2.1.</b> Curva padrão do DPPH.....	43
<b>Figura 2.2.</b> A- Porcentagem de germinação, B- índice de velocidade de germinação (IVG), C- tempo médio de germinação e D- Velocidade média de germinação de <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill. var. <i>Cerasiforme</i> submetidos ao óleo essencial de folhas de <i>Salvia officinalis</i> L. *Significativo a 5% de probabilidade. **Significativo a 1% de probabilidade.....	49
<b>Figura 2.3.</b> A- Porcentagem de germinação, B- índice de velocidade de germinação (IVG), C- tempo médio de germinação e D- Velocidade média de germinação de <i>Panicum maximum</i> Jacq. var. <i>Mombaça</i> submetidos ao óleo essencial de folhas de <i>Salvia officinalis</i> L. *Significativo a 5% de probabilidade. **Significativo a 1% de probabilidade.....	50
<b>Figura 2.4.</b> A- Porcentagem de germinação, B- índice de velocidade de germinação (IVG), C- tempo médio de germinação e D- Velocidade média de germinação de <i>Chia hispanica</i> submetidos ao óleo essencial de folhas de <i>Salvia officinalis</i> L. *Significativo a 5% de probabilidade. **Significativo a 1% de probabilidade.....	52

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

A alelopatia caracteriza o estudo de como as plantas influenciam a germinação, o crescimento e o desenvolvimento de outras plantas. Surgiu de observações no ambiente natural, onde algumas plantas conseguem se desenvolver normalmente e outras não, na presença de algumas espécies. O padrão de vegetação disperso ou ausência de vegetação ao redor de uma espécie em particular pode indicar que esta é alelopática. No entanto, esse efeito nem sempre é inibitório e o estímulo ao crescimento também é considerado alelopatia. Ainda neste sentido, a interação com microrganismos do solo também pode influenciar o efeito alelopático.

Os compostos que apresentam efeito alelopático são, na maior parte, produtos do metabolismo secundário da planta, denominados aleloquímicos. A liberação desses para o meio ambiente pode ocorrer de diversas formas: volatilização, exsudação radicular, lixiviação, degradação do resíduo vegetal, os quais podem atuar em sinergismo com outras substâncias ou sofrer modificações moleculares que alteram sua forma de ação.

Uma planta é um mini laboratório, capaz de produzir diversas substâncias em seus diferentes órgãos. Assim, substâncias alelopáticas podem ser encontradas em folhas, caules, raízes, flores, frutos e sementes. Os efeitos variam em função da concentração e do sinergismo entre as substâncias. Diversos fatores endógenos e exógenos influenciam também a produção do aleloquímico tais como: espécie, idade, órgão, estágio de desenvolvimento, condições ambientais (luz, temperatura, nutrientes, disponibilidade de água), condições estressantes, dentre outros.

Atualmente, o foco do estudo alelopático está no isolamento e purificação dos compostos e no estudo da possível ação herbicida. A vantagem de um bioherbicida está, entre outros fatores, na redução da contaminação humana e poluição ambiental, em função da sua fácil degradação. Assim, para que se tenham indícios sobre as propriedades alelopáticas de uma planta, podem se iniciar os testes com extratos aquosos. A utilização de solventes orgânicos também facilita a extração de determinados grupos químicos; pode ser um indicativo de quais grupos podem estar presentes no vegetal bem como qual pode atuar como aleloquímico. Entretanto, para se considerar uma planta como alelopática, é necessária a identificação de um ou mais aleloquímicos produzidos pela planta que deve ser convertido em fitotoxina no solo depois de ser liberado pela planta. Além disso, o composto deve estar em quantidade suficiente no solo no qual a planta se desenvolve. O que é complicado em função das inúmeras interações (aditiva, antagônica ou sinérgica). E ainda, a competição pode influenciar a alelopatia e vice-versa, portanto, é difícil separar os dois processos.

Trabalhos prévios foram realizados com extratos aquosos de sálvia, indicando seu potencial alelopático. Assim, para dar seqüência ao estudo, foram realizados testes utilizando a matéria seca das folhas de sálvia, o que simula a decomposição. Também foram utilizados extratos produzidos com solventes de diferentes polaridades, que extraem diferentes grupos químicos, indicando qual extrato pode ser mais efetivo e testes com o óleo essencial extraído das folhas. A sálvia é uma planta aromática e se caracteriza como produtora de óleos essenciais. É conhecida por sua ação medicinal, que pode ser explorada no sentido alelopático e, que também simula a lixiviação. Geralmente, um composto com ação medicinal, também pode apresentar outras atividades, como ação antioxidante, inseticida, herbicida, dentre outras.

Os efeitos visualizados no padrão germinativo e crescimento das plantas são uma resposta secundária aos efeitos que ocorrem nas moléculas e células do vegetal. As espécies respondem de forma diferenciada aos aleloquímicos e existem espécies mais sensíveis, consideradas espécies bioindicadoras, como alface, tomate e trigo. Por isso, é necessário o uso de mais de uma espécie para avaliar o potencial alelopático da planta doadora, para se ter um indicativo da real potencialidade. Além do que, se um composto vai ser usado como bioherbicida, ele tem que inibir o desenvolvimento da planta invasora sem afetar a cultura de interesse econômico. Em função disso, neste trabalho, foi utilizada uma espécie considerada indicadora, a cultura do tomate; uma espécie monocotiledônea, o capim mombaça e a chia, uma espécie que além de ser dicotiledônea é do mesmo gênero da espécie doadora. As plantas podem co-evoluir em um mesmo ambiente e tolerar situações que outras espécies não toleram. Além do que, espécies de uma mesma família e gênero podem apresentar produção de compostos semelhantes, e mesmo assim sofrerem autotoxicidade.

A planta com suposta atividade alelopática é denominada planta doadora e as espécies que podem ser afetadas são denominadas plantas receptoras. Por fim, a confirmação do efeito alelopático de algumas espécies sobre plantas infestantes proporcionaria a redução de custos e contaminação.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo geral**

- Avaliar o potencial alelopático de folhas secas de sálvia por determinação do efeito de extratos e óleo essencial (em laboratório) e da cobertura vegetal (em casa de vegetação) sobre a germinação e o crescimento inicial de tomate, capim mombaça e chia.

### **2.2. Objetivos específicos**

- Extrair compostos químicos das folhas secas de sálvia por afinidade aos solventes de diferentes polaridades (hexano, acetona, acetato de etila e metanol) e analisar sua composição química através de testes fitoquímicos preliminares;

- Extrair o óleo essencial das folhas secas de sálvia por arraste a vapor e analisar a composição química;

- Avaliar o potencial alelopático dos extratos de diferentes polaridades, de folhas secas de sálvia, sobre a germinação e crescimento inicial de sementes de tomate, capim mombaça e chia, submetidas aos extratos, em condições de laboratório;

- Avaliar o potencial alelopático do óleo das folhas secas de sálvia sobre a germinação de sementes de tomate, capim mombaça e chia, submetidas aos extratos, em condições de laboratório;

- Avaliar o potencial alelopático de folhas secas de sálvia em cobertura vegetal sobre o teor de clorofila, massa seca, crescimento da parte aérea de plântulas de tomate, capim mombaça e chia, em condições de casa de vegetação.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1. Alelopatia e aleloquímicos

A alelopatia é a capacidade que as plantas apresentam em produzir substâncias químicas, as quais quando liberadas no ambiente, influenciam de forma favorável ou desfavorável o desenvolvimento de outras plantas, incluindo microrganismos (RICE, 1984; ALMEIDA, 1988; FERREIRA, 2004). Segundo Odum (1988), a alelopatia é um mecanismo de interação bioquímica entre vegetais, em que uma planta produz substância prejudicial a outra planta competidora. Os efeitos negativos tendem a ser pequenos em termos quantitativos, quando as plantas interativas têm uma história evolutiva comum em um ecossistema estável.

Distingue-se no metabolismo das plantas, o metabolismo primário e o secundário. O metabolismo primário refere-se ao processo de produção de compostos essenciais para a sobrevivência e manutenção do organismo, tais como fotossíntese, respiração, transporte de solutos, translocação, síntese de proteínas, assimilação de nutrientes, diferenciação e síntese de carboidratos, lipídeos e proteínas (TAIZ e ZEIGER, 2006). Os metabólitos secundários, por outro lado, não são essenciais à vida, mas definem a capacidade de sobrevivência de cada espécie no ecossistema no qual se encontra.

Os metabólitos secundários são produzidos por vias biossintéticas diferentes das usadas na produção dos metabólitos primários e estas vias estão relacionadas com o mecanismo de evolução das espécies (BRATT, 2000), as quais apresentam distribuição restrita no reino vegetal. Os metabólitos secundários são específicos para uma espécie vegetal ou para um grupo de espécies relacionadas, enquanto os metabólitos primários são encontrados em todo o reino vegetal (TAIZ e ZEIGER, 2006). Muitos dos produtos secundários de organismos vivos evoluíram em resposta às interações bióticas. Assim, eles são mais propensos a terem algum tipo de atividade biológica em baixas concentrações do que os compostos derivados a partir de programas de síntese química. Além disso, a atividade biológica, muitas vezes, pode ser usada para outras atividades além daquelas que foram alvo dos sítios moleculares no processo evolutivo (DUKE et al., 2000).

O custo metabólico para a produção de compostos do metabolismo secundário é relativamente grande, quando comparado ao custo para produzir compostos do metabolismo primário (GERSHENZON, 1994). Segundo Waller (1999), na evolução das plantas, metabólitos secundários representaram alguma vantagem contra a ação de patógenos ou predadores, seja inibindo a ação desses ou estimulando o crescimento ou desenvolvimento das plantas. Acredita-se que eles desempenhem funções importantes e tragam benefícios ao organismo produtor, principalmente, às funções de atração de insetos

polinizadores e de defesa contra insetos-praga, fungos, bactérias e nematoides fitopatogênicos (BAKKALI et al., 2008).

Os compostos do metabolismo secundário associados à alelopatia são denominados aleloquímicos. A presença de substâncias químicas como compostos fenólicos, cumarinas, terpenóides, flavonóides, alcalóides, glicosídeos, taninos e quinonas, encontrados como metabólitos secundários dos vegetais, pode desencadear efeitos benéficos ou maléficos sobre outros vegetais ou demais organismos. A grande variedade de compostos orgânicos, produtos do metabolismo secundário tem importante função no ecossistema como substâncias de sinal, reconhecimento, defesa, inibição ou como toxinas (LARCHER, 2000). Os metabólitos são frequentemente estocados no vacúolo ou nos espaços intercelulares quando não são usados. Entretanto, os compostos podem ser prontamente liberados das células ou superfícies das folhas para defesa, atração ou como sinalizadores químicos (CHOU, 1999).

Segundo Ferreira e Áquila (2000), todas as plantas produzem metabólitos secundários, que variam em qualidade e quantidade, de espécie para espécie, até mesmo a quantidade do metabólito de um local de ocorrência para outro, ou ciclo de cultivo, pois sua síntese pode ser desencadeada por eventuais vicissitudes a que as plantas estão expostas. Muitos compostos alelopáticos produzidos por plantas são regulados por fatores ambientais, tais como o potencial de água no ambiente, a temperatura, a qualidade e quantidade de luz, a composição do solo, os nutrientes, os microrganismos, dentre outros. A quantidade do composto produzido é significativamente maior quando a planta cresce em condições estressantes quando comparado às condições normais (CHOU, 1999).

Os metabólitos podem ser liberados no ambiente por volatilização, lixiviação, decomposição dos resíduos das plantas no solo ou exsudação pelas raízes e afetar positivamente ou negativamente tanto o crescimento como o desenvolvimento de outras espécies. A alelopatia não é um fenômeno isolado, e a presença ou ausência de alelopatia é determinada pela interação de vários fatores (REIGOSA, MOREIRAS SANCHEZ e GONZALE, 1999). Uma vez introduzidos no ambiente, é necessário que se acumulem em quantidades suficientes para afetarem outras plantas, se mantenham por algum tempo, ou seja, liberadas continuamente para que os efeitos sejam persistentes (ALMEIDA, 1988).

O composto tóxico alelopático, quando transportado de uma planta para outra, não está em concentração suficiente para ter efeito na planta receptora. Mesmo se o aleloquímico for encontrado nas quantidades suficientes na rizosfera do produtor e das plantas receptoras, tem-se argumentado que a resistência à toxina teria co-evoluído em ambas as plantas. Como consequência, pouco se sabe sobre os mecanismos biológicos através dos quais os aleloquímicos causam fitotoxicidade (FITTER, 2003).

As espécies de plantas respondem de forma diferente à presença de aleloquímicos, contribuindo assim para a seletividade da espécie (INDERJIT e DUKE,

2003). Orcutt e Nilsen (2000) sugerem que as plantas possam tolerar aleloquímicos devido à capacidade de reduzir a absorção de aleloquímicos na superfície radicular; à compartimentalização de aleloquímicos e à desintoxicação de aleloquímicos.

Há poucas informações sobre como as substâncias alelopáticas atuam nas plantas. A dificuldade que se apresenta é que essas substâncias afetam mais de uma função e provocam efeitos colaterais difíceis de se distinguirem dos principais (GOLDFARB; PIMENTEL e PIMENTEL, 2009).

Depois de liberados, os aleloquímicos são envolvidos em uma variedade de processos metabólicos. Muitos fatores determinam a toxicidade tais como: concentração, taxa de fluxo, idade e estágio metabólico da planta, condições ambientais. A produção varia na qualidade e quantidade com a idade, cultivar, órgão da planta e época do ano (SINGH, BATISH e KOHLI, 2003), também com espécies, temperatura, intensidade luminosa, disponibilidade de nutrientes, atividade microbiana da rizosfera e com a composição dos solos em que se encontram as raízes (EINHELLIG e LEATHER, 1988). As condições de estresse, frequentemente, aumentam a produção de metabólitos secundários, aumentando o potencial de interferência alelopática (EINHELLIG, 1995).

Segundo Souza Filho, Guilhon e Santos (2010), em comunidades de plantas, as interferências atribuídas ao fator alelopátia são o resultado não apenas da ação de um único, mas de diferentes aleloquímicos, os quais são liberados para o ambiente em concentrações, quantidades e épocas distintas. Considerando-se essas especificidades, pode-se assumir que a atividade biológica de dada mistura de aleloquímicos será determinada não apenas pela concentração de cada componente da mistura, como também pela interação entre eles. Nos poucos trabalhos em que essa hipótese é testada, a combinação entre os aleloquímicos envolve o uso de concentrações fixas e as inferências são ditadas em função dos efeitos promovidos em relação às substâncias isoladamente. Por exemplo, se os efeitos promovidos pelas substâncias, testadas juntas, for de maior magnitude do que quando testadas isoladamente, pode-se afirmar que há sinergismo entre elas. Caso contrário, se os efeitos forem de menor intensidade, pode-se inferir pela existência de antagonismo.

Reigosa, Moreiras Sanchez e Gonzalez (1999) afirmaram que é difícil sumarizar o modo de ação dos aleloquímicos, pois são moléculas diferentes, cujo efeito pode variar em função da concentração, de fatores ambientais, de características da planta, que podem afetar processos simultâneos e cada processo pode ter uma resposta diferente para concentração ou aleloquímico em particular. O efeito visível dos aleloquímicos sobre as plantas é somente uma sinalização retardada de mudanças anteriores que ocorreram nas moléculas e células. A diversidade dos compostos que causam alelopátia indica diferentes mecanismos de ação e, em muitos casos, sua fitotoxicidade pode originar-se mais do rompimento celular generalizado do que de um mecanismo específico (EINHELLIG, 1995).

Podem afetar funções como absorção de nutrientes, crescimento, fotossíntese, respiração, permeabilidade da membrana, síntese proteica e a atividade enzimática. Uma mesma substância pode afetar diversas funções fisiológicas bem como várias substâncias podem afetar apenas uma função no organismo (ALMEIDA, 1988; MALHEIROS e PERES, 2001).

No entanto, a maioria das pesquisas em alelopatia referem-se ao efeito aleloquímico sobre a germinação e o crescimento da planta-teste, não consideram os efeitos celulares relacionados às mudanças fisiológicas do sistema da planta-teste (PRATES et al.,2001).

A inibição alelopática resulta da ação conjunta de um grupo de aleloquímicos que, coletivamente, interferem em vários processos fisiológicos e dependem da extensão dos estresses bióticos e abióticos associados. A alelopatia está estreitamente ligada a outros estresses ambientais, incluindo temperaturas extremas, deficiências de nutrientes e de umidade, radiação, insetos, doenças e herbicidas. Tais condições de estresse frequentemente aumentam a produção de aleloquímicos bem como o potencial de interferência alelopática (EINHELLIG, 1996).

### **3.2. Alelopatia e agricultura**

O uso excessivo de fertilizantes, herbicidas, nematicidas e fungicidas, em práticas da agricultura moderna, comprometem as propriedades físico-químicas do solo, além de poluírem a água e o solo em detrimento do ecossistema global. O uso indiscriminado desses produtos tem despertado grande preocupação por parte de diversos países, devido a essas consequências ambientais e também à contaminação dos alimentos (CHOU, 1999).

O uso de agrotóxicos pode acarretar diversos problemas, tais como: desequilíbrios biológicos, favorecendo o aparecimento de novas pragas (insetos, ácaros, nematóides, fungos, plantas invasoras e outros) ou surto de pragas secundárias, além de efeitos deletérios, por exemplo, em insetos polinizadores. Acarretam resíduos em alimentos, pela sua persistência, causando problemas de saúde pública. Promovem resistência das pragas, em geral, aos próprios agrotóxicos e exigem aplicações com maiores frequência e concentração. Contaminam o ambiente, tanto local como em áreas próximas ou mesmo distantes, principalmente por deriva em aplicações aéreas ou terrestres. Acarretam aumento na mortalidade de peixes, aves e outros, que, lamentavelmente, não foram o alvo visado, acumulando-se nos organismos e na natureza, podendo ser transferidos, via biológica e pelas cadeias tróficas (MAIRESSE e COSTA, 2009). Os herbicidas tradicionais estão cada vez menos eficientes no combate às espécies invasoras, uma vez que seu uso vem sendo selecionado ao longo dos anos pelo surgimento de variedades resistentes (GELMINI et al., 2001; RIBEIRO e LIMA, 2011).

A atividade dos aleloquímicos tem sido usada como alternativa ao uso de herbicidas, inseticidas e nematicidas (WALLER, 1999). Os estudos sobre alelopatia, em alguns casos, permitem elaborar estratégias para maior sustentabilidade dos sistemas de produção agrícola, com menor consumo de agroquímicos.

Segundo Duke et al. (2000), os compostos naturais apresentam uma série de vantagens sobre os compostos sintéticos tradicionais, como maior solubilidade em água, menor toxicidade e menor meia vida. Muitos produtos secundários dos organismos vivos evoluíram em resposta às interações bióticas. Assim, eles são muito mais propensos a terem algum tipo de atividade biológica em baixas concentrações do que os compostos derivados de síntese química. Além disso, a atividade biológica muitas vezes pode ser usada pelos sítios moleculares de outros organismos, além daqueles que foram alvo no processo evolutivo.

Dias et al. (2005) relacionaram que a alelopatia propõe área de pesquisa importante, a qual permite buscar substâncias de origem vegetal, com atividade herbicida para propiciar alternativa ecologicamente benigna no cultivo de plantas para a indústria de fitoterápicos. De acordo com Pires e Oliveira (2001), uma vez que os aleloquímicos são comuns aos vegetais e comprovadamente tóxicos para as plantas, mas de ação seletiva, admite-se a possibilidade de, conhecida a estrutura química dos componentes ativos envolvidos, se obter a partir desses produtos, herbicidas com vantagens ecológicas dos produtos naturais.

A alelopatia é um fenômeno que ocorre largamente em comunidades de plantas; é o mecanismo por meio do qual determinadas plantas interferem no desenvolvimento de outras. Este comportamento pode se tornar, portanto, importante fator de manejo de culturas, pelo uso de plantas que exercem controle sobre determinadas espécies indesejadas, obtendo-se assim sistemas de cultivos mais produtivos (GOLDFARB, PIMENTEL e PIMENTEL, 2009).

Segundo Kruse, Strandberg e Strandberg (2000), as culturas alelopáticas podem ser usadas para controlar as plantas invasoras pela aplicação de resíduos e restos vegetais de culturas alelopáticas como coberturas e pelo uso de uma cultura alelopática em uma sequência rotativa, em que a cultura alelopática pode funcionar ao sufocar as plantas ou onde os resíduos são deixados a interferir com a população de plantas invasoras da próxima cultura.

A maior parte da área cultivada no Brasil utiliza o sistema plantio direto e isso facilita o manejo de plantas invasoras por meio da alelopatia, já que um dos requisitos básicos para o sistema é a presença de cobertura morta, na forma de resíduos vegetais. A cobertura morta funciona como camada isolante entre a atmosfera e o solo, alterando as condições de temperatura e umidade do solo e diminuindo suas amplitudes, além de liberar compostos aleloquímicos que inibem a germinação das sementes ou o desenvolvimento das plântulas

de determinadas espécies, conforme a cultura que forma essa cobertura morta (ALMEIDA, 1991; THEISEN e VIDAL, 1999).

O potencial alelopático dos cultivos de cobertura vegetal depende, além do tipo de resíduo vegetal que permanece sobre o solo, das plantas invasoras que nele se desenvolvem (WU et al., 1999). De acordo com Olibone et al. (2006), as substâncias químicas liberadas pelos resíduos vegetais deixados sobre a superfície do solo, como o que ocorre no sistema de semeadura direta, têm comportamento diferenciado em relação ao que ocorre pelo método de incorporação. Na incorporação, essas substâncias ficam diluídas no volume do solo correspondente à profundidade em que foram enterradas; já na semeadura direta, elas se ligam na camada superficial. Dessa forma, como a intensidade dos efeitos alelopáticos depende da concentração dos aleloquímicos, sua ação é mais pronunciada na semeadura direta. Além disso, a liberação desses produtos da cobertura morta é mais lenta, fazendo com que os efeitos perdurem por mais tempo (ALMEIDA, 1991).

Desta forma, sob o aspecto de controle das plantas invasoras, o importante não é ter grande volume de resíduos, mas sim que esses apresentem aleloquímicos prejudiciais às mesmas e que sejam liberados ao solo em concentrações suficientes para inibir o desenvolvimento das plantas invasoras (ALMEIDA, 1989).

Os resíduos vegetais da semeadura direta apresentam influência sobre as plantas invasoras (ERASMO et al., 2004; TREZZI e VIDAL, 2004; TOKURA e NÓBREGA, 2006; MORAES et al., 2010; MAULI et al., 2011). Com a decomposição da cobertura vegetal são liberados compostos alelopáticos, que podem inibir o desenvolvimento das plantas invasoras e culturas subsequentes (ALMEIDA, 1988).

### **3.3. Alelopatia e plantas medicinais**

Carvalho et al. (1996) ressaltaram a importância de estudos e da identificação de plantas com propriedades alelopáticas, tanto na utilização de cultivares agrícolas capazes de inibir plantas invasoras, quanto na determinação de práticas culturais e de manejos mais adequados.

A importância das plantas medicinais deve-se à contribuição dessas como fonte natural de fármacos e por proporcionarem chances de se obter molécula protótipo devido à diversidade de constituintes presentes (YUNES e CALIXTO, 2001). Entre a ampla variedade de efeito biológico que esses compostos químicos de origem natural podem oferecer, há um especial interesse focado nos metabólitos secundários, os quais apresentam importante papel na comunicação química entre organismos (MACÍAS et al., 2008). Muitos metabólitos secundários têm sido descobertos, e grande número tem sido avaliado quanto à sua atividade fitotóxica com a finalidade do desenvolvimento de pesticidas biorracionais,

considerada uma das áreas da alelopatia mais promissoras (MACÍAS et al., 2001; MANO, 2006).

Estudos que buscam avaliar a atividade alelopática de plantas medicinais têm apontado o potencial de espécies tais como: capim limão (*Cymbopogon citratus* Stapf.) e sabugueiro (*Sambucus australis* Cham & Schltdl.) que inibiram a germinação da guanxuma (*Sida rhombifolia* L.) (PICCOLO et al., 2007), carqueja (*Baccharis trimera* (Less) D.C.) e confrei (*Symphytum officinale* L.) proporcionaram menor porcentagem de emergência de plântulas de tiririca (*Cyperus rotundus* L.) (GAZIRI e CARVALHO, 2009), o falso-boldo (*Plectranthus barbatus* Andrews) reduziu o desenvolvimento de sementes de picão-preto (*Bidens pilosa* L.) e alface (*Lactuca sativa* L.) (AZAMBUJA et al., 2010); enquanto o extrato de leiteiro (*Tabernaemontana catharinensis* A. DC.) inibiu a porcentagem de germinação de *B. pilosa* (ALVES et al., 2011).

Para Saito (2004), as plantas medicinais que apresentam em sua composição óleos essenciais, normalmente, têm-se identificado como promissoras no controle de plantas indesejadas. O potencial de controle de plantas por plantas medicinais com propriedades alelopáticas ainda é pouco explorado. Para o aproveitamento dessa característica, faz-se necessário o conhecimento da especificidade das relações alelopáticas entre as mesmas, sendo este um dos fatores que podem auxiliar como alternativa no controle das plantas infestantes (MANO, 2006).

A pesquisa fitoquímica tem por objetivos conhecer os constituintes químicos de espécies vegetais ou avaliar sua presença. Quando não se dispõe de estudos químicos sobre a espécie de interesse, a análise fitoquímica preliminar pode indicar os grupos de metabólitos secundários relevantes na mesma (FALKENBERG, SANTOS e SIMÕES, 2003).

A utilização de ensaios biológicos vegetais para o monitoramento da bioatividade de extratos, frações e compostos isolados de plantas tem sido frequentemente incorporada à identificação e ao monitoramento de substâncias potencialmente tóxicas. Inúmeros compostos químicos como ácidos fenólicos, cumarinas, terpenóides, flavonóides, alcalóides, glicídios, taninos e quinonas são encontrados na composição química dos vegetais. Esses podem desencadear efeitos benéficos ou maléficos sobre outros vegetais ou demais organismos (NOLDIN, MONACHE e YUNES, 2003).

O isolamento, a caracterização e a quantificação de substâncias com potencial alelopático são fundamentais para determinação de sua atividade biológica individual ou em conjunto com outras substâncias (TREZZI et al., 2005). As técnicas de isolamento e esclarecimento do modo de ação dos aleloquímicos têm sido utilizadas para o desenvolvimento de herbicidas naturais (IQBAL et al., 2003).

Uma das técnicas mais empregadas nos estudos de alelopatia envolve o preparo de extratos aquosos a partir de tecidos de plantas, observando a influência desses extratos na germinação e no crescimento das plântulas (INDERJIT e DAKSHINI, 1990). Para conhecer

a composição dos extratos e associar os efeitos, é necessário isolar e identificar a(s) substância(s) que acarreta(m) tais efeitos (INDERJIT e DEL MORAL, 1997), além de acompanhar as respostas durante as fases de extração, fracionamento, purificação e identificação dos compostos (LEATHER e EINHELLIG, 1986).

A preparação dos extratos brutos das plantas é o ponto de partida dessa etapa do isolamento e da purificação dos constituintes químicos fixos das plantas. A escolha do solvente para extração deve ser feita tendo-se em vista os objetivos do estudo e os resultados da abordagem. Solventes pouco polares (como éter de petróleo, hexano, benzeno) extraem da planta, mais facilmente, misturas de compostos de baixa polaridade e compostos polares pouco hidrofílicos. Compostos mais polares e hidrófilos são mais facilmente extraídos com etanol ou metanol (MATOS, 2009).

Segundo Sonaglio et al. (2003), a água é, sem dúvida, um dos líquidos extratores mais importantes, a qual é utilizada na extração de substâncias hidrofílicas, como aminoácidos, açúcares, alcalóides na forma de sal, saponinas, heterosídeos flavonoídicos e mucilagens.

Quando não se conhece previamente o conteúdo do material a ser analisado costuma-se submeter o material vegetal a sucessivas extrações, com solventes de polaridade crescente, conseguindo-se uma extração fracionada, em que as diferentes frações contêm compostos de polaridade também crescentes (FALKENBERG, SANTOS e SIMÕES, 2003).

Óleos essenciais são líquidos aromáticos que evaporam quando expostos ao ar. São obtidos de várias partes vegetais, principalmente, por hidrodestilação. Constituem mistura de substâncias, são encontrados especialmente nas famílias Asteraceae, Lamiaceae, Lauraceae, Myrtaceae, Rutaceae e Apiaceae (ALONSO, 1998).

### **3.4. Família Lamiaceae**

A família Lamiaceae (Labiatae) apresenta cerca de 300 gêneros e aproximadamente 7500 espécies. No Brasil, ocorrem 26 gêneros e 350 espécies (SOUSA e LORENZI, 2005). São, em geral, herbáceas ou arbustivas, suas folhas apresentam odor intenso; as flores são bilabiadas, caracterizando a família. Alguns gêneros apresentam características medicinais e promovem seu uso na medicina popular, além de serem usadas também como condimentos, ornamentais e para extração de óleos (JOLY, 2002).

Plantas da família Lamiaceae são cultivadas em todo o Planeta, principalmente para uso como ervas aromáticas e medicinais e, são amplamente estudadas como fontes de antioxidantes naturais, uma vez que são enriquecidas em polifenóis. A sua potente bioatividade e relativamente baixa toxicidade as tornaram ingredientes úteis

paracomplementar a medicina alternativa e como suplementos nutricionais (KONTOGIANNI, et al., 2013).

A família Lamiaceae é utilizada também na culinária. Na sua constituição química podem ser encontradas importantes substâncias que lhe conferem inúmeras atividades biológicas como antimicrobiana, anticárie e antiinflamatória. Dentre essas classes de compostos estão os taninos, triterpenos, diterpenos e óleo essencial rico em cineol, tujona, cânfora e borneol (LORENZI; MATTOS, 2002), rosmarínico, flavonóides, substância estrogênica e saponinas (SILVA et al., 1995; MARTINS et al., 2002).

A espécie cujo efeito alelopático será testado é a sálvia (*Salvia officinalis* L.), família Lamiaceae. É empregada na medicina popular para indigestão, cicatrizante, salivação e suor excessivo, feridas, piolhos, aftas e distúrbios da menopausa (PANIZZA, 2000).

Em relação à composição química o gênero *Salvia* apresenta cumarinas (LEE et al., 2011) polifenóis (COISIN et al., 2012). Extratos etanólicos de *S. officinalis* apresentaram na sua composição diterpenos, flavonóides e triterpenos. Foi verificada nesta espécie um elevado teor de compostos fenólicos, em maior quantidade ácido ursolínico e ácido oleanólico (KONTOGIANNI, et al., 2013). Coisin et al. (2012) identificaram flavonóides e compostos fenólicos em extratos metanólicos de nove espécies de *Salvia*, em que o composto dominante foi o ácido rosmarínico com valor mais alto para *S. officinalis* com 728,68 mg%, apresentando para esta espécie o teor mais alto também de compostos polifenólicos (ácido caféico) com 1,785 g% de massa seca. Os autores concluíram que a sálvia é a espécie mais valiosa em termos de teor de princípios biologicamente ativos em comparação com as outras espécies estudadas.

Segundo Cuvelier, Richard e Berset (1996), os solventes de extração mais utilizados e relatados para sálvia são água, metanol, etanol e acetona. A análise por HPLC revelou aproximadamente 50 compostos, divididos em três grupos principais: ácidos fenólicos, diterpenóides e flavonóides, resultando em extratos com ácido carnósico e rosmanol como componentes principais. Extratos aquosos de folhas secas de sálvia obtidos por infusão apresentaram como componentes principais o ácido rosmarínico e a luteolina-7-O-glicosídeo (ZIMMERMANN et al., 2011).

A composição do óleo essencial da *S. officinalis* varia significativamente, dependendo do genótipo, idade do órgão e fatores ambientais (fertilização, intensidade luminosa, condições climáticas, estações e local de cultivo (LAMIEN-MEDA et al., 2010).

Também é citada por seus efeitos alelopáticos em sementes e plântulas de alface (*Lactuca sativa* L.) (VIECELLI; CRUZ-SILVA, 2009), milho (*Zea mays* L.), tomate (*Solanum lycopersicum* L.) e girassol (*Helianthus annuus* L.) (SIMONETO; CRUZ-SILVA, 2010). Observações de pesquisadores no Sul da Califórnia relataram que arbustos de várias espécies de *Salvia* liberam substâncias químicas para inibir o crescimento de plantas

próximas. Suas touceiras encontram-se normalmente circundadas por áreas nuas separando-as das áreas vizinhas gramadas (RICKLEFS, 2003).

A *Salvia leucophylla*, espécie do mesmo gênero, é uma erva do chaparral que apresenta monoterpenóides fitotóxicos, que são liberados por volatilização a partir das folhas. Esses compostos podem suprimir o crescimento de plantas vizinhas, resultando em áreas nuas com inibição da zona de crescimento normal (CHOU, 1999).

#### 4. REFERÊNCIAS GERAIS

ALMEIDA, F. S. A alelopatia e as plantas. Londrina: Iapar, 1988. 60p. (**Circular, 53**).

ALMEIDA, F. S. Controle de plantas daninhas em plantio direto. Londrina: IAPAR, 1991. 34p. (**Circular 67**).

ALONSO, J.R. **Tratado de fitomedicina**: bases clínicas y farmacológicas. Buenos Aires: ISIS, 1998. p.786-792.

ALVES, L.L.; OLIVEIRA, P.V.A.; FRANÇA, S.C.; ALVES, P.L.C.; PEREIRA, P.S. Atividade alelopática de extratos aquosos de plantas medicinais na germinação de *Lactuca sativa* L. e *Bidens pilosa* L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.13, n.3, p.328-336, 2011.

AZAMBUJA, N., HOFFMANN, C. E. F.; NEVES, L. A. S., GOULART, E. P. L. Potencial alelopático de *Plectranthus barbatus* Andrews na germinação de sementes de *Lactuca sativa* L. e de *Bidens pilosa* L. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v.9, n.1, p. 66-73, 2010.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – a review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n.2, p. 446 – 475, 2008.

BRATT, K. **Secondary plant metabolites as defense against herbivores and oxidative stress**. Dissertation for the Degree of doctor of Philosophy in organic chemistry – Uppsala University, 51p., 2000.

CARVALHO, G.J.; ANDRADE, L.A.B.; GOMIDE, M.; FIGUEIREDO, P.A.M. Potencialidades alelopáticas de folhas verdes de cana-de-açúcar em diferentes concentrações de matéria seca na germinação de sementes de alface. **Ciências**, Marília, v.5, n.2, p.19-24, 1996.

CHOU, C. Roles of allelopathy in plant biodiversity and sustainable agriculture. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.18, n.5, p.609-636, 1999.

COISIN, M.; NECULA, R.; GRIGORAȘ, V.; GILLE2, E.; ROSENHECH, E.; ZAMFIRACHE, M.M. Phytochemical evaluation of some *Salvia* species from Romanian flora. **Analele Științifice ale Universității „Al. I. Cuza” Iași s. II a. Biologie vegetală**, v.58, n.1, p.35-44, 2012.

CUVELIER, M. E.; RICHARD, H.; BERSSET, C. Antioxidative activity and phenolic composition of pilot-plant and commercial extracts of sage and rosemary. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.73, n.5, p.645–652, 1996.

DIAS, J.F.G.; CIRIO, G.M.; MIGUEL, M.D.; MIGUEL, O.G. Contribuição ao estudo alelopático de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss., Celastraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v.15, n.3, pp. 220-223, 2005.

DUKE, S.O.; DAYAN, F. E.; ROMAGNI, J. G.; RIMANDO, J. G. Natural products as sources of herbicides: current status and future trends. **Weed Research**, v. 40, p. 99-111, 2000.

EINHELLIG, F. A.; LEATHER, G.R. Potentials for exploiting allelopathy to enhance crop production. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 14, n.10, p. 1829-1844, 1988.

- EINHELLIG, F. A. Plant x plant allelopathy: biosynthesis and mechanism of action. In: Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal, 1995, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, p. 59-74, 1995.
- EINHELLIG, F. A. Interactions involving allelopathy in cropping systems. **Agronomy Journal**, Madison, v. 88, n. 6, p. 886-893, 1996.
- ERASMO, E. A. L.; AZEVEDO, W. R.; SARMENTO, R. A.; CUNHA, A. M.; GARCIA, S. L. R. Potencial de espécies utilizadas como adubo verde no manejo integrado de plantas daninhas. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 22, n. 3, p. 337-342, 2004.
- FALKENBERG, M. B.; SANTOS, R. I.; SIMÕES, C. M. O. Introdução a análise fitoquímica. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5 ed., Porto Alegre Florianópolis: UFRGS; UFSC, 2003. p.229-245.
- FERREIRA, A. G. Interferência: Competição e Alelopatia. In: Ferreira, A.G.; Borghetti, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 251-262.
- FERREIRA, A. G.; ÁQUILA, M. E. A Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v.12, edição especial, 2000.
- FITTER, A. Ecology. Making allelopathy respectable. **Science**, v. 301, n.5638, p.1337- 1338, 2003.
- GAZIRI, L. R. B.; CARVALHO, R. I. N. Efeito alelopático de carqueja, confrei e mil-folhas sobre o desenvolvimento da tiririca. **Revista Acadêmica, Ciências Agrárias e Ambiental**, Curitiba, v. 7, n. 1, p. 33-40, 2009.
- GELMINI, G. A.; FILHO, R. V.; NOVO, M. D. C. D. S. S.; ADORYAN, M. L. Resistência de biótipos de *Euphorbia Heterophylla* L. aos herbicidas inibidores da enzima ALS utilizados na cultura de soja. **Bragantia**, Campinas, v. 60, n. 2, p. 93-99, 2001.
- GERSHENZON, J. Metabolic costs of terpenoid accumulation in higher plants. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 20, n. 8, p. 1281-1383, 1994.
- GOLDFARB, M.; PIMENTEL, L. W.; PIMENTEL, N. W. Alelopatia: relações nos agroecossistemas. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v.3, n.1, p.23-28, fev. 2009.
- INDERJIT, M. A. U.; DAKSHINI, K. M. M. The nature of the interference potential of *Pluchea lanceolata* (DC) Clarke, C. B. (Asteraceae). **Plant and Soil**, Crawley, Australia, v. 122, p. 298-302, 1990.
- INDERJIT, M. A. U.; DEL MORAL, R. Is separating resource competition from allelopathy realistic? **Botanical Review**, Nova York, v. 63, p. 221-230, 1997.
- INDERJIT; DUKE, S. O. Ecophysiological aspects of allelopathy. **Planta**, v. 217, n. 4, p.529 - 539, 2003.
- IQBAL, Z.; HIRADATE, S.; NODA, A.; ISOJIMA, S.; FUJII, Y. Allelopathic activity of buckwheat: Isolation and characterization of phenolics. **Weed Science**, Georgia, v. 51, n.5, p. 657-662, 2003.
- JOLY, A.B. **Botânica: introdução a taxonomia vegetal**. São Paulo: Nacional, 2002. 777p.

- KONTOGIANNI, V. G.; TOMIC, G.; NIKOLIC, I.; NERANTZAKI, A. A.; SAYYAD, N.; STOSIC-GRUJICIC, S.; STOJANOVIC, I.; GEROTHANASSIS, I. P.; TZAKOS, A. G. Phytochemical profile of *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis* extracts and correlation to their antioxidant and anti-proliferative activity. **Food Chemistry**, v. 136, p. 120–129, 2013.
- KRUSE, M.; STRANDBERG, M.; STRANDBERG, B. Ecological effects of allelopathic plants. A review. Department of Terrestrial Ecology, Silkeborg: Denmark, Rep. n. 315, 2000. 66p.
- LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RiMa, 2000.
- LEATHER, G. R.; EINHELLIG, F. A. Bioassays in the study of allelopathy. *In*: PUTNAN, A. R.; TANG, C. S. **The science of allelopathy**. John Wiley and sons: New York, 1986. P. 133-145.
- LEE, C.J.; CHE, L.G.; CHANG, T.L.; KE, W.M.; LO, Y.F.; WANG, C.C. The correlation between skin-care effects and phytochemical contents in Lamiaceae plants. **Food Chemistry**, v.124, p.833–841, 2011.
- LORENZI, H; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: Nativas e exóticas**, Nova Odessa , SP, 521p. 2002.
- MACÍAS, F. A.; MOLINILLO, J.; GALINDO, J., VARELA, R.; SIMONET, A.; CASTELLANO, D. The use of allelopathic studies in the search for natural herbicides. **Journal of Crop Production**, v.4, p. 237-255, 2001.
- MACÍAS, F. A.; BASTIDAS-OLIVEROS, A.; MARIN, D.; CARRERA, C.; CHINCHILLA, N.; MOLINILLO, J. M. G. Planta biocommunicators: their phytotoxicity, degradation studies and potential use as herbicide models. **Phytochemistry Reviews**, Netherlands, v. 7, p. 179-194, 2008.
- MAIRESSE, L. A. S.; COSTA, E. C. **Contaminação ambiental pela agricultura e as novas perspectivas com a moderna biotecnologia**. Santa Maria: Orium, 2009. 159 p.
- MALHEIROS, A.; PERES, M. T. L. P. Alelopatia: Interações Químicas entre espécies. Chapecó: Argos: 2001. *In*: YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B. **Plantas medicinais sob a ótica da Química Medicinal Moderna**. Chapecó: Argos: 2001. p. 505-521.
- MANO, A. R. O. **Efeito alelopático do extrato aquoso de sementes de cumaru (*Amburana cearensis* s.) sobre a germinação de sementes, desenvolvimento e crescimento de plântulas de alface, picão-preto e carrapicho**. 2006. 102 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Área de concentração em Fitotecnia) – Universidade Federal do Ceará, 2006.
- MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. **Plantas medicinais**. Viçosa: Ed. UFV, 2002.
- MATOS, F. J. A. **Introdução a fitoquímica experimental**. 3 ed. Fortaleza: UFC, 2009. 150p.
- MAULI, M. M.; NÓBREGA, L. H. P.; ROSA, D. M.; LIMA, G. L.; RALISH, R. Variation on the amount of winter cover crops residues on weeds incidence and soil seed bank during an agricultural year. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v.54, n.4, p. 683-690, 2011.
- MORAES, P. V. D.; AGOSTINETTO, D.; PANOZZO, L. E., BRANDOLT, R. R.; TIRONI, S. P.; OLIVEIRA, C.; MARKUS, C. Efeito alelopático de plantas de cobertura, na superfície ou

incorporadas ao solo, no controle de picão-preto. **Revista da FZVA**, Uruguaiana, v.17, n.1, p. 51-67, 2010.

NOLDIN, V.F.; MONACHE, F.D.; YUNES, R.A.; Composição química e atividade biológica de *Cynara scolymus* L. cultivada no Brasil. **Química Nova**, São Paulo. v. 26, n.3, p.331-334, 2003.

ODUM, E. P. **Ecologia**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 1988.

OLIBONE, D.; CALONEGO, J. C.; PAVINATO, P. S.; ROSOLEM, C. A. Crescimento inicial da soja sob efeito de resíduos de sorgo. **Planta Daninha**, Viçosa, v.24, n.2, p. 255-261, 2006.

ORCUTT, D.M.; NILSEN, E.T. **Physiology of plant under stress: soil and biotic factors**. Wiley, New York, 2000.

PANIZZA, S. **Plantas que curam: cheiro de mato**. São Paulo: Ibrasa, 2000. 279p.

PICCOLO, G.; ROSA, D. M.; MARQUES, D. S.; MAULI, M. M.; FORTES, A. M. T. Efeito alelopático de capim limão e sabugueiro sobre a germinação de guanxuma. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 28, n. 3, p. 381-386, 2007.

PIRES, N. M.; OLIVEIRA, V. R. Alelopatia. (Cap. 5). In: OLIVEIRA, R. S.; CONSTANTIN, J. **Plantas daninhas e seu manejo**. Agropecuária, Guaíba, 2001. p. 145-185.

PRATES, H.T.; PAES, J.M.V.; PIRES, N.M.; PEREIRA, I.A.; MAGALHÃES, P.C. Efeito do extrato aquoso de leucena na germinação e no desenvolvimento do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, n.1, p.909-914, 2001.

REIGOSA, M. J.; MOREIRAS-SANCHEZ, A.; GONZALEZ, L. Ecophysiological approach in allelopathy. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.18, n.5, p.577-608, 1999.

RIBEIRO, J. P. N.; LIMA, M. I. S. Potencial alelopático de *Crinum americanum* L. sob diferentes condições de extração. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 2, p. 465-472, 2011.

RICE, E.L. **Allelopathy**. New York: Academic Press, 1984. 422p.

RICKLEFS, R. E. **A economia da natureza**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.

SAITO, L.M. **As plantas praguicidas: alternativa para o controle de pragas da agricultura**. Embrapa:Meio ambiente. Jaguariúna, 2004.

SILVA, I.; FRANCO, S. L.; MOLINARI, S. L.; CONEGERO, C. I.; NETO, M. H. M.; CARDOSO, M. L. C.; SANT'ANA, D. M. G.; IWANKO, N. S. **Noções sobre o organismo humano e utilização de plantas medicinais**. 4. ed. Cascavel: Assoeste, 1995.

SIMONETO, E. L.; CRUZ-SILVA, C. T. A. Alelopatia de sálvia sobre a germinação e o desenvolvimento do milho, tomate e girassol. **Cultivando o Saber**, Cascavel, Paraná, v.3, n.3, p.48-56, 2010.

SINGH, H. P.; BATISH, D. R.; KOHLI, R. K. Allelopathic interactions and allelochemicals: New possibilities for sustainable weed management. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.22, n. 3&4, p.239-311, 2003.

SONAGLIO, D.; ORTEGA, G. G.; PETROVICK, P. R.; BASSANI, V. L. Desenvolvimento tecnológico e produção de fitoterápicos. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5 ed., Porto Alegre Florianópolis: UFRGS; UFSC, 2003. p.289-326.

SOUSA, V.C.; LORENZI, H. Botânica sistemática. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda. 2005. 640p.

SOUZA-FILHO, A. P. S.; GUILHON, G. M. S. P.; SANTOS, L. S. Metodologias empregadas em estudos de avaliação da atividade alelopática em condições de laboratório – Revisão crítica. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 28, n. 3, p. 689- 697, 2010.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**. 4.ed. Sinauer Associates: Sunderland, Massachusetts, 794p. 2006.

THEISEN, G.; VIDAL, R. A. Efeito da cobertura do solo com resíduos de aveia preta nas etapas do ciclo de vida do capim marmelada. **Planta Daninha**, Viçosa, v.17, n.2, p.189-96, 1999.

TOKURA, L. K.; NÓBREGA, L. H. P. Alelopatia de cultivos de cobertura vegetal sobre plantas infestantes. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v.28, n.3, p.379-384, 2006.

TREZZI, M. M.; VIDAL, R. A. Potencial de utilização de cobertura vegetal de sorgo e milho na supressão de plantas daninhas em condição de campo: II – efeitos da cobertura morta. **Planta Daninha**, Viçosa, v.22, n.1, p.1-10, 2004.

TREZZI, M. M.; VIDAL, R. A.; PERALBA, M. C. R.; DICK, D. P.; KRUSE, N. D. Purificação e identificação de sorgoleone e sua quantificação em genótipos de sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench). **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 15, p. 105-112, 2005.

VIECELLI, A. C.; CRUZ-SILVA, C. A. T. Efeito da variação sazonal no potencial alelopático de Sálvia. **Semina: Ciências agrárias**, Londrina, v.30, n.1, p.39-46, 2009.

WALLER, G. R. Introduction. In: MACIAS, F.A.; GALINDO, J.C.G.; MOLINILLO, J.M.G. & CUTLER, H.G. (Eds.) **Recent advances in allelopathy**. Cadiz, Serv. Pub. Univ. Cadiz, 1999. v.1, sem página.

WU, H.; PRATLEY, J.; LEMERLE, D.; HAIG, T. Crop cultivars with allelopathic capability. **Weed Research**, New York, v.39, n.3, p.171–180,1999.

YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna**. Chapecó, Argos. 2001.120p.

ZIMMERMANN, B. F.; WALCH, S. G.; TINZOH, L. N.; STÜHLINGER, W.; LACHENMEIER, D. W. Rapid UHPLC determination of polyphenols in aqueous infusions of *Salvia officinalis* L. (sage tea). **Journal of Chromatography B. Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 879, n.24, p.2459–2464, 2011.

## 5. ARTIGOS

### 5.1. ARTIGO 1 – Análise fitoquímica, atividade antioxidante e fitotóxica de extratos com polaridade crescente de folhas de *Salvia officinalis* L.

(Acta Scientiarum. Agronomy – Anexo I).

#### RESUMO

A composição fitoquímica, atividade antioxidante e fitotóxica da sálvia, foi avaliada sobre a germinação e o crescimento de tomate, capim mombaça e chia. As folhas secas foram embebidas usando os solventes hexano, acetato de etila, acetona e metanol. Esses passaram por reações de caracterização fitoquímica. A atividade antioxidante foi medida pela eliminação de radicais livres DPPH. Os testes fitotóxicos utilizaram extratos na concentração de 1%. A análise fitoquímica indicou a presença de taninos, saponinas, flavonóides e triterpenóides nos extratos. Os extratos acetônico e metanólico apresentaram maior atividade antioxidante. Todos os extratos influenciaram negativamente os parâmetros germinativos do tomate e os produzidos com hexano e acetato de etila reduziram o crescimento da parte aérea. O extrato acetônico não apresentou efeito sobre os parâmetros germinativos de capim mombaça, enquanto os demais inibiram as respostas e, o extrato hexânico reduziu o crescimento da plântula. As sementes de chia tiveram a germinação inibida pelo extrato hexânico. Entretanto, os demais parâmetros germinativos foram afetados pelos demais extratos, sem efeito sobre o crescimento. Os extratos apresentaram maior fitotoxicidade para os parâmetros germinativos do que para o crescimento das plântulas. O efeito variou em função da espécie alvo e do solvente utilizado para preparo do extrato.

**Palavras-chave:** alelopatia, crescimento, DPPH, germinação, fitotoxicidade, sálvia.

**Phytochemical analysis, antioxidant and phytotoxic activity of extracts with increasing polarity of *Salvia officinalis* L. leaves**

#### ABSTRACT

Phytochemical composition, antioxidant and phytotoxic activities of sage were evaluated on germination and growth of tomato, guinea grass and chia plants. The dried leaves were soaked

35 onhexane, ethyl acetate, acetone and methanol solvents. Extracts were submitted to reactions  
36 of phytochemical characterization. Antioxidant activity was measured by free DPPH  
37 radical scavenging. Phytotoxic tests used extracts at 1% concentration. Phytochemical analysis  
38 revealed the occurrence of tannins, flavonoids, saponins and triterpenoids on extracts.  
39 Acetone and methanolic extracts exhibited high antioxidant activity. All extracts influenced  
40 negatively germination parameters of tomato and the extracts produced with hexane and ethyl  
41 acetate, consequently there was a reduction on tomato shoot growth. The acetone extract had  
42 no effect on guinea grass germination, while the others inhibited responses as well as hexane  
43 extract reduced seedlings growth. Hexane extract inhibited the germination of chia seeds.  
44 However, the other germination parameters were negatively affected by the other extracts  
45 without any effect on growth. Extracts showed better phytotoxicity to germination parameters  
46 when compared to theseedling growth. The effect varied according to the target specie and the  
47 solvent used to prepare the extract.

48

49 **Keywords:** allelopathy, DPPH scavenging, germination, growth, phytotoxicity, sage.

50

## 51 **Introdução**

52

53 A alelopatia é a capacidade que as plantas apresentam em produzir substâncias  
54 químicas, as quais, quando liberadas no ambiente, influenciam de forma favorável ou  
55 desfavorável o desenvolvimento de outras plantas, incluindo microrganismos (Rice, 1984). Os  
56 compostos químicos são metabólitos secundários denominados aleloquímicos e são capazes  
57 de agir como pesticidas naturais. Podem resolver problemas associados à resistência em  
58 biótipos de pragas e à poluição do solo e do meio ambiente, causada pelo uso indiscriminado  
59 dos agroquímicos sintéticos. Esses podem ser explorados de forma rentável em diferentes  
60 aspectos, como plantas de cobertura, resíduos vegetais, consórcios ou adubos verdes ou em  
61 sequências de rotação. Podem combater estresses bióticos como infestação de plantas  
62 invasoras, insetos pragas e patógenos e, em adição, aumentar a fertilidade e matéria orgânica  
63 do solo, por conseguinte, reduzem a erosão do solo e melhoram o cultivo (Farooq et al, 2011).

64 Todas as plantas produzem metabólitos secundários, que variam em qualidade e  
65 quantidade de espécie para espécie, até mesmo a quantidade do metabólito de um local de  
66 ocorrência, ou ciclo de cultivo para outro. As espécies de plantas respondem de forma  
67 diferente à presença de aleloquímicos, assim contribuem para a seletividade da espécie  
68 (Inderjit & Duke, 2003; Ferreira & Áquila, 2000). A produção, o armazenamento e a

69 liberação de aleloquímicos são mecanismos-chave que influenciam as plantas. Tipos de  
70 estresse, abióticos e bióticos podem alterar a produção e a liberação de aleloquímicos durante  
71 o ciclo vital das plantas. Seca, irradiação, temperatura, limitação de nutrientes, competição,  
72 doenças e danos causados por insetos têm sido apontados como fatores que podem causar  
73 aumento da liberação de aleloquímicos de plantas alelopáticas. Em condições naturais, o  
74 efeito alelopático pode resultar de efeitos interativos entre vários compostos e agir aditiva ou  
75 sinergisticamente para inibir o crescimento (Albuquerque et al., 2011 & Inderjit et al., 2011).

76 Segundo Souza Filho, Guilhon e Santos (2010), um dos aspectos que mais exercem  
77 influência nos resultados dos bioensaios de alelopatia é a planta receptora. Os autores  
78 relataram que geralmente se utiliza uma única espécie, o que pode induzir a erros, pois pode  
79 levar a superestimar a atividade fitotóxica. O uso de mais de uma espécie permite melhor  
80 dimensionar as reais potencialidades alelopáticas das espécies doadoras, do que simplesmente  
81 utilizar uma única espécie, além de possibilitar inferências mais amplas e mais próximas da  
82 realidade.

83 Plantas medicinais contribuem como fonte natural de fármacos por causa da  
84 diversidade de constituintes em sua composição. Muitas substâncias químicas presentes nas  
85 plantas medicinais podem levar ao surgimento de efeito alelopático. Estudos buscam avaliar a  
86 atividade alelopática de extratos de plantas medicinais sobre o desenvolvimento de plantas  
87 invasoras e têm apontado o potencial no controle dessas plantas (Piccolo et al., 2007;  
88 Azambuja et al., 2010 & Alves et al., 2011). Muitos herbicidas sintéticos são usados para  
89 controlar espécies de plantas invasoras na agricultura moderna. Entretanto, o uso consecutivo  
90 do mesmo herbicida pode causar resistência à planta, danos a diversos ecossistemas e ao meio  
91 ambiente (Choi et al., 2012).

92 O gênero *Salvia*, com aproximadamente 900 espécies, é um dos mais difundidos  
93 membros da família Lamiaceae. Apresenta amplo número de metabólitos secundários, com  
94 vários grupos químicos, tais como: óleos essenciais, terpenóides e compostos fenólicos  
95 (Çadirci et al., 2012). No Brasil, o gênero apresenta 68 espécies, distribuídas nas regiões Sul,  
96 Sudeste, Centro-Oeste e Nordeste. A *Salvia officinalis* é uma espécie cultivada (Santos,  
97 2014).

98 As atividades biológicas presentes nesse gênero incluem: antisséptica, antibacteriana,  
99 antiinflamatória, antioxidante, antidiarreica. Citada por prevenir e curar doenças como:  
100 obesidade, diabetes, depressão, demência, lúpus, autismo, doenças cardíacas, câncer e alívio  
101 de sintomas da menopausa, com maior parte dos estudos para *Salvia officinalis* L.  
102 (Hamidpour et al., 2014). Segundo Haghghat, Alizadeh e Nouroznejadfar (2012), essa

103 diferença de atividades biológicas pode ser de certa forma explicada pela variação na sua  
104 composição química.

105 Extratos aquosos de *Salvia officinalis* foram citados como efetivos no tratamento de  
106 sementes de tomate, reduzindo totalmente a bactéria *Xanthomonas perforans* em bioensaios *in*  
107 *vitro*. Também inibiram os sintomas e a incidência da mancha bacteriana em plântulas de  
108 tomate, sem afetar o crescimento das mesmas (Mbega et al., 2012).

109 Assim, o presente estudo buscou avaliar a composição fitoquímica, a atividade  
110 antioxidante e o potencial alelopático de folhas secas de sálvia (*Salvia officinalis* L.) sobre a  
111 germinação e o crescimento de tomate cereja (*Lycopersicon esculentum* Mill. var.  
112 Cerasiforme Alef.), capim mombaça (*Panicum maximum* Jacq. var. Mombaça) e chia (*Salvia*  
113 *hispanica* L.).

114

## 115 **Material e Métodos**

116

### 117 **Coleta do material e preparo do extrato**

118

119 As folhas de sálvia foram adquiridas no comércio, em Cascavel, Paraná, Brasil, já  
120 secas, sendo trituradas em moinho tipo Willey, produzindo um pó que foi acondicionado em  
121 embalagem plástica até sua utilização. O material moído (1 kg) foi embebido em temperatura  
122 ambiente usando solventes de polaridade crescente. Aproximadamente 4 L de hexano, acetato  
123 de etila, acetona e metanol, sequencialmente, os quais permaneceram 48 horas em cada  
124 solvente, seguida de filtração a vácuo utilizando-se rota-vapor Buchi e depois secas.

125

### 126 **Análise fitoquímica**

127

128 Os extratos foram submetidos a uma série de reações de caracterização fitoquímica.  
129 Os principais compostos do metabolismo secundário foram detectados de acordo com a  
130 metodologia desenvolvida por Matos (2009). Foram eles: taninos, alcalóides, cumarinas,  
131 saponinas, antocianinas, antocianidinas, flavonóides, triterpenóides e esteróides. A presença  
132 ou ausência dos grupos químicos e de alguns compostos foi verificada a partir da observação  
133 da reação característica esperada, cujo resultado positivo indicou a presença ou ausência.

134

### 135 **Atividade antioxidante**

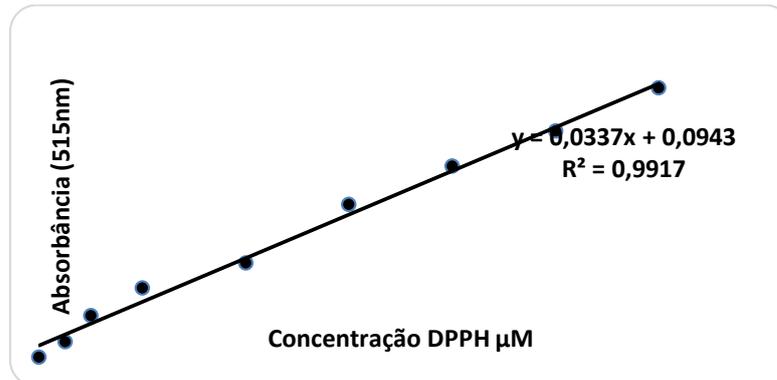
136

137 A mensuração da atividade de eliminação de radicais livres DPPH (2,2-difenil-1-  
138 picril-hidrazil) foi avaliada como descrito por Scherer e Godoy (2009) e Rufino et al. (2007),  
139 com modificações. Para a análise, 0,1 mL dos extratos diluídos (100 mg mL<sup>-1</sup>) foi adicionado  
140 em tubos de ensaio que continham 3,9 mL do radical DPPH (0,2 mM) diluído em metanol e  
141 homogeneizados em agitador de tubos. Para o controle, foi utilizado 0,1 mL de solução  
142 controle (álcool metílico, acetona e água) com 3,9 mL do radical DPPH e homogeneizados.  
143 Como branco, foi utilizado álcool metílico, a fim de calibrar o espectrofotômetro (UV mini-  
144 1240, Shimadzu Co.). As misturas foram incubadas na ausência de luz, à temperatura  
145 ambiente, até a medição. Subsequentemente, as absorvâncias foram medidas com  
146 espectrofotômetro a 515 nm e monitoradas a cada 30 minutos, até a estabilização.

147 O índice DPPH foi calculado a partir da equação Atividade antioxidante (%) = [(Abs<sub>0</sub> -  
148 Abs<sub>1</sub>) / Abs<sub>0</sub>] × 100, em que Abs<sub>0</sub> é a absorvância do branco, e Abs<sub>1</sub> é a absorvância da  
149 amostra.

150 As concentrações dos extratos responsáveis pela diminuição de 50% da atividade  
151 inicial do radical livre de DPPH (EC<sub>50</sub>) foram calculadas a partir de uma equação de reta  
152 obtida por regressão linear para a atividade antioxidante (Figura 1.1).

153



154

155 **Figura 1.1.** Curva padrão do DPPH.

156

### 157 **Bioensaios de germinação**

158

159 Bioensaios de germinação foram conduzidos com o tomate, capim mombaça e chia,  
160 como espécies-alvo, para avaliar os extratos obtidos das folhas secas de sálvia. Os tratamentos  
161 incluíram extratos hexânico, acetato de etila, acetônico e metanólico na concentração de 1%.  
162 Como controle negativo foram utilizados solventes para extração e diluição dos extratos e  
163 como controle positivo, água destilada.

164 Quatro repetições de 25 sementes para cada espécie foram semeadas em placa de Petri  
165 (9,0 cm de diâmetro) contendo duas folhas de papel filtro. As sementes foram umedecidas  
166 com 3 mL dos extratos ou controles somente uma vez, em seguida, aguardou-se a evaporação  
167 completa do solvente. Após evaporação, foi adicionado o mesmo volume de solução de  
168 nistatina a 2% (antifúngico). As placas foram acondicionadas em câmara de germinação a  
169 25 °C, com fotoperíodo de 24 horas de luz.

170 O índice de velocidade de germinação (IVG), tempo médio (TM) e velocidade média  
171 (VM) de germinação foram determinados por contagens diárias do número de sementes  
172 germinadas. Foram consideradas sementes germinadas aquelas que apresentaram protrusão  
173 radicular de 2 mm de comprimento. O percentual de sementes germinadas foi calculado após  
174 sete dias de cultivo.

175

### 176 **Bioensaios de crescimento**

177

178 No bioensaio de crescimento, sementes de tomate, capim mombaça e chia foram  
179 semeadas nas mesmas condições adotadas para o teste de germinação. Cinco sementes pré-  
180 germinadas há três dias foram colocadas em placas de Petri forradas com duas folhas de papel  
181 filtro. Foram acrescidos 3 mL dos extratos avaliados, nas mesmas concentrações do bioensaio  
182 de germinação, sendo adicionados de uma só vez, aguardando a evaporação completa do  
183 solvente, com adição de solução de nistatina a 2%. O tempo de crescimento foi de 10 dias, e  
184 os comprimentos das partes aérea e radicular foram ao final (adaptado de Souza-Filho et al.,  
185 2009). O comprimento estabelecido da parte aérea foi a região de transição da raiz até a  
186 inserção dos cotilédones, e, o comprimento da raiz: região de transição da parte aérea até o  
187 ápice da raiz, medidos em centímetros (Viecelli & Cruz-Silva, 2009).

188

### 189 **Análise estatística**

190

191 O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com quatro extratos  
192 (hexano, acetona, acetato de etila e metanol) a 1% de concentração, um controle positivo  
193 (água) e os controles negativos (hexano, acetato de etila, acetona e metanol). Os dados foram  
194 previamente submetidos aos testes de normalidade (Shapiro-Wilk) e homocedasticidade  
195 (Bartlett) para análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de  
196 Tukey, a 5% de probabilidade, utilizando-se o software R (R Development Core Team, 2014).

197

198 **Resultados e Discussão**

199

200 **Análise fitoquímica e atividade antioxidante**

201

202 Os quatro extratos de sálvia avaliados não apresentaram resultados positivos para  
 203 alcalóides, cumarinas, antocianinas, antocianidinas e esteróides (Tabela 1.1). O extrato  
 204 hexânico apresentou triterpenóides na sua composição. O extrato obtido com acetado de etila  
 205 apresentou saponinas e triterpenóides. Os extratos acetônico e metanólico foram semelhantes  
 206 e os que apresentaram maior número de classes de substâncias, com taninos, saponinas,  
 207 flavonoides e triterpenóides. A quantidade de saponinas foi maior no extrato metanólico  
 208 quando comparado aos demais extratos.

209 De maneira geral, a presença dos metabólitos secundários encontrada na análise  
 210 fitoquímica está de acordo com Hamidpour et al. (2014), os quais descreveram que classes de  
 211 compostos constituintes da *Salvia officinalis* são taninos, triterpenos, diterpenos e óleo  
 212 essencial, flavonóides, substância estrogênica e saponinas.

213 Kontogianni et al. (2013) encontraram o ácido ursolínico e o ácido oleanolólico em  
 214 elevadas concentrações em extratos de sálvia usando hexano e acetato de etila como  
 215 solventes. Esses são classificados como triterpenóides, compostos que apresentaram reação  
 216 positiva para todos os extratos analisados neste trabalho, com maior concentração no extrato  
 217 hexânico. Os autores também relataram alto teor de compostos fenólicos e flavonóides,  
 218 entretanto, o conteúdo de flavonóides foi menor quando comparado aos compostos fenólicos.

219

220 **Tabela 1.1.** Análise fitoquímica dos extratos de folhas de *Salvia officinalis* L.

Metabólitos	Extratos			
	Hexano	Acetato de Etila	Acetona	Metanol
Taninos	-	-	+	+
Alcalóides	-	-	-	-
Cumarinas	-	-	-	-
Saponinas	-	+	++	+++
Antocianinas	-	-	-	-
Antocianidinas	-	-	-	-
Flavonóides	-	-	+	+
Triterpenóides	++	+	+	+
Esteroides	-	-	-	-

221 -: ausência; +: concentração baixa, ++: concentração moderada; +++: concentração elevada

222 Diferente do observado neste trabalho, que acusou ausência de cumarinas nos extratos,  
 223 Lee et al. (2011) relataram elevada quantidade de cumarinas em extratos de três acessos de  
 224 sálvia, utilizando acetona 70% como solvente e após evaporação ressuspensos em DMSO  
 225 10%. Os autores destacaram, a partir da análise fitoquímica, que essas espécies se mostraram  
 226 ricas em compostos fenólicos e cumarinas, mas que solventes de polaridades diferentes  
 227 podem influenciar o teor de polifenóis.

228 Os extratos de acetona e metanol apresentaram forte atividade antioxidante (84,42%)  
 229 em relação à capacidade de sequestro do radical DPPH, com diferença estatística significativa  
 230 quando comparado aos extratos obtidos com acetato de etila (66,76%) e hexano (5,53%). A  
 231 atividade oxidante não foi detectada para o extrato hexânico, o qual também diferiu do extrato  
 232 de acetato de etila (Tabela 1.2). Ambos os extratos, com atividade antioxidante, apresentaram  
 233 flavonoides na análise fitoquímica, composto classificado como polifenol. Segundo Trabelsi  
 234 et al. (2010), sistemas de extração de solvente com polaridades diferentes diferem  
 235 significativamente quanto à capacidade de extração e seletividade para conteúdo de compostos  
 236 fenólicos e atividade antioxidante. Concluindo-se que, extratos obtidos com solventes mais  
 237 polares são mais eficazes que os menos polares. A adição de 20% de água em metanol,  
 238 acetona ou etanol pode aumentar o poder de extração e atividade antioxidante estimada  
 239 especialmente para acetona. Portanto, acetona / água (8: 2) parece ser o solvente mais  
 240 recomendado para extração de compostos fenólicos bem como a valorização da atividade de  
 241 antioxidante.

242

243 **Tabela 1.2.** Índice de DPPH (% sequestro) e EC<sub>50</sub> dos extratos de polaridade crescente de *Salvia officinalis*.

Extratos	% sequestro DPPH	EC <sub>50</sub> µg mL <sup>-1</sup>
Hexano	5,53c	38,77a
Acetato de etila	66,76b	11,83b
Acetona	84,42a	4,06c
Metanol	84,42a	4,06c

244 Médias seguidas de letras diferentes na coluna indicam diferença estatística significativa pelo teste de Tukey a  
 245 5% de probabilidade.

246

247 O resultado expresso em EC<sub>50</sub> corresponde à quantidade necessária para diminuir a  
 248 concentração inicial de DPPH em 50%. Os resultados variaram de 4,06 a 38,77 µg mL<sup>-1</sup> e  
 249 apresentaram o mesmo padrão observado para o sequestro de DPPH, com melhores resultados  
 250 para os extratos acetônico e metanólico (4,06 µg mL<sup>-1</sup>), seguidos do acetato de etila  
 251 (11,83 µg mL<sup>-1</sup>), sem atividade para o extrato hexânico (38,77 µg mL<sup>-1</sup>). Quanto maior o

252 consumo de DPPH por uma amostra, menor a sua  $EC_{50}$ . Os extratos utilizando acetona e  
253 metanol como solvente apresentaram elevada atividade oxidante, quando se compara ao BHT  
254 (butil hidroxi tolueno), que é um antioxidante sintético por excelência em testes semelhantes,  
255 com os seguintes valores para  $EC_{50}$  5,37; 9,27; 9,5; 11,5 e porcentagens de sequestro de  
256 DPPH de 83,16 e 95,85% (Cansian et al., 2010; Sá et al., 2012; Weber et al., 2014; Pandini et  
257 al., 2015).

258 Koşar, Dorman e Hiltunen (2005) verificaram que extratos hidrometanólicos de *S.*  
259 *officinalis* foi um dos mais efetivos em sequestrar o radical DPPH, com  $EC_{50}$  similar ao BHT.  
260 Grzegorzcyk, Matkowski e Wysokińska (2007) testaram a ação antioxidante de extratos  
261 acetônicos e metanólicos de sálvia e observaram que o extrato acetônico foi mais efetivo no  
262 sequestro do radical DPPH do que o metanólico, com percentual de 81 e 72% para parte aérea  
263 “*in vivo*” e “*in vitro*”, respectivamente, do extrato metanólico. Diferente do observado neste  
264 trabalho, em que a capacidade de sequestro do radical DPPH foi a mesma e a mais eficiente  
265 para ambos os extratos. Na análise fitoquímica, esses extratos apresentaram o maior número  
266 de classes, entre elas, terpenos e flavonóides. Roman Junior et al. (2015) relataram que o  
267 ácido rosmarínico, juntamente com flavonóides e polifenóis presentes no extrato aquoso de *S.*  
268 *officinalis*, apresentam atividade antiulcerogênica que, provavelmente, resulta da atividade  
269 antioxidante. Tais moléculas são capazes de aumentar a atividade de enzimas antioxidantes  
270 como a superóxido dismutase, glutathione peroxidase e glutathione reductase, quelar íons ferro e  
271 cobre, inibir a reação de Fenton; interferir no transporte de elétrons e nas reações de  
272 oxirredução bem como reduzirem os radicais lipídicos.

273 Testes com extratos de sálvia obtidos com acetato de etila, acetona e metanol  
274 mostraram percentual de sequestro de DPPH semelhantes, 91,7; 92,6 e 92,3%,  
275 respectivamente (Miliauskasa, Venskutonisa & Van Beekb, 2004). Valores esses mais  
276 elevados que os encontrados neste trabalho e sem diferença para o extrato obtido com acetato  
277 de etila.

278 Antioxidantes são substâncias que retardam a velocidade da oxidação, a partir de um  
279 ou mais mecanismos, tais como inibição de radicais livres e complexação de metais, que são  
280 fatores que, em excesso, causam danos aos tecidos (Duarte-Almeida et al., 2006). Plantas que  
281 apresentam atividade antioxidante são de grande interesse, pois a presença de radicais livres  
282 está associada a diversos fatores como mutação do DNA, oxidação de proteína e peroxidação  
283 lipídica (Santos et al., 2010). Assim, pode-se correlacionar a presença de flavonóides nos  
284 extratos acetônico e metanólico de folhas de sálvia com a atividade antioxidante e sequestro  
285 do radical DPPH.

286 **Bioensaios de germinação e crescimento**

287

288 Ao longo de sete dias de cultivo, verifica-se que todos os parâmetros germinativos, das  
 289 três espécies utilizadas no bioensaio, foram influenciados pelos extratos de polaridade  
 290 crescente obtidos de folhas secas de sálvia (Tabelas 1.3, 1.4 e 1.5). Os solventes utilizados  
 291 como controle negativo não influenciaram as variáveis analisadas nas espécies estudadas.

292 Todos os extratos influenciaram o percentual de germinação do tomate e diferiram  
 293 significativamente dos controles. Na análise fitoquímica, todos os extratos apresentaram  
 294 triterpenóides na sua composição, com maior quantidade evidenciada no extrato hexânico. Os  
 295 extratos hexano 1% e metanol 1% apresentaram maior percentual de inibição da germinação e  
 296 reduziram em 46 e 58%, respectivamente, quando comparados ao controle positivo (água).  
 297 Esses também diferiram de forma significativa dos extratos acetato de etila e acetona, que  
 298 reduziram a germinação em 20 e 24%, respectivamente (Tabela 1.3).

299

300 **Tabela 1.3.** Parâmetros germinativos de *Lycopersicon esculentum* Mill. var. Cerasiforme submetidos a extratos  
 301 de polaridade crescente de *Salvia officinalis* L.

<i>Lycopersicon esculentum</i>						
Tratamentos	% G	IVG	TM	VM	CR	CPA
Controle	93a	7a	3,57c	0,30a	1,35a	1,85a
Hexano 0%	93a	8a	3,35c	0,31a	1,14a	1,63ab
Acetato 0%	92a	7a	3,66c	0,29a	1,31a	1,72a
Acetona 0%	88a	6a	3,97bc	0,26ab	1,40a	1,89a
Metanol 0%	92a	7a	3,40c	0,30a	1,15a	1,62ab
Hexano 1%	50c	2,4bc	5,44a	0,19c	0,97a	1,14c
Acetato 1%	74b	4b	4,72ab	0,21bc	1,15a	1,19bc
Acetona 1%	71b	3,7bc	4,99ab	0,26ab	1,14a	1,47abc
Metanol 1%	39c	2c	5,15a	0,20c	1,11a	1,71a
Média	77	5	4,25	0,25	1,19	1,58
Desvio padrão	21	2	1,04	0,06	0,21	0,30
CV%	27,71	45,29	24,57	25,75	17,66	19,32

302 G: Porcentagem de germinação; IVG: índice de velocidade de germinação; TM: tempo médio; VM: média de  
 303 velocidade de germinação, CR: crescimento da raiz (cm) e CPA: crescimento da parte aérea (cm). CV%:  
 304 coeficiente de variação. Médias seguidas de letras diferentes na coluna indicam diferença estatística significativa  
 305 pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

306

307 Os demais parâmetros germinativos seguiram a mesma tendência, em que todos foram  
 308 influenciados negativamente pelos extratos comparados aos controles. O efeito mais  
 309 acentuado foi para as sementes de tomate, tratadas com os extratos hexânico e metanólico. Os

310 IVGs foram de 2,4; 4; 3,7 e 2 sementes germinadas por dia para as sementes de tomate  
311 submetidas aos extratos de hexano, acetato de etila, acetona e metanol, respectivamente,  
312 quando comparados às sete sementes germinadas quando utilizado a água. O tempo médio  
313 (TM) de germinação foi aumentado para as sementes tratadas com os extratos com média de  
314 5,1 dias, enquanto para os controles o tempo manteve-se com 3,6 dias. A velocidade média de  
315 germinação foi reduzida, evidenciando novamente o efeito negativo dos extratos.

316 O crescimento das raízes de plântulas de tomate não foi influenciado pelos extratos de  
317 polaridade crescente de folhas de sálvia quando comparados aos tratamentos controle. Os  
318 extratos utilizando hexano e acetato de etila como solventes inibiram o desenvolvimento da  
319 parte aérea quando comparado à água e ao extrato metanólico.

320 Extratos obtidos de folhas de sálvia reduziram a germinação e crescimento de tomate,  
321 principalmente na concentração mais elevada. Viecelli e Cruz-Silva (2009) observaram que  
322 extratos aquosos de folhas de sálvia, preparados sob diversas formas (com exceção à infusão)  
323 inibiram o crescimento da parte aérea de plântulas de alface (*Lactuca sativa* L.) na  
324 concentração mais elevada (30%), de acordo com a maioria das estações do ano.

325 Semelhantes ao observado neste trabalho, extratos aquosos de sálvia reduziram o  
326 percentual final e a taxa de germinação de beldroega (*Portulaca oleracea* L.) nas  
327 concentrações de 10, 15 e 20%. O índice de germinação também foi influenciado nas maiores  
328 concentrações (15 e 20%) (Pirzad et al., 2010). Os autores relataram também redução do  
329 crescimento da raiz, sem efeito sobre o desenvolvimento da parte aérea. Neste caso, com  
330 resultado contrário ao observado neste trabalho, em que os extratos reduziram o crescimento  
331 da parte aérea e não influenciaram a raiz.

332 Esse diferencial, com relação a inibir o desenvolvimento de um órgão e não apresentar  
333 efeito sobre outro, ou ainda, de ser contrário, foi relatado por Pelegrini e Cruz-Silva (2012),  
334 no qual extratos aquosos de falso-boldo (*Coleus barbatus*) estimularam o desenvolvimento da  
335 parte aérea e inibiram o crescimento radicular de alface (*Lactuca sativa*), na maior parte dos  
336 extratos testados.

337 Os extratos hexânico, acetato de etila e metanólico inibiram a germinação final de  
338 sementes de capim mombaça, em 68, 35 e 39%, respectivamente, comparado às sementes  
339 mantidas em água, diferindo significativamente dos controles (Tabela 1.4).

340

341

342 **Tabela 1.4.** Parâmetros germinativos de *Panicum maximum* Jacq. var. Mombaça submetidos a extratos de  
 343 polaridade crescente de *Salvia officinalis* L.

<i>Panicum maximum</i>						
Tratamentos	% G	IVG	TM	VM	CR	CPA
Controle	91a	10a	2,26cd	0,44a	3,2a	3,37ab
Hexano 0%	89a	10a	2,31bcd	0,44a	2,87ab	3,13ab
Acetato 0%	87a	10a	2,23cd	0,45a	2,44ab	2,98ab
Acetona 0%	88a	10a	2,30bcd	0,44a	2,89ab	3,24ab
Metanol 0%	90a	10a	2,20d	0,46a	2,45ab	3,38ab
Hexano 1%	29d	2,6c	3,01abc	0,33b	1,85b	2,43b
Acetato 1%	59bc	5,4bc	3,48 <sup>a</sup>	0,31b	2,68ab	2,81ab
Acetona 1%	85ab	7,8ab	3,10ab	0,35b	2,99a	3,35ab
Metanol 1%	55c	4,6c	3,60 <sup>a</sup>	0,29b	2,84ab	3,48a
Média	74	8	2,72	0,39	2,69	3,13
Desvio padrão	26	3	0,75	0,08	0,55	0,49
CV%	35,43	43,35	27,54	21,14	20,33	15,67

344 %G: Porcentagem de germinação; IVG: índice de velocidade de germinação; TM: tempo médio; VM: média de  
 345 velocidade de germinação; CR: crescimento da raiz (cm) e CPA: crescimento da parte aérea (cm). CV%:  
 346 coeficiente de variação. Médias seguidas de letras diferentes na coluna indicam diferença estatística significativa  
 347 pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.  
 348

349 Para o IVG, as diferenças estatísticas se mantiveram no mesmo padrão, em que o  
 350 extrato utilizando hexano, acetato de etila e metanol, como solvente, e promoveram 2,6; 5,4 e  
 351 4,6 plântulas germinadas por dia, valor abaixo da média dos solventes que foi de dez  
 352 plântulas. O tempo médio de germinação foi maior para as sementes tratadas com os extratos,  
 353 inclusive para as submetidas ao extrato acetônico bem como a velocidade média de  
 354 germinação, a qual foi menor para todos os extratos com diferença significativa quando  
 355 comparada aos controles.

356 O extrato hexânico de sálvia inibiu o crescimento da raiz do capim Mombaça quando  
 357 comparado ao controle, e o crescimento da parte aérea quando comparado ao extrato  
 358 metanólico. Hassannejad & Ghafarbi (2013) verificaram que extratos aquosos de sálvia  
 359 inibiram a germinação e o crescimento de plântulas de cuscuta (*Cuscuta campestris* Yunck.).  
 360 Entretanto, diferente do observado para as espécies avaliadas neste trabalho, os autores  
 361 relataram que o crescimento das plântulas foi mais sensível do que a germinação. Bajalan,  
 362 Zand e Rezaee (2013) e Bajalan et al. (2013) também observaram inibição da germinação, do  
 363 crescimento radicular e caulinar de plântulas de cevada (*Hordeum vulgare* L.), beldroega  
 364 (*Portulaca oleracea* L.), trigo (*Triticum aestivum* L.) e caruru (*Amaranthus retroflexus* L.)

365 quando expostas aos extratos aquosos de sálvia. Essas variáveis também foram inibidas pelo  
366 extrato aquoso de sálvia em tomate (Silva et al., 2015).

367 Para as sementes de chia, espécie do mesmo gênero da planta doadora, apenas o  
368 extrato hexânico influenciou o percentual de germinação, com diferença significativa quando  
369 comparado aos controles e aos demais extratos, com exceção ao extrato acetato de etila. O  
370 extrato produzido com hexano promoveu a redução da germinação de sementes de chia em  
371 47% quando comparado à água (Tabela 1.5).

372 Embora o percentual de germinação tenha sido influenciado apenas pelo extrato  
373 hexânico, os demais parâmetros germinativos foram afetados pelos demais extratos. O IVG  
374 apresentou redução em todos os extratos quando comparado aos tratamentos controle, com 5,  
375 9,14 e 10 plântulas desenvolvidas por dia para as sementes submetidas aos extratos hexânico,  
376 acetato de etila, acetona e metanol, respectivamente. As sementes germinadas em água  
377 apresentaram IVG de vinte (20) plântulas por dia.

378 O tempo médio de germinação foi aumentado para sementes germinadas nos extratos  
379 de hexano, acetato de etila e metanol quando comparados com o controle, em 3,49; 2,35 e  
380 2,39 dias, respectivamente. A velocidade de germinação foi menor também para esses  
381 extratos, a qual diferiu significativamente dos controles.

382

383 **Tabela 1.5.** Parâmetros germinativos de *Salvia hispanica* L. submetidos a extratos de polaridade crescente de  
384 *Salvia officinalis* L.

<i>Salvia hispanica</i>						
Tratamento	% G	IVG	TM	VM	CR	CPA
Controle	89a	20a	1,32d	0,77ab	4,25a	3,08a
Hexano 0%	76a	16ab	1,43bcd	0,71ab	3,89a	2,87a
Acetato 0%	88a	19a	1,37cd	0,74ab	4,49a	3,07a
Acetona 0%	85a	17ab	1,49bcd	0,69ab	3,45a	3,15a
Metanol 0%	90a	20a	1,29d	0,79a	4,40a	2,56a
Hexano 1%	47b	5d	3,49a	0,34d	3,45a	2,41a
Acetato 1%	70ab	9cd	2,35bc	0,37d	4,07a	2,46a
Acetona 1%	84a	14bc	1,77bcd	0,58bc	3,89a	2,80a
Metanol 1%	81a	10c	2,39b	0,45cd	3,93a	3,22a
Média	78	15	1,88	0,61	3,98	3,85
Desvio padrão	21	6	0,98	0,21	0,65	0,47
CV%	26,33	41,95	52,70	34,56	16,49	16,68

385 G: Porcentagem de germinação; IVG: índice de velocidade de germinação; TM: tempo médio; VM: média de  
386 velocidade de germinação; CR: crescimento da raiz (cm) e CPA: crescimento da parte aérea (cm). CV%:  
387 coeficiente de variação. Médias seguidas de letras diferentes na coluna indicam diferença estatística significativa  
388 pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

389 Ferreira e Áquila (2000) relataram que, muitas vezes, o efeito alelopático não atua  
390 sobre a germinabilidade (porcentagem final de germinação), mas sobre o índice de velocidade  
391 de germinação e/ou sobre o desenvolvimento das plantas, como observado neste trabalho para  
392 sementes de chia, no qual o IVG e demais parâmetros germinativos apresentaram-se mais  
393 sensíveis quando comparados à porcentagem de germinação desta espécie.

394 Kadioglu e Yanar (2004) testaram os extratos metanólicos de plantas e verificaram que  
395 a sálvia inibiu a germinação de sete de nove espécies de plantas testadas. Os efeitos variaram  
396 em intensidade de acordo com a espécie alvo, sendo mais acentuado em *Abutilon theophrastii*  
397 Medik e *Rumex crispus* L., com redução de 92 e 90% da germinação, respectivamente. Para  
398 *Trifolium repens* L., *Amaranthus retroflexus* L., *Lolium perene* L., *Conium maculatum* L. e  
399 *Avena sterilis* L., as respostas referentes à inibição foram de 67, 42, 38, 29 e 17%,  
400 respectivamente, quando comparadas ao tratamento controle. Das 22 espécies testadas como  
401 doadoras, a *S. officinalis* foi a que promoveu maior redução da germinação de *L. perene*. Não  
402 apresentou efeito para sementes de *Lepidium sativum* L. e estimulou a germinação em 67% de  
403 sementes de *Descurania sophia* (L.) Webb. Ex Prant.

404 O desenvolvimento das plântulas de chia não foi influenciado pelos extratos de sálvia,  
405 sem diferença significativa com os tratamentos controle. Desta forma, a chia se mostrou  
406 indiferente à presença dos extratos quando comparada às plântulas de tomate e capim  
407 mombaça, que foram influenciadas ao menos por um dos tipos de extrato, no  
408 desenvolvimento da raiz e ou da parte aérea.

409 Estudos com extrato aquoso de folhas de sálvia resultaram em inibição da germinação  
410 de tomate, redução do crescimento da raiz de tomate, milho (*Zea mays* (L.) Merrill) e girassol  
411 (*Helianthus annuus* L.) e redução do comprimento da parte aérea de plântulas de girassol de  
412 tomate, sem efeito para o milho (Simoneto e Cruz-Silva, 2010). Semelhante ao observado  
413 neste trabalho, em que os extratos apresentaram padrão diferenciado de acordo com a espécie  
414 e o solvente utilizado para preparo do extrato.

415 Matysiak, Kaczmarek e Kierzek (2014) também verificaram resposta diferenciada ao  
416 efeito da matéria seca de sálvia sobre a emergência e massa fresca de quatro espécies. A  
417 sálvia reduziu o número de sementes germinadas e a massa fresca de plantas da espécie  
418 *Brassica napus* var. *oleifera* (L.) cultivar *maximus*, sem influência para as espécies  
419 *Fagopyrum esculentum* (Moench), *Papaver somniferum* (L.) e *Brassica napus* var. *oleifera*  
420 (L.) cultivar *californium*, esta última da mesma espécie. Isso evidencia que as espécies  
421 respondem de forma diferente à planta doadora testada.

422 Ao se relacionar o efeito dos extratos sobre as três espécies estudadas, evidencia-se  
423 que os parâmetros germinativos foram influenciados nas três espécies, em todas as variáveis  
424 avaliadas, sendo mais suscetíveis aos extratos quando comparados ao crescimento da raiz e à  
425 parte aérea. Os extratos obtidos com hexano e metanol apresentaram maior redução do  
426 percentual de germinação e IVG quando testados sobre tomate e capim mombaça, sendo o  
427 extrato hexânico o único que inibiu a germinação de chia, espécie do mesmo gênero da sálvia.

428 Comparativamente, todos os extratos apresentaram triterpenóides na análise  
429 fitoquímica. Os extratos acetônico e metanólico apresentaram os mesmos grupos químicos,  
430 entretanto, o extrato metanólico mostrou efeito mais acentuado. Isso pode estar relacionado à  
431 maior quantidade de saponinas identificadas na prospecção fitoquímica inicial. Segundo Wink  
432 (2003), saponinas são compostos hidrofóbicos que interagem fortemente com biomembranas.  
433 Elas podem formar poros nas membranas e promover vazamento nas células; um amplo efeito  
434 citotóxico ou antimicrobiano é geralmente a consequência.

435 Associados à diversidade de grupos encontrados nos extratos acetônico e metanólico,  
436 os autores citados acima relataram que metabólitos secundários, geralmente, contêm mais do  
437 que um grupo funcional. Portanto, muitas vezes apresentam múltiplas funcionalidades e  
438 bioatividades. Além disso, uma vez que estão presentes em metabólitos secundários misturas  
439 complexas, que consistem em vários tipos estruturais, tais estratégias garantem interferência  
440 com mais de um alvo molecular e podem, assim, proteger contra uma grande variedade de  
441 inimigos. Mesmo que a interação individual de determinado metabólito possa ser não  
442 específica e fraca, a soma de todas as interações leva a um efeito substancial. Os compostos  
443 presentes em determinada planta são importantes para a aptidão da planta de produzi-los  
444 como defesa ou como sinal da presença de compostos, sendo considerados como  
445 características adaptativas que foram moldadas e modificados pela seleção natural durante a  
446 evolução.

447

## 448 **Conclusão**

449

450 A análise fitoquímica indicou a presença de taninos, saponinas, flavonóides e  
451 triterpenóides nos extratos. Os extratos acetônico e metanólico apresentaram melhor atividade  
452 antioxidante equivalente ao antioxidante sintético BHT. De forma geral, os extratos  
453 apresentaram melhores respostas alelopáticas para os parâmetros germinativos do que para o  
454 crescimento das plântulas. O efeito variou em função da espécie e do solvente utilizado para

455 preparo do extrato, cujo tomate é a espécie mais sensível e a chia a mais resistente ao efeito  
456 dos extratos.

457

#### 458 **Referências**

459 Albuquerque, M.B.; Santos, R.C.; Lima, L.M.; Melo Filho, P.A.; Nogueira, R.J.M.C.;  
460 Câmara, C.A.G. & Ramos, A.R. (2011). Allelopathy, an alternative tool to improve cropping  
461 systems. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 31(2), 379–395.

462 Alves, L.L.; Oliveira, P.V.A.; França, S.C.; Alves, P.L.C. & Pereira, P.S. (2011). Atividade  
463 alelopática de extratos aquosos de plantas medicinais na germinação de *Lactuca sativa* L. e  
464 *Bidens pilosa* L. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s, 13(3), 328-336.

465 Azambuja, N., Hoffmann, C. E. F.; Neves, L. A. S. & Goulart, E. P. L. (2010). Potencial  
466 alelopático de *Plectranthus barbatus* Andrews na germinação de sementes de *Lactuca sativa*  
467 L. e de *Bidens pilosa* L. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, 9(1), 66-73.

468 Bajalan, I.; Oregani, K.E.; Moezi, A.A. & Gholami, A. (2013). Allelopathic effects of  
469 aqueous extract from *Salvia officinalis* L. on seed germination of wheat and velvet  
470 flower. *Technical Journal of Engineering and Applied Sciences*, 3(6), 485-488.

471 Bajalan, I.; Zand, M. & Rezaee, S. (2013). Allelopathic effects of aqueous extract from *Salvia*  
472 *officinalis* L. on seed germination of barley and purslane. *International Journal of Agriculture*  
473 *and Crop Sciences*, 5(7), 802-805.

474 Çadirci, E.; Süleyman, H.; Gürbüz, P.; Kuruüzüm U.Z., A.; Güvenalp, Z. & Demirezer, L.O.  
475 (2012). Anti-inflammatory effects of different extracts from three *Salvia* species. *Turkish*  
476 *Journal of Biology*, 36(1), 59-64.

477 Cansian, R.L.; Mossi, A.J.; Oliveira, D.; Toniazzo, G.; Treichel, H.; Paroul, N. & Serafini,  
478 L.A. (2010). Atividade antimicrobiana e antioxidante do óleo essencial de ho-sho  
479 (*Cinnamomum camphora* Ness e Eberm Var. *Linaloolifera fujita*). *Ciência e Tecnologia de*  
480 *Alimentos*, 30(2), 378-384.

481 Choi, J.C.; Park, N.J.; Lim, H.K.; Ko, Y.K.; Kim, Y.S.; Ryu, S.Y. & Hwang, I.T. (2012).  
482 Plumbagin as a new natural herbicide candidate for *Sicyos angulatus* control agent with the  
483 target 8-amino 7-oxononanoate synthase. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 103(3), 66-  
484 172.

485 Duarte-Almeida, J.M.; Santos, R. J.; Genovese, M. I. & Lajolo, F.M. (2006). Avaliação da  
486 atividade antioxidante utilizando sistema beta-caroteno/ácido linoléico e método de sequestro  
487 de radicais DPPH. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 26 (2), 446-452.

- 488 Farooq, M.; Jabran, K.; Cheema, Z.A.; Wahid A. & Siddique, K.H.M. (2011). The role of  
489 allelopathy in agricultural pest management. *Pest Management Science*, 67(5), 493–506.
- 490 Ferreira, A. G. & Áquila, M. E. (2000). A Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia.  
491 *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, 12, 175-204.
- 492 Grzegorzczuk, I.; Matkowski, A. & Wysokińska, H. (2007). Antioxidant activity of extracts  
493 from in vitro cultures of *Salvia officinalis* L. *Food Chemistry*, 104(2), 536–541.
- 494 Haghghat, M. H.; Alizadeh, A. & Nouroznejad, M.J. (2012). Essential oil composition and  
495 antimicrobial activity in Iranian *Salvia mirzayanii* Rech. & Esfand. *Advances in*  
496 *Environmental Biology*, 6(7), 1985-1989.
- 497 Hamidpour, M.; Hamidpour, R.; Hamidpour, S. & Shahlari, M. (2014). Chemistry,  
498 pharmacology, and medicinal property of sage (*Salvia*) to prevent and cure illnesses such as  
499 obesity, diabetes, depression, dementia, lupus, autism, heart disease, and cancer. *Journal of*  
500 *Traditional and Complementary Medicine*, 4(2), 82-88.
- 501 Hassannejad, S. & Ghafarbi, S.P. (2013). Allelopathic effects of some Lamiaceae on seed  
502 germination and seedling growth of dodder (*Cuscuta campestris* Yunck.). *International*  
503 *Journal of Biosciences*, 3(3), 9-14.
- 504 Inderjit & Duke, S. O. (2003). Ecophysiological aspects of allelopathy. *Planta*, 217(4), 529 -  
505 539.
- 506 Inderjit; Wardle, D.A.; Karban, R.; & Callaway, R.M. (2011). The ecosystem and  
507 evolutionary contexts of allelopathy. *Trends in Ecology and Evolution*, 26(12), 655-662.
- 508 Kadioglu, I. & Yanar, Y. (2004). Allelopathic effects of plant extracts against seed  
509 germination of some weeds. *Asian Journal of Plant Sciences*, 3(4), 472-475.
- 510 Kontogianni, V. G.; Tomic, G.; Nikolic, I.; Nerantzaki, A. A.; Sayyad, N.; Stosic-Grujicic, S.;  
511 Stojanovic, I... Tzakos, A. G. (2013). Phytochemical profile of *Rosmarinus officinalis* and  
512 *Salvia officinalis* extracts and correlation to their antioxidant and anti-proliferative activity.  
513 *Food Chemistry*, 136(1), 120–129.
- 514 Koşar, M.; Dorman, H.J.D. & Hiltunen, R. (2005). Effect of an acid treatment on the  
515 phytochemical and antioxidant characteristics of extracts from selected Lamiaceae species.  
516 *Food Chemistry*, 91(3), 525–533.
- 517 Lee, C.J.; Che, L.G.; Chang, T.L.; Ke, W.M.; Lo, Y.F. & Wang, C.C. (2011). The correlation  
518 between skin-care effects and phytochemical contents in Lamiaceae plants. *Food Chemistry*,  
519 124(3), 833–841.
- 520 Matos, F. J. A. (2009). *Introdução a fitoquímica experimental*. 3 ed. Fortaleza: UFC.

- 521 Matysiak, K.; Kaczmarek, S. & Kierzek, R. (2014). Allelopathic effect of popular medicinal  
522 plants on *Fagopyrum esculentum* (Moench), *Papaver somniferum* (L.) and *Brassica napus*  
523 var. *Oleifera* (L.). *Journal of Medicinal Plant Research*, 8(33), 1051-1059.
- 524 Mbega, E.R; Mortensen, C.N.; Mabagala, R.B. & Wulff, E.G. (2012). The effect of plant  
525 extracts as seed treatments to control bacterial leaf spot of tomato in Tanzania. *Journal of*  
526 *General Plant Pathology*, 78(4), 277-286.
- 527 Miliauskasa, G.; Venskutonisa, P.R. & Van Beekb, T.A. (2004). Screening of radical  
528 scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*, 85(2),  
529 231-237.
- 530 Pandini, J.A.; Pinto, F.G.S.; Scur, M.C.; Alves, L.F.A. & Martins, C.C. (2015).  
531 Antimicrobial, insecticidal, and antioxidant activity of essential oil and extracts of *Guarea*  
532 *kunthiana* A. Juss. *Journal of Medicinal Plant Research*, 9(3), 48-55.
- 533 Pelegrini, L.L. & Cruz-Silva, C.T.A. (2012). Variação sazonal na alelopatia de extratos  
534 aquosos de *Coleus barbatus* (A.) Benth. sobre a germinação e o desenvolvimento de *Lactuca*  
535 *sativa* L. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 14(2), 376-382.
- 536 Piccolo, G.; Rosa, D. M.; Marques, D. S.; Mauli, M. M. & Fortes, A. M. T. (2007). Efeito  
537 alelopático de capim limão e sabugueiro sobre a germinação de guanxuma. *Semina: Ciências*  
538 *Agrárias*, 28(3), 381-386.
- 539 Pirzad, A.; Ghasemian, V.; Darvishzadeh, R.; Sedghi, M.; Hassani, A. & Onofri, A.  
540 (2010). Allelopathy of sage and white wormwood on purslane germination and seedling  
541 growth. *Notulae Scientia Biologicae*, 2(3), 91-95.
- 542 R Development Core Team. (2014). R: A language and environment for statistical computing.  
543 R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0. Available at  
544 < <http://www.R-project.org>>. Access on: 07 Feb. 2014.
- 545 Rice, E.L. (1984). *Allelopathy*. New York: Academic Press.
- 546 Roman Junior, W.A., Picolli, A.L., Morais, B., Loeblein, M., & Schönell, A.P. (2015).  
547 Atividade antiulcerogênica do extrato aquoso de *Salvia officinalis* L. (Lamiaceae). *Revista*  
548 *Brasileira de Plantas Mediciniais*, 17(4, Suppl. 1), 774-781.
- 549 Rufino, M.S.M; Alves, R.E.; Brito, E.S.; Morais, S.M.; Sampaio, C.G.; Pérez-Jiménes, J. &  
550 Saura-Calixto, F.D. (2007). Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante  
551 total em frutas pela captura do radical livre DPPH. *Comunicado Técnico*, 127, 1-4.
- 552 Sá, P.G.S; Guimarães, A.L; Oliveira, A.P.; Siqueira Filho, J.A.; Fontana, A.P.; Damasceno,  
553 P.K. & Almeida, J.R.G.S. (2012). Fenóis totais, flavonóides totais e atividade antioxidante de

- 554 *Selaginella convoluta* (Arn.) Spring (Selaginellaceae). *Revista de Ciências Farmacêutica*  
555 *Básica e Aplicada*, 33(4), 561-566.
- 556 Santos, P.M.L.; Japp, A.S.; Lima, L.G.; Schripsema, J.; Menezes, F.S. & Kuster, R.M. (2010).  
557 A atividade antioxidante dos extratos de folhas de Jacarandá puberula Cham., Bignoniaceae,  
558 uma planta medicinal brasileira usada para depuração do sangue. *Revista Brasileira de*  
559 *Farmacognosia*, 20(2):147-53.
- 560 Santos, E.P. *Salvia* in *Lista de Espécies da Flora do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de  
561 Janeiro. 2014. Available in: <<http://reflora.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB8296>>. Access  
562 on: 03 Jun. 2015.
- 563 Scherer, R. & Godoy, H.T. (2009). Antioxidant activity index (AAI) by 2,2-diphenyl-1-  
564 picrylhydrazyl method. *Food Chemistry*, 112(3), 654-658.
- 565 Silva, L.R.; Cruz-Silva, C.T.A.; Barros, N.A.T. & Olivetti, M.M.C. (2015). Alelopatia de  
566 espécies da família Lamiaceae sobre o desenvolvimento de alface. *Cultivando o Saber*, 8(1),  
567 59-73.
- 568 Simoneto, E.L. & Cruz-Silva, C.T.A. (2010). Alelopatia de sálvia sobre a germinação e o  
569 desenvolvimento do milho, tomate e girassol. *Cultivando o Saber*, 3(3), 48-56.
- 570 Souza-Filho, A.P.S.; Bayma, J.C.; Guilhon, G.M.S. & Zoghbi, M.G.B. (2009). Atividade  
571 potencialmente alelopática do óleo essencial de *Ocimum americanum*. *Planta Daninha*, 27(3),  
572 499-505.
- 573 Souza-Filho, A. P. S.; Guilhon, G. M. S. P. & Santos, L. S. (2010). Metodologias empregadas  
574 em estudos de avaliação da atividade alelopática em condições de laboratório – Revisão  
575 crítica. *Planta Daninha*, 28(3), 689- 697.
- 576 Trabelsi, N.; Megdiche, W.; Ksouri, R.; Falleh, H.; Oueslati, S.; Soumaya, B.; Hajlaoui, H. &  
577 Abdelly, C. (2010). Solvent effects on phenolic contents and biological activities of the  
578 halophyte *Limoniastrum monopetalum* leaves. *Food Science and Technology*, 43(4), 632–639.
- 579 Viecelli, C.A. & Cruz-Silva, C.T.A. (2009). Efeito da variação sazonal no potencial  
580 alelopático de Sálvia. *Semina: Ciências agrárias*, 30(1), 39-46.
- 581 Weber, L.D.; Pinto, F.G.S.; Scur, M.C.; Souza, J.G.L.; Costa, W.F. & Leite, C.W. (2014).  
582 Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activity of essential oil and various  
583 plant extracts from *Prunus myrtifolia* (L.) Urb. *Journal of Medicinal Plant Research*, 9(9),  
584 846-853.
- 585 Wink, M. (2003). Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular  
586 phylogenetic perspective. *Phytochemistry*, 64(1), 3-19.

## 5.2. ARTIGO 2 - Composição química, atividade antioxidante e alelopática do óleo essencial de *Salvia officinalis* L.

(Journal of Medicinal Plants Research – Anexo II)

Claudia Tatiana Araújo da Cruz-Silva<sup>1\*</sup>, Lúcia Helena Pereira Nóbrega<sup>1</sup>, Joseli Viviane Ditzel Nunes<sup>1</sup>, Fabiana Gisele da Silva Pinto<sup>2</sup>, Marina Roberta de Souza<sup>3</sup> and Willian Ferreira da Costa<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Post-graduation in Agricultural Engineering, Western Paraná State University (UNIOESTE), Cascavel, PR, Brazil. Corresponding author: claudia\_petsmart@hotmail.com

<sup>2</sup>Agricultural Biotechnology Laboratory, Western Paraná State University(UNIOESTE),Cascavel, PR, Brazil.

<sup>3</sup>Department of Chemistry, State University of Maringá, Maringá, PR, Brazil.

### RESUMO

A composição química, atividade antioxidante e o efeito alelopático do óleo essencial de folhas de *Salvia officinalis* L foram avaliados neste trabalho. O óleo foi obtido por hidrodestilação de folhas de sálvia e a composição foi determinada por cromatografia gasosa/espectrometria de massa. A atividade antioxidante foi medida pela eliminação de radicais livres DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil). O óleo essencial foi testado nas concentrações: 0, 100, 200, 400, 600, 800, 1000 e 2000 mg L<sup>-1</sup> (v/v), para avaliar o efeito alelopático na germinação de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), capim mombaça (*Panicum maximum* Jacq.) e chia (*Salvia hispanica* L.). Foram detectados vinte e oito (28) compostos (que corresponderam a 98,82% do óleo) e os majoritários foram: cânfora (27,59%), canfeno (23,70%),  $\alpha$ -pineno (13,75%),  $\beta$ -pineno (6,28%) e limoneno (5,38%). Monoterpenóides foram predominantes no óleo essencial (68%). O óleo apresentou 85,3% de capacidade de sequestro do radical DPPH e EC<sub>50</sub> de 3,67  $\mu$ g mL<sup>-1</sup>, caracterizando-o como um ótimo antioxidante. O percentual final de germinação das três espécies não foi inibido pelo óleo essencial de sálvia, nas concentrações testadas. Entretanto, o índice de velocidade, tempo e velocidade média de germinação foram influenciados de forma negativa na maioria das concentrações testadas, com diferença significativa quando comparados ao tratamento controle, para as sementes de tomate e chia. O mesmo comportamento não foi observado para sementes de capim mombaça. Deve ser destacado que as espécies botânicas respondem de forma diferenciada e muitas vezes o efeito alelopático não está sobre o percentual de germinação.

**Palavras-chave:** alelopatia, compostos voláteis, DPPH, germinação, sálvia.

## Chemical composition, antioxidant and allelopathic activities of *Salvia officinalis* L. essential oil

### ABSTRACT

This study evaluated the chemical composition, antioxidant and allelopathic activities of essential oil of *Salvia officinalis* L. The essential oil was obtained by hydrodistillation of leaves and its composition was determined using gas chromatography coupled to mass spectrometry. The antioxidant activity was measured using DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical scavenging activity. The essential oil was tested at concentrations of 0, 100, 200, 400, 600, 800, 1,000, and 2,000 mg L<sup>-1</sup> (v/v) to evaluate the allelopathic effect on germination of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.), guinea grass (*Panicum maximum* Jacq.), and chia (*Salvia hispanica* L.). Twenty-eight compounds were registered (corresponding to 98.82% essential oil). The majority of them were: camphor (27.59%), camphene (23.70%),  $\alpha$ -pinene (13.75%),  $\beta$ -pinene (6.28%), and limonene (5.38%). While, monoterpenes (68%) were predominant in this essential oil. There were 85.3% of DPPH radical scavenging activity and the IC<sub>50</sub> value was 3.67  $\mu$ g/mL<sup>-1</sup> in the essential oil composition, which characterized it as a great antioxidant. The final germination percentage of those three species was not inhibited by sage essential oil at tested concentrations. However, the germination speed index, time, and germination rate were adversely affected in most tested concentrations, with a significant difference in comparison with the control treatment for tomato and chia seeds. The same behavior was not observed for guinea grass seeds. It is worth noting that botanical species respond differently and many times there is no allelopathic effect on germination percentage.

**Keywords:** allelopathy, volatile compounds, DPPH scavenging, germination, sage.

### INTRODUÇÃO

Óleos essenciais são líquidos voláteis que se caracterizam por forte odor formado a partir do metabolismo secundário de plantas aromáticas. São misturas complexas naturais, geralmente obtidas por hidrodestilação que podem conter de 20 a 60 compostos, nas mais variadas concentrações (BAKKALI et al., 2008). Óleos essenciais são encontrados especialmente nas plantas das famílias Asteraceae, Lamiaceae, Lauraceae, Myrtaceae, Rutaceae e Apiaceae (ALONSO, 1998).

O múltiplo mecanismo de ação dos óleos essenciais, combinado com seu amplo espectro de atividade, fazem dos metabólitos secundários e das plantas aromáticas que os produzem material apropriado para ser utilizado no melhoramento do solo e controle de pragas como plantas invasoras, insetos, fungos, bactérias. O uso destas plantas e dos seus metabólitos na agricultura pode oferecer vantagens em função da sua origem natural. Esses são menos prejudiciais do que as substâncias

químicas sintéticas; sua volatilidade implica menos resíduo na produção ou no ambiente depois da aplicação e o composto natural apresentam vários mecanismos de ação que previnem o desenvolvimento de resistência a patógenos para todos os compostos presentes (CHALKOS et al., 2010). Geralmente apresentam baixa toxicidade, baixo custo e rápida degradação (MIRANDA et al., 2015).

A família Lamiaceae (Labiatae) apresenta cerca de 300 gêneros e aproximadamente 7500 espécies (SOUSA e LORENZI, 2005). Em geral são herbáceas ou arbustivas e as folhas apresentam odor intenso, flores bilabiadas que caracterizam a família. Alguns gêneros apresentam características medicinais e promovem seu uso na medicina popular. São usadas também como condimentos, ornamentais e para extração de óleos (JOLY, 2002), além de amplamente estudadas como fontes de antioxidantes naturais, uma vez que são ricas em polifenóis (KONTOGIANNI, et al., 2013).

Alguns representantes da família Lamiaceae foram citados pelo seu potencial alelopático, entre eles: a hortelã (*Mentha x villosa* Huds) inibiu a emergência da alface (*Lactuca sativa* L.) (MAIA et al., 2011) e cinco espécies desta família reduziram a germinação de cuscuta (*Cuscuta campestris* Yunck.) (HASSANNEJAD e GHAFARBI, 2013). Pesquisadores no Sul da Califórnia relataram que arbustos de várias espécies de *Salvia* liberam substâncias químicas para inibir o crescimento de plantas próximas (RICKLEFS, 2003).

O gênero *Salvia* L., com aproximadamente 900 espécies, é um dos mais difundidos membros da família Lamiaceae (ÇADIRCI et al., 2012). No Brasil, o gênero apresenta 68 espécies, distribuídas nas regiões Sul, Sudeste, Centro-oeste e Nordeste. A *Salvia officinalis* L. (sage) é uma espécie cultivada (SANTOS, 2014).

Extratos de *S. officinalis*, principalmente o óleo essencial, são amplamente usados na indústria de medicamentos, bebidas, cosméticos e fragrâncias (DARWISH, 2014). Existem muitos compostos químicos como flavonóides, terpenóides e óleo essencial. Os óleos essenciais apresentam atividade anticancerígena, antimicrobiana e antioxidante (HAMIDPOUR et al., 2013; MIRANDA et al., 2015) e apresentaram ação inseticida em *Thrips tabaci* Lindeman (KOSCHIER e SEDY, 2003), *Sitophilus*

*oryzae* L. (POPOVIĆA et al., 2006), *Tetranychus urticae* Konch (LABORDA et al., 2013), *Aedes aegypti* L. e *Anopheles quadrimaculatus* Say (ALI et al., 2015).

A *S. officinalis* é citada por seus efeitos alelopáticos em sementes e plântulas de alface (*Lactuca sativa* L.) (VIECELLI e CRUZ-SILVA, 2009). Seu óleo essencial inibiu a germinação e o crescimento radicular nas espécies agrião de jardim (*Lepidium sativum* L.), rabanete (*Raphanus sativus* L.) e alface (ALMEIDA et al., 2010).

Trabalhos indicam ampla variação na composição do óleo essencial da sálvia (PORTE et al., 2013; ALIZADEH e SAABANI, 2012; LAMIEN-MEDA et al., 2010; TOUNEKTI et al., 2010; BAYRAK e AKGUL, 1987). A variação na composição do óleo das espécies é algo comum, que é influenciada, principalmente, por três fatores: variabilidade genética individual; variação entre diferentes partes da planta e os diferentes estádios do desenvolvimento e modificações devido às condições ambientais (LAKUŠIĆ et al., 2013).

Saito (2004) relatou que as plantas medicinais que apresentam em sua composição óleos essenciais, normalmente têm se identificado como promissoras, pois inibem o desenvolvimento de plantas invasoras. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a composição química do óleo essencial de *Salvia officinalis* L. bem como as atividades antioxidante e alelopática.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

As folhas secas de *Salvia officinalis* foram adquiridas no comércio, em Cascavel, Paraná, Brasil e trituradas em moinho tipo Willey. O pó obtido foi acondicionado ao abrigo da luz, em temperatura ambiente, até sua utilização para extração do óleo.

### **Extração do óleo essencial (EO)**

Cerca de 70 g de folhas secas de *S. officinalis* foram colocadas em 750 mL de água destilada e submetidos à metodologia padrão de arraste por vapor d'água durante três horas utilizando-se o

equipamento tipo Clevenger. O óleo foi recolhido diretamente sem a adição de qualquer solvente e armazenado em ependorf a 4 °C em refrigerador.

### **Análise da composição química**

Os constituintes do óleo essencial foram identificados via cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC/MS) e pela determinação de seus índices de retenção de Kovats (IK).

### **Cromatografia gasosa/Espectrometria de massa**

A análise do óleo da *S. officinalis* foi realizada ao se empregar um sistema GC/MS Thermo-Finigan composto por um cromatógrafo em fase gasosa FOCUS GC (Thermo Electron), acoplado a um espectrômetro de massas DSQ II (Thermo Electron) e um injetor automático Triplus (Thermo Electron). A separação cromatográfica foi realizada em coluna capilar de sílica fundida HP-5ms (30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de fase estacionária; composição de 5% fenil e 95% dimetilpolissiloxano).

A temperatura do injetor foi de 250 °C, as amostras e os padrões dos alcanos foram injetados no modo *split* com razão de 1:25. A programação de temperatura empregada foi de 50 °C e mantida por dois minutos, com aumento da temperatura para 180 °C à razão de 2 °C min<sup>-1</sup>, seguida de aumento para 290 °C à razão de 5 °C min<sup>-1</sup>. A interface entre o CG e o EM foi mantida em 270 °C e a temperatura da fonte de ionização do espectrômetro de massas foi de 250 °C. A identificação dos componentes foi feita por comparação de seus tempos de retenção com os tempos de retenção obtidos (Adams, 2007) para os mesmos compostos analisados pelos índices de retenção de Kovats.

### **Atividade antioxidante**

A mensuração da atividade de eliminação de radicais livres DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) foi avaliada como descrito por Scherer e Godoy (2009) e Rufino et al. (2007), com

modificações. Para a análise, 0,1 mL do óleo puro foi adicionado em tubos de ensaio que continham 3,9 mL do radical DPPH (0,2 mM) diluídos em metanol e homogeneizados em agitador de tubos. Para o controle, foi utilizado 0,1 mL de solução controle (álcool metílico, acetona e água) com 3,9 mL do radical DPPH e homogeneizados. Como branco, foi utilizado álcool metílico, a fim de calibrar o espectrofotômetro (UV mini-1240, Shimadzu Co.). As misturas foram incubadas na ausência de luz à temperatura ambiente até medição. Subsequentemente, a absorbância foi medida usando um espectrofotômetro a 515 nm e foram monitoradas a cada 30 minutos até a estabilização.

O índice DPPH foi calculado a partir da equação Atividade antioxidante:

$$(\%) = [(Abs_0 - Abs_1) / Abs_0] \times 100$$

Em que:  $Abs_0$  é a absorbância do branco, e  $Abs_1$  é a absorbância da amostra.

As concentrações dos extratos responsáveis pela diminuição de 50% da atividade inicial do radical livre de DPPH ( $EC_{50}$ ) foram calculadas a partir de uma equação de reta obtida por regressão linear para a atividade antioxidante (Figura 2.1).

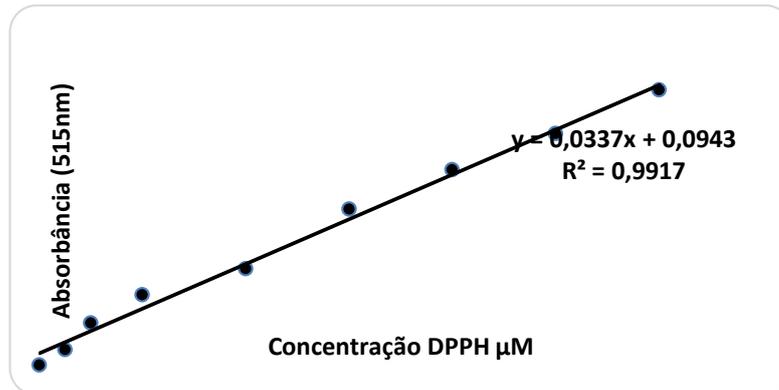


Figura 2.1 – Curva padrão do DPPH.

### Bioensaios de germinação

A avaliação do óleo essencial de *S. officinalis* L. foi obtida a partir de bioensaios conduzidos com tomate cereja (*Lycopersicon esculentum* Mill. var. *cerasiforme* Alef.), capim mombaça (*Panicum maximum* Jacq. var. *mombaça*) e chia (*Salvia hispanica* L.) como espécies-alvo. Os

tratamentos incluíram o controle (água destilada com DMSO 1%) e as concentrações de 100, 200, 400, 600, 800, 1000 e 2000 mg L<sup>-1</sup> (=µg mL<sup>-1</sup>) (v/v) (SOUZA-FILHO, 2009).

O bioensaio de germinação foi realizado em placa de Petri (9,0 cm de diâmetro) contendo papel filtro como substrato, ambos previamente autoclavados a 120 °C por 20 minutos. Foram distribuídas 25 sementes de tomate, capim mombaça ou chia por placa, com quatro repetições por tratamento. O volume do óleo por placa de Petri foi de 3 mL, sendo adicionados de uma única vez. As placas foram acondicionadas em câmara de germinação (BOD), com fotoperíodo de 24 horas de luz e temperatura de 25 °C.

A contagem para avaliar o índice de velocidade de germinação, o tempo médio de germinação (=velocidade de germinação) e a velocidade média da germinação foi realizada diariamente contando-se o número de sementes germinadas (MAGUIRE, 1962), tendo como critério a protrusão radicular com no mínimo 2 mm de comprimento (BORGHETTI e FERREIRA, 2004). O percentual de sementes germinadas foi calculado após sete dias de cultivo.

### **Análise estatística**

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com oito concentrações do óleo essencial de sálvia, testados em três espécies de plantas. Os dados foram previamente submetidos aos testes de normalidade (Shapiro-Wilk) e homocedasticidade (Bartlett) para análise de variância (ANOVA). Foi utilizada a análise de regressão linear para verificar o comportamento das variáveis em função da dose do óleo essencial. As análises estatísticas foram realizadas empregando-se o software R (*R Development Core Team*, 2014) e Excel (LAPPONI, 2005).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O óleo essencial obtido de folhas secas de *Salvia officinalis* L. apresentou coloração amarelada, com odor forte e foram detectados vinte e oito compostos, os quais corresponderam a 98,82% do óleo (Tabela 2.1). Os componentes majoritários foram: a cânfora (27,59%), canfeno

(23,70%),  $\alpha$ -pineno (13,75%),  $\beta$ -pineno (6,28%) seguido por limoneno (5,38%), borneol (3,58%), 1,8-cineol (3,54%) e óxido de cariofileno (2,24%). Outros compostos estavam presentes em quantidades menores que 2%. A presença predominante de terpenóides foi observada com 68% de monoterpenóides que, quantitativamente, também foram maiores, correspondendo a 93% do óleo essencial. Os outros 32% se caracterizam como sesquiterpenóides, compondo 7% do óleo.

LAKUŠIĆ et al. (2013) estudaram os óleos essenciais de sálvia e relataram que para folhas jovens, os sesquiterpenóides foram dominantes (50,7-57,0%), todavia, com o desenvolvimento das folhas aumentou a quantidade de monoterpenóides (55,4-88,4%). Por outro lado, folhas de uma mesma planta, em diferentes fases de desenvolvimento, formaram óleos com diferentes composição.

Diferente do observado, ALIZADEH e SAABANI (2012) encontraram número maior de compostos (42 compostos) e constituição diferente no óleo de *S. officinalis*. Sendo os majoritários  $\alpha$ -tujona (41,48%), borneol (8,33%), 1,8-cineol (7,94%),  $\beta$ -tujona (6,75%), viridiflorol (5,85%). Os demais componentes encontrados apresentaram teores abaixo de 4%. TOUNEKTI et al. (2010) também encontraram 42 componentes no óleo desta espécie, entretanto, os componentes diferiram dos encontrados neste trabalho e dos autores citados acima. Os majoritários (acima de 4%) foram: viridiflorol (30,32%), ácidos graxos (24,24%), manool (14,43%), ácido hexadecanóico (12,46%) e ácido hexadecanóico metil éster (7,11%) e verificaram que a alteração nas concentrações de sais influencia a composição do óleo essencial.

PORTE et al. (2013) identificaram 47 componentes no óleo de sálvia provenientes do Rio de Janeiro, Brasil, onde o principal foi  $\alpha$ -tujona (40,90%), seguido da cânfora (26,12%). O último foi o encontrado em maior quantidade no óleo essencial estudado neste trabalho. BAYRAK e AKGUL (1987) também encontraram a cânfora como componente principal, compondo 22,9% do óleo de *S. officinalis*, entre os 22 compostos identificados, seguida da  $\alpha$ -tujona (20,60%), componente que não apareceu no óleo analisado neste trabalho.

Os principais monoterpenóides da sálvia (1,8-cineol, cânfora e  $\alpha$  e  $\beta$ -tujona) mostram pronunciada dinâmica durante o ciclo vegetativo. O 1,8-cineol diminui continuamente durante o

crescimento, porém, ocorre aumento de cânfora no meio do período vegetativo, e as tujonas aumentam de forma constante durante o crescimento (GRAUSGRUBER-GRÖGERA et al., 2012).

Tabela 2.1 - Composição química do óleo essencial da *Salvia officinalis* L.

TR	Composto	Area(%)	IK	IK*
12,44	Triciclano	0,92	918	920 (9)
13,11	$\alpha$ -Pino	13,75	929	930 (9)
14,07	Canfeno	23,70	944	946 (9)
15,57	$\beta$ - Sabineno	0,39	968	970 (9)
15,80	$\beta$ - Pino	6,28	972	974 (9)
16,80	$\beta$ -Mirceno	1,73	988	988 (9)
18,48	$\alpha$ -Terpineno	0,38	1013	1016 (9)
19,00	<i>p</i> -Cymeno	1,39	1021	1022 (9)
19,31	Limoneno	5,38	1025	1024 (9)
19,48	1,8 cineol	3,54	1028	1033 (9)
21,34	- Terpineno	0,95	1054	1055 (9)
23,18	Terpinolone	0,25	1081	1086 (9)
27,44	Canfora	27,59	1141	1143 (9)
29,21	Borneol	3,58	1166	1165 (9)
29,84	4-Terpineol	0,53	1175	1175 (9)
30,91	$\alpha$ -Terpineol	0,15	1191	1189 (9)
36,98	Bornil acetato	1,29	1281	1283 (9)
37,08	Anetole	0,29	1283	1283 (5)
38,01	Carvacrol	0,16	1297	1298 (5)
45,44	$\beta$ -Caryophyleno	1,19	1410	1416 (9)
47,65	$\alpha$ -Humuleno	0,81	1446	1450 (9)
50,36	$\alpha$ -Zingibereno	0,22	1490	1495 (5)
51,59	$\gamma$ -Cadineno	0,15	1510	1509 (9)
54,86	Spatulenol	0,71	1566	1563 (1)
55,10	Cariofileno oxido	2,24	1570	1580 (9)
55,84	Globulol	0,45	1583	1585 (3)
56,70	1,2-Epoxide-humuleno	0,71	1597	1606 (5)
59,35	$\alpha$ -Cadinol	0,24	1645	1642 (1)

TR: tempo de retenção; IK: Índice de retenção por Kováts

Segundo Funk et al. (1992), a cânfora atinge máxima concentração nas folhas maduras de plantas de sálvia e, durante a floração, o conteúdo diminui em cerca de 50% ao longo de várias semanas.

SANTOS-GOMES e FERNANDES-FERREIRA (2001) analisaram o óleo essencial obtido de folhas, caules e flores de sálvia e verificaram que a cânfora apresentou maior percentual no óleo proveniente de folhas. No mesmo trabalho, os autores analisaram o óleo da parte aérea em coletas ao longo de um ano e, relataram que a cânfora, após atingir sua concentração máxima, decaiu drasticamente (variação de 4,69 a 22,86%), sendo inversamente proporcional aos níveis de tujona.

Por estes relatos, observa-se que existe variação na composição do óleo essencial da sálvia. Segundo LAMIEN-MEDA et al. (2010), a composição do óleo essencial da *S. officinalis* varia significativamente, dependendo do genótipo, idade do órgão e fatores ambientais (fertilização, intensidade luminosa, condições climáticas, estações e local de cultivo). Estes autores analisaram 19 quimiotipos de *S. officinalis* e, verificaram que a composição varia, sendo que a maior parte dos acessos apresentaram altos níveis de tujona. Dois acessos da Romênia representaram um grupo geneticamente distinto, com quantidades menores de tujonas e maiores de viridiflorol, sendo considerados ideais para o uso em bebidas e refeições, visto que, as tujonas são neurotóxicas.

MOSSI et al. (2011) analisaram a composição do óleo de espécies de sálvia, entre estas, três indivíduos de *S. officinalis*. Verificaram que a composição foi semelhante, mas com diferença no conteúdo, cujo componente principal variou entre cânfora e  $\alpha$ -tujona. HAGHIGHAT et al. (2012) relataram a variação na composição de diferentes amostras do óleo essencial de *Salvia mirzayanii* Rech. & Esfand. Assim, evidencia-se mais uma vez a variação na constituição dos óleos essenciais de uma mesma espécie.

RUSSO et al. (2013) enfatizaram que as condições ambientais e edafoclimáticas influenciam o rendimento e a composição química dos óleos essenciais de plantas de sálvia. A variação na composição do óleo está relacionada tanto à proporção relativa dos componentes quanto à presença ou ausência de um componente em particular.

O óleo essencial de sálvia analisado neste trabalho apresentou 85,3% de capacidade de sequestro do radical DPPH e  $EC_{50}$  de  $3,67 \mu\text{g mL}^{-1}$ . O resultado expresso com  $EC_{50}$  corresponde à quantidade necessária para diminuir a concentração inicial de DPPH em 50%. O óleo apresentou o mesmo padrão observado para o BHT (butil hidroxi tolueno), que é um antioxidante sintético por excelência, em testes semelhantes, com os seguintes valores para  $EC_{50}$  5,37; 9,27 e  $9,5 \mu\text{g mL}^{-1}$  e porcentagens de sequestro de DPPH de 83,16 e 95,85% (CANSIAN et al., 2010; SÁ et al., 2012; PANDINI et al., 2015).

BOZIN et al. (2007) verificaram que o óleo essencial de sálvia apresentou 100% de capacidade de sequestro do radical DPPH e  $EC_{50}$ ,  $1,78 \mu\text{g mL}^{-1}$ , assim, obteve resultados melhores que o BHT (74% e  $5,37 \mu\text{g mL}^{-1}$ , respectivamente).

O percentual final de germinação das espécies avaliadas não foi influenciado pelo óleo essencial de sálvia, nas concentrações testadas neste trabalho (Figuras 2.2A, 2.3A, e 2.4A). Entretanto, os demais parâmetros germinativos apresentaram efeito negativo para as sementes de alface e chia. FERREIRA (2004) também relatou que muitas vezes o efeito alelopático não atua sobre a germinabilidade (porcentagem final de germinação), mas sobre o índice de velocidade de germinação (IVG) e/ou sobre o desenvolvimento das plantas, como observado neste trabalho.

ALTINDAL e ALTINDAL (2011) observaram que óleo de sálvia não influenciou negativamente a germinação, os danos nem a perda de peso em sementes de feijão-caupi (*Vigna nissensis* L.), sendo indicadas para armazenamento desta espécie.

O índice de velocidade, tempo e velocidade média de germinação das sementes de tomate foram influenciados pelas concentrações do óleo essencial de sálvia. Houve decréscimo linear no IVG e na velocidade média de germinação de sementes de tomate a partir das concentrações de 600 e 100  $\text{mg L}^{-1}$ , respectivamente. O índice de velocidade de germinação foi reduzido em 42% na concentração de 800  $\text{mg L}^{-1}$ , com 3,44 plântulas emergidas por dia, quando comparado com o controle, com 5,91 plântulas. As sementes de tomate demoraram mais para germinar nesta concentração, com 28% de atraso no tempo médio de germinação, que apresentou aumento linear

para esta variável. A velocidade média de germinação foi menor para todas as concentrações do óleo comparadas ao tratamento controle.

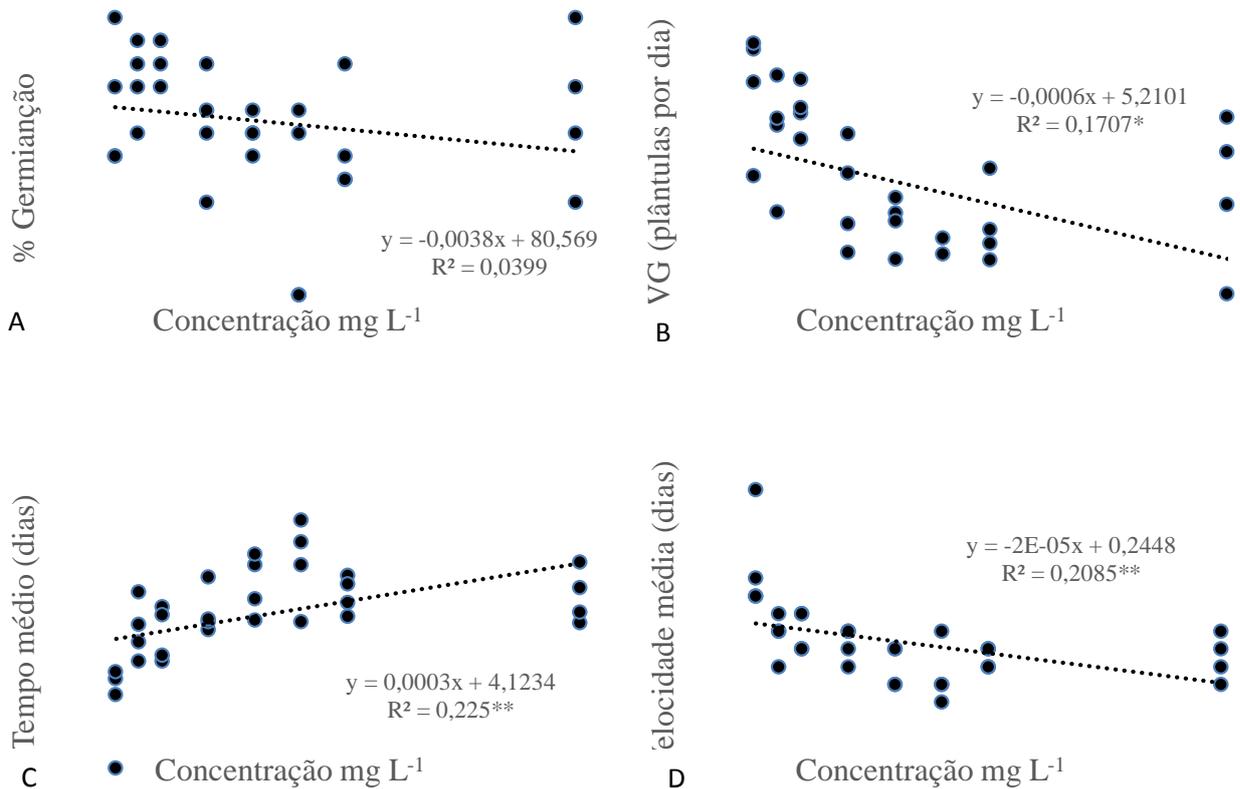


Figura 2.2- A- Porcentagem de germinação, B- Índice de velocidade de germinação (IVG), C- Tempo médio de germinação e D- Velocidade média de germinação de *Lycopodium obscurum* Mill. var. *Cerasiforme* submetidos ao óleo essencial de folhas de *Salvia officinalis* L. \*Significativo a 5% de probabilidade. \*\*Significativo a 1% de probabilidade.

As variáveis podem responder de forma diferenciada e nem sempre todas são influenciadas pelo extrato. Testes com extratos aquosos de sálvia demonstraram alteração no padrão de resposta do percentual de germinação e IVG de sementes de alface, com diferenças de acordo com a concentração, forma de obtenção do extrato e época de coleta das folhas (VIECELLI e CRUZ-SILVA, 2009).

As sementes de capim mombaça não apresentaram alteração na maior parte dos parâmetros germinativos quando submetidas ao óleo essencial de sálvia (Figura 2.3), diferente do observado para sementes de tomate e chia. O tempo médio de germinação apresentou aumento linear com 5% de

significância. O potencial alelopático do óleo essencial de sálvia também foi relatado por BOUAJAJ et al. (2013), o qual exerceu efeito inibitório na germinação e reduziu o crescimento da raiz de alface.

Neste contexto, as espécies podem responder de forma diferenciada ao composto químico, pois apresentam diferentes sensibilidades (BAJALAN et al., 2013). E, segundo Ferreira e Áquila (2000), a resistência ou tolerância aos aleloquímicos é mais ou menos específica, existindo espécies mais sensíveis que outras.

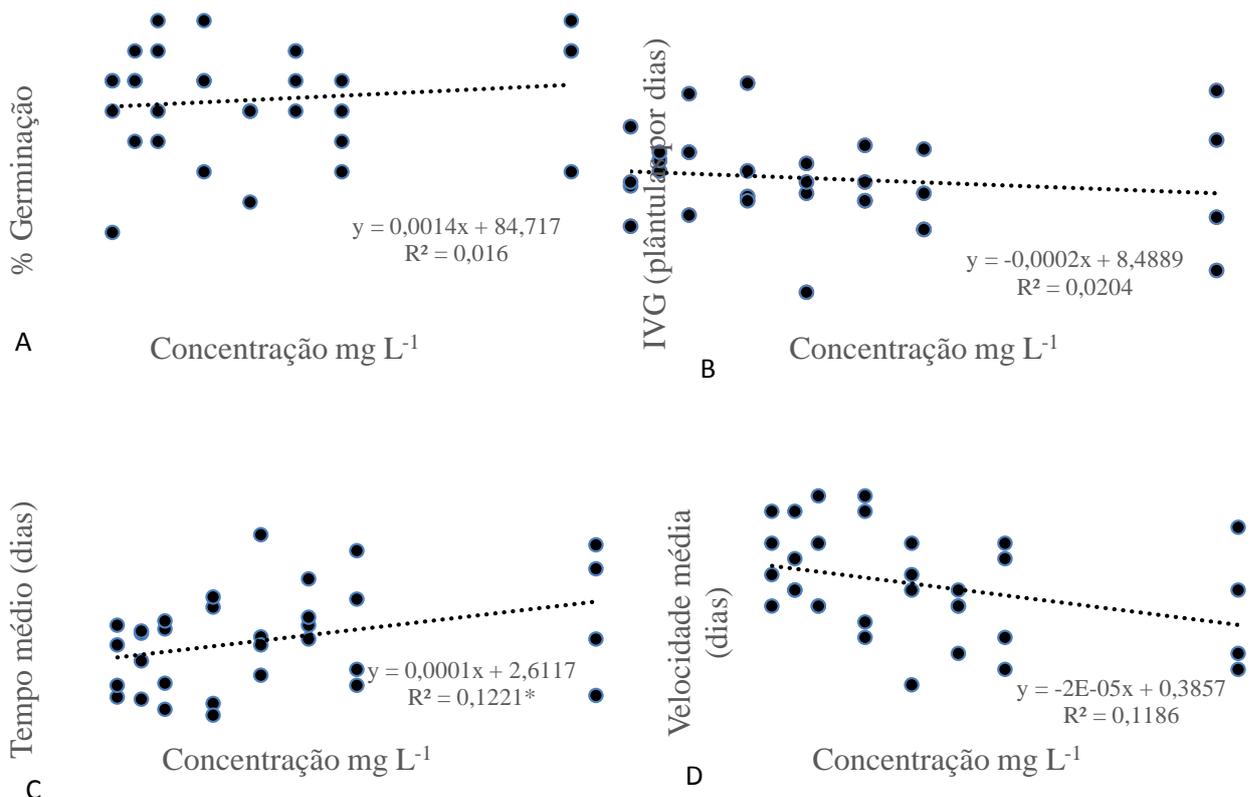


Figura 2.3- A- Porcentagem de germinação, B- Índice de velocidade de germinação (IVG), C- Tempo médio de germinação e D- Velocidade média de germinação de *Panicum maximum* Jacq. var. *Mombaça* submetidos ao óleo essencial de folhas de *Salvia officinalis* L. \*Significativo a 5% de probabilidade. \*\*Significativo a 1% de probabilidade.

Esse potencial de influência diferenciado de acordo com a espécie, foi evidenciado no trabalho de AZIRAK e KARAMAN (2008). Os autores testaram o óleo essencial de sálvia na germinação de sete espécies invasoras e verificaram inibição diferenciada, de acordo com as espécies, em 83, 74, 54, 36, 19, 17 e 5%, para *Sinapis arvensis*, *Raphanus raphanistrum*, *Centraurea*

*salsotitialis*, *Amaranthus retroflexus*, *Rumex nepalensis*, *Alcea pallida* e *Sonchus oleraceus*, respectivamente.

As sementes de chia, o índice de velocidade, o tempo médio e a velocidade média de germinação foram influenciados pelo óleo de sálvia (Figura 2.4). O índice de velocidade e a velocidade média de germinação apresentaram decréscimo linear. Foi observada redução no IVG em 35% na concentração de 800 mg L<sup>-1</sup>, com 10,12 plântulas emergidas por dia, quando comparado com o controle, com 15,55 plântulas. O tempo médio de germinação apresentou aumento linear significativo, com aumento de 37% para concentração mais alta (2000 mg L<sup>-1</sup>), quando comparado às sementes germinadas em água.

Semelhante ao que ocorreu neste trabalho, ALMEIDA et al. (2010), utilizando óleo essencial de sálvia, cujos componentes principais foram tujona, cânfora e borneol, verificaram que o mesmo inibiu a germinação e o crescimento inicial da raiz de agrião, rabanete e alface, mas com níveis diferentes de atividade. Isso enfatiza que a resposta de um mesmo composto, extrato ou óleo pode se apresentar diferenciada de acordo com a espécie receptora.

A utilização de óleos essenciais obtidos das espécies *Artemisia vulgaris* L. (Asteraceae), *Mentha spicata* L. subsp. *spicata* (Lamiaceae), *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae), *Thymbra spicata* L. subsp. *spicata* (Lamiaceae) e entre elas, a *Salvia officinalis* L. (Lamiaceae) foi altamente fitotóxica sobre a germinação e o crescimento de plântulas de oito espécies invasoras testadas por ÖNEN et al. (2002). Os autores relataram que houve diferenças significativas nos efeitos dos óleos e doses usadas, em função da diversidade de plantas, dos componentes e das misturas específicas de cada um. Mas, de uma forma geral, os óleos apresentaram forte efeito inibitório. Os autores ainda sugerem que óleos essenciais são fontes potenciais para o desenvolvimento de novos bioherbicidas, cujos componentes devem ter sua atividade testada individualmente ou em sinergismo.

O efeito do óleo essencial da sálvia pode estar associado à cânfora, que foi o componente majoritário encontrado nesta análise. Segundo CHEN et al. (2013), a cânfora é um dos componentes principais de muitas espécies de plantas aromáticas. Este composto apresenta muitas propriedades

biológicas, tais como atividade inseticida, antimicrobiana, antiviral, anticancerígena, antitussígena, anticoccidiana, antinociceptiva e utilizado como potencializador da permeabilidade da pele.

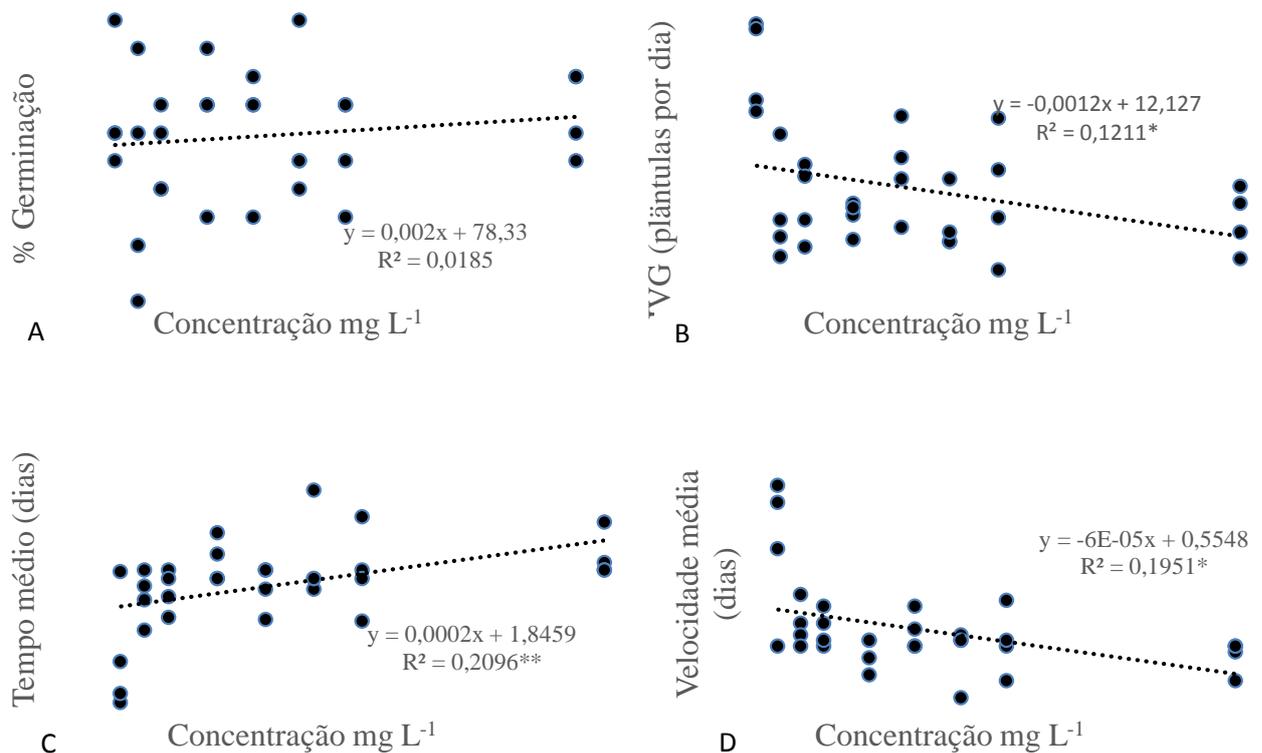


Figura 2.4- A- Porcentagem de germinação, B- Índice de velocidade de germinação (IVG), C- Tempo médio de germinação e D- Velocidade média de germinação de *Chia hispânica* submetidos ao óleo essencial de folhas de *Salvia officinalis* L. \*Significativo a 5% de probabilidade. \*\*Significativo a 1% de probabilidade.

De acordo com YOSHIMURA et al. (2011), os monoterpenos são os principais componentes dos óleos essenciais, e são metabólitos secundários difundidos no reino vegetal. Interações alelopáticas podem estar associadas à presença de monoterpenos que são comuns na natureza. Eles inibem a germinação e o crescimento de plantas.

A atividade alelopática da cânfora e de outros monoterpenos foi analisada na germinação de rabanete e agrião de jardim por DE MARTINO et al. (2010). As sementes de rabanete foram mais sensíveis aos monoterpenos do que as de agrião. Dos componentes presentes na análise química do óleo essencial avaliado neste trabalho, os autores citaram que borneol, cânfora, limoneno e  $\alpha$ -terpinol

inibiram a germinação de rabanete a  $10^{-3}$  M e a cânfora apresentou atividade antigerminativa a  $10^{-4}$  M, sem efeito a  $10^{-5}$  e  $10^{-6}$  M. A cânfora e o limoneno inibiram a germinação também de agrião de jardim. Monoterpenos como canfeno,  $\alpha$  e  $\beta$  pineno, 1,8-cineol, presentes no óleo analisado neste trabalho, não apresentaram atividade antigerminativa para as sementes estudadas por esses autores, bem como  $\alpha$  e  $\beta$  tujona, que são componentes citados por estarem presente no óleo de sálvia.

NISHIDA et al. (2005) analisaram o efeito de concentrações de cinco monoterpenóides voláteis na germinação de sementes de mostrada do campo (*Brassica campestris* L.). A cânfora e  $\beta$ -pineno inibiram ligeiramente sua germinação a 400 mM. Quando analisado a 1300 mM, em adição, o 1,8-cineol também inibiu a germinação das sementes, sem efeito para  $\alpha$ -pineno e canfeno em quaisquer das concentrações testadas. A atividade alelopática raramente é o resultado de um único composto (MIRANDA et al., 2014).

Entretanto, LOIZZO et al. (2010) analisaram a composição e a atividade antiproliferativa de células cancerígenas de duas espécies de *Salvia* e relataram que os resultados mostraram, para ambas as espécies, que a atividade não poderia estar relacionada com os principais compostos presentes. Por conseguinte, os componentes secundários podem estar envolvidos em algum tipo de sinergismo com os outros compostos ativos.

VOKOU et al. (2003) enfatizaram que um óleo essencial é uma mistura de muitos compostos em diferentes proporções, e muitas vezes não é conhecido como eles podem interagir. Eles analisaram 47 monoterpenos, isolados ou em conjunto, na germinação de alface e concluíram que, em alguns casos, os compostos atuam de forma independente, enquanto em outros, eles agem sinergicamente ou de forma antagônica. No entanto, o caráter da interação não pode, em geral, ser previsto com base nos compostos individuais agindo sozinho.

Da mesma forma, ANGELINI et al. (2003) relataram que a inibição alelopática resulta da ação combinada de grupos de aleloquímicos que interferem com várias interações bioquímicas entre as plantas, incluindo aquelas mediadas por microrganismos do solo.

Segundo BAKKALI et al. (2008), na maioria dos casos, apenas os principais constituintes dos óleos essenciais são analisados. Geralmente, os componentes principais refletem bem as características biofísicas e biológicas dos óleos a partir do qual foi isolado, e, a amplitude dos seus efeitos são apenas dependente da sua concentração quando testados sozinhos ou com os demais compostos do óleo essencial. Assim, as funções sinérgicas das várias moléculas contidas no óleo essencial, em comparação com a ação de um ou dois componentes principais do óleo, parece questionável. No entanto, é possível que a atividade dos principais componentes seja modulada por outras moléculas presentes em menor quantidade. Assim, os autores sugerem que, para fins biológicos, é mais informativo estudar um óleo completo, ao invés de alguns dos seus componentes porque o conceito de sinergismo parece ser mais significativo.

## **CONCLUSÃO**

A composição química do óleo essencial de folhas de *S. officinalis* L. é diversificada. Os componentes majoritários identificados foram cânfora, canfeno,  $\alpha$  e  $\beta$ -pineno e limoneno, com 68% de monoterpenóides, os quais compuseram 93% do total do óleo essencial. O óleo apresentou 85,3% de capacidade de sequestro do radical DPPH e  $EC_{50}$  de  $3,67 \mu\text{g mL}^{-1}$ , valores que o caracterizam como ótimo antioxidante. O percentual final de germinação das três espécies testadas não foi influenciado pelo óleo de sálvia. Entretanto, o índice de velocidade, o tempo e a velocidade média de germinação de sementes de tomate e chia foram afetados de forma negativa. O mesmo comportamento não foi verificado em sementes de capim mombaça. Pode-se ainda ressaltar que as espécies botânicas respondem de forma diferenciada e, nem sempre o efeito ocorre sobre o percentual de germinação.

## **AGRADECIMENTO (S)**

À Capes e CNPq pelo financiamento da pesquisa e à COMCAP – Universidade Estadual de Maringá (UEM), Paraná, Brasil pelas análises no GC/MS.

## REFERÊNCIAS

Adams RP (2007). *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry*, Allured Publishing Corporation: Carol Stream, 804p.

Ali A, Tabanca N, Demirci B, Blythe EK, Ali Z, Baser KHC, Khan IA (2015). Chemical composition and biological activity of four *Salvia* essential oils and individual compounds against two species of mosquitoes. *J. Agric. Food. Chem.* 63:447–456.

Alizadeh A, Shaabani M (2012). Essential oil composition, phenolic content, antioxidant and antimicrobial activity in *Salvia officinalis* L. cultivated in Iran. *Adv. Environ. Biol.* 6:221-226.

Almeida LFR, Frei F, Mancini E, Martino L, Feo VD (2010). Phytotoxic activities of Mediterranean essential oils. *Molecules.* 15:4309-4323.

Angelini LG, Carpanese G, Cioni PL, Morelli I, Macchia M, Flamini G (2003). Essential oils from Mediterranean Lamiaceae as weed germination inhibitors. *J. Agric. Food. Chem.* 51:6158-6164.

Alonso JR (1998). Tratado de fitomedicina: bases clínicas y farmacológicas. Buenos Aires: ISIS. p.786-792.

Altindal D, Altindal N (2011). The effects of sage volatile oil (*Salvia officinalis*) and Turkish oregano volatile oil (*Origanum onites*) on stored cowpea (*Vigna sisensis L.*) seed. *J. Med. Plants. Res.* 5:5017-5020.

Azirak S, Karaman S (2008). Allelopathic effect of some essential oils and components on germination of weed species. *Acta Agric. Scand. B.* 58: 88-92.

Bajalan I, Zand M, Rezaee S (2013). Allelopathic effects of aqueous extract from *Salvia officinalis* L. on seed germination of barley and purslane. *Intl. J. Agri. Crop. Sci.*5:802-805.

Bakkali F, Averbeck S, Averbeck B, Idaomar M (2008). Biological effects of essential oils – a review. *Food Chem. Toxicol.*46:446-475.

BayrakA.; Akgul A. (1987). Composition of essential oils from Turkish *Salvia* species. *Phytochem.* 36:846-847.

Borghetti F, Ferreira AG (2004). Interpretação de resultados de germinação. In: Ferreira AG, Borghetti F (Org.). Germinação do básico ao aplicado. 2.ed. Porto Alegre: Artmed. p.209-222.

Bouajaj S, Benyamna A, Bouamama H, Romane A, Falconieri D, Piras A, Marongiu B (2013). Antibacterial, allelopathic and antioxidant activities of essential oil of *Salvia officinalis* L. growing wild in the Atlas Mountains of Morocco. *Nat. Prod. Res.* 27:1673-6.

Bozin B, Mimica-Dukic N, Samojlik I, Jovin E (2007). Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., Lamiaceae) essential oils. *J. Agric. Food. Chem.* 55:7879-7885.

Çadirci E, Süleyman H, Gürbüz P, Kuruüzüm UA, Güvenalp Z, Demirezer LO (2012). Anti-inflammatory effects of different extracts from three *Salvia* species. *Turk. J. Biol.* 36: 59-64.

- Cansian RL, Mossi AJ, Oliveira D, Toniazzo G, Treichel H, Paroul N, Astolfi V, Serafini LA (2010). Atividade antimicrobiana e antioxidante do óleo essencial de ho-sho (*Cinnamomum camphora* Ness e Eberm var. Linaloolifera fujita). *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 30:378-384.
- Chalkos D, Kadoglidou K, Karamanoli K, Fotiou C, Pavlatou-Ve AS, Eleftherohorinos IG, Constantinidou HA, Vokou D (2010). *Mentha spicata* and *Salvia fruticosa* composts as soil amendments in tomato cultivation. *Plant Soil.* 332:495-509.
- Chen W, Vermaak I, Viljoen A (2013). Camphor - a fumigant during the black death and a coveted fragrant wood in ancient Egypt and Babylon - A Review. *Molecules.* 18:5434-5454.
- Darwish MSA (2014). Essential oil variation and trace metals content in garden sage (*Salvia officinalis* L.) grown at different environmental conditions. *J. Agr. Sc.* 6:209-214.
- De Martino L, Mancini E, De Almeida LFR, De Feo V (2010). The antigerminative activity of twenty-seven monoterpenes. *Molecules.* 15:6630-6637.
- Ferreira AG, Áquila MEA (2000). Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. *Rev. Bras. Fisiol. Veg.* 12:175-204.
- Ferreira AG (2004). Interferência: competição e alelopatia. In: Ferreira AG, Borghetti F (Org.). *Germinação do básico ao aplicado*. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, p. 251-262.
- Funk C, Koepp AE, Croteau R (1992). Catabolism of camphor in tissue cultures and leaf disks of common sage (*Salvia officinalis*). *Arch. Biochem. Biophys.* 294:306-313.

Grausgruber-Grögera S, Schmiderera C, Steinborn R, Novak J (2012). Seasonal influence on gene expression of monoterpene synthases in *Salvia officinalis* (Lamiaceae). *J. Plant Physiol.* 169:353-359.

Haghighat MH, Alizadeh A, Nouroznejadfar MJ (2012). Essential oil composition and antimicrobial activity in Iranian *Salvia mirzayanii* Rech. & Esfand. *Adv. Environ. Biol.* 6:1985-1989.

Hamidpour R, Hamidpour S, Hamidpour M, Shahlari M (2013). Sage: The functional novel natural medicine for preventing and curing chronic illnesses. *Int. J. Case Rep. Images.*4:671-677.

Hassannejad S, Ghafarbi SP (2013) Allelopathic effects of some Lamiaceae on seed germination and seedling growth of dodder (*Cuscuta campestris* Yunck.). *Int. J. Biosci.* 3:9-14.

Joly AB (2002). Botânica: introdução a taxonomia vegetal. São Paulo: Nacional, 777 p.

Kontogianni VG, Tomic G, Nikolic I, Nerantzaki AA, Sayyad N, Stosic-Grujicic S, Stojanovic I, Gerothanassis IP, Tzakos AG (2013). Phytochemical profile of *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis* extracts and correlation to their antioxidant and anti-proliferative activity. *Food Chem.* 136:120–129.

Koschier EH, Sedy KA (2003). Labiate essential oils affecting host selection and acceptance of *Thrips tabaci* lindeman. *Crop Prot.* 22:929–934.

Laborda R, Manzano I, Gamón M, Gavidia I, Pérez-Bermúdez P, Boluda R (2013). Effects of *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis* essential oils on *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Ind. Crop. Prod.*48:106-110.

Lakušić BS, Ristić MS, Slavkovska VN, Stojanović DLJ, Lakušić DV (2013). Variations in essential oil yields and compositions of *Salvia officinalis* (Lamiaceae) at different developmental stages. *Bot. Serb.* 37:127-139.

Lamien-Meda A, Schmiderer C, Lohwasser U, Börner A, Franz C, Novak J (2010). Variability of the essential oil composition in the sage collection of the Genebank Gatersleben: a new viridiflorol chemotype. *Flavour Frag. J.* 25:75-82.

Lapponi, JC (2005). Estatística usando Excel. 4. Ed., São Paulo: Campus. 496p.

Loizzo MR, Menichini F, Tundis R, Bonesi M, Nadjafi F, Saab AM, Frega NG, Menichini F (2010). Comparative chemical composition and antiproliferative activity of aerial parts of *Salvia leriifolia* Benth. and *Salvia acetabulosa* L. essential oils against human tumor cell in vitro models. *J. Med. Food.* 13:62-69.

Maguire JD (1962). Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop Sci.* 2:176-177.

Maia JTLS, Bonfim FPG, Barbosa CKR, Guilherme DO, Honório ICG, Martins ER (2011). Influência alelopática de hortelã (*Mentha x villosa* Huds.) sobre emergência de plântulas de alface (*Lactuca sativa* L.). *Rev. Bras. Plantas Med.* 13:253-257.

Miranda CASF, Cardoso MG, Carvalho MLM, Figueiredo ACS, Nelson DLN, Oliveira C M, Gomes MS, Andrade J, Souza JA, Albuquerque LRM (2014). Chemical composition and allelopathic activity of *Parthenium hysterophorus* and *Ambrosia polystachya* weeds essential oils. *Am.J. Plant Sci.* 5:1248-1257.

Miranda CASF, Cardoso MG, Carvalho MLM, Machado SMF, Gomes MS, Santiago JA, Teixeira ML (2015). Atividade alelopática de óleos essenciais de plantas medicinais na germinação e vigor de aquênios de alface. *Semin. Ciênc. Agrár.* 36:1783-1798.

Mossi AJ, Cansian RL, Paroul N, Toniazzo G, Oliveira JV, Pierozan MK, Pauletti G, Rota L, Santos ACA, Serafini LA (2011). Morphological characterization and agronomical parameters of different species of *Salvia* sp. (Lamiaceae). *Braz. J. Biol.* 71:121-129.

Nishida N, Tamotsu S, Nagata N, Saito S, Sakai A (2005). Allelopathic effects of volatile monoterpenoids produced by *Salvia leucophylla*: inhibition of cell proliferation and DNA synthesis in the root apical meristem of *Brassica campestris* seedlings. *J. Chem. Ecol.* 31:1187-1203.

Önen H, Özer Z, Telci I (2002). Bioherbicidal effects of some plant essential oils on different weed species. *J. Plant Dis. Protect.* 18:597-605.

Pandini JA, Pinto FGS, Scur MC, Alves LFA, Martins CC (2015). Antimicrobial, insecticidal, and antioxidant activity of essential oil and extracts of *Guarea kunthiana* A. Juss. *J. Med. Plants. Res.* 9:48-55.

Popovića Z, Kostićb M, Popovićc S, Skorića S (2006). Bioactivities of essential oils from basil and sage to *Sitophilus oryzae* L. *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* 20:36-40.

Porte A, Godoy RLO, Maia-Porte LH (2013). Chemical composition of sage (*Salvia officinalis* L.) essential oil from the Rio de Janeiro State (Brazil). *Rev. Bras. Plantas Med.* 15: 438-441.

R Development Core Team. (2014). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0. Available at <http://www.R-project.org>.

Ricklefs RE (2003). A economia da natureza. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

Rufino MSM, Alves RE, Brito ES, Moraes SM, Sampaio CG, Pérez-Jiménes J, Saura-Calixto FD (2007). Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. *Comun. Téc.* 127:1-4.

Russo A, Formisano C, Rigano D, Senatore F, Delfino S, Cardile V, Rosselli S, Bruno M (2013). Chemical composition and anticancer activity of essential oils of Mediterranean sage (*Salvia officinalis* L.) grown in different environmental conditions. *Food Chem. Toxicol.* 55:42-47.

Sá PGS, Guimarães AL, Oliveira AP, Siqueira Filho JA, Fontana AP, Damasceno PKF, Branco CRC, Branco A, Almeida JRGS (2012). Fenóis totais, flavonóides totais e atividade antioxidante de *Selaginella convoluta* (Arn.) Spring (Selaginellaceae). *Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.* 33:561-566.

Saito LM (2004). As plantas praguicidas: alternativa para o controle de pragas da agricultura. Embrapa:Meio ambiente. Jaguariúna

Santos EP (2014). *Salvia* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Available at: <<http://reflora.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB8296>>. Access on: 03 Jun. 2015

Santos-Gomes PC, Fernandes-Ferreira M. (2001) Organ- and season-dependent variation in the essential oil composition of *Salvia officinalis* L. cultivated at two different sites. *J. Agric. Food. Chem.*49:2908-2916.

Scherer R, Godoy HT (2009). Antioxidant activity index (AAI) by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food. Chem.*112:654-658.

Sousa VC, Lorenzi H (2005). Botânica sistemática. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda., 640p.

Souza-Filho APS, Bayma JC, Guilhon GMSP, Zoghbi MGB (2009). Atividade potencialmente alelopática do óleo essencial de *Ocimum americanum*. *Planta Daninha.* 27:499-505.

Tounekti T, Munné-Bosch S, Vadel AM, Chtara C, Khemira H (2010). Influence of ionic interactions on essential oil and phenolic diterpene composition on Dalmatian sage (*Salvia officinalis* L.). *Plant Physiol. Biochem.* 48:813-827.

Viecelli CA, Cruz-Silva CTA (2009). Efeito da variação sazonal no potencial alelopático de Sálvia. *Semin. Ciênc. Agrár.* 30:39-46.

Vokou D, Douvli P, Blionis GJ, Halley JM (2003). Effects of monoterpenoids, acting alone or in pairs, on seed germination and subsequent seedling growth. *J. Chem. Ecol.* 29:2281-2301.

Yoshimura H, Sawai Y, Tamotsu S, Sakai A (2011). 1,8-Cineole Inhibits Both Proliferation and Elongation of BY-2 Cultured Tobacco Cells. *J. Chem. Ecol.* 37:320-328.

## 5.2. ARTIGO 3 - Alelopátia da cobertura de sálvia no desenvolvimento de plantas

(Revista Brasileira de Plantas Mediciniais – Anexo III)

CRUZ-SILVA, C.T.A.<sup>1\*</sup>; NÓBREGA, L.H.P.<sup>1</sup>; DELLAGOSTIN, S.<sup>1</sup>; SILVA, C.F.G.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-graduação em Engenharia Agrícola, Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Cascavel – Paraná.

\*Autor para correspondência:claudia\_petsmart@hotmail.com

**RESUMO:** As plantas medicinais que apresentam óleos essenciais em sua composição normalmente têm se mostrado promissoras no controle de plantas. A sálvia (*Salvia officinalis* L.) é citada por seus efeitos alelopáticos. Assim, esse estudo avaliou o potencial alelopático de folhas secas de sálvia em cobertura vegetal, no solo, sobre o desenvolvimento das plantas de *Lycopersicon esculentum* Mill. (tomate), *Panicum maximum* Jacq. (capim mombaça) e *Salvia hispanica* L. (chia). Três plântulas foram transplantadas, sete dias após germinação, para vasos plásticos de 1 kg, com terra, em casa de vegetação. Sobre elas foi disposta a massa seca triturada de sálvia nas proporções 3,75; 7,5 e 15 t ha<sup>-1</sup>, além da testemunha (sem massa). Após 30 dias, o teor de clorofila das plantas de tomate e capim mombaça foi inibido com 7,5 e 15 t ha<sup>-1</sup> de sálvia em cobertura. O comprimento da parte aérea do tomate foi inibido em todas as proporções testadas e as plantas de capim mombaça apresentaram redução do crescimento quando se utilizaram 15 t ha<sup>-1</sup> de sálvia como cobertura. A massa seca das plantas de tomate e capim mombaça reduziu com o uso de 15 t ha<sup>-1</sup> e, 7,5 e 15 t ha<sup>-1</sup> de sálvia como cobertura, respectivamente. Finalmente, pode-se concluir que houve efeito da sálvia em cobertura sobre o solo em tomate e capim mombaça, mas não houve efeito da mesma sobre as plantas de chia.

**PALAVRAS-CHAVE:** potencial alelopático, cobertura vegetal, crescimento, *Salvia officinalis* L.

**ABSTRACT:** Allelopathy of sage as cover crop on plants development. Medicinal plants with essential oils in their composition typically have been shown to be promising in plants control. Sage (*Salvia officinalis* L.) is cited for its allelopathic effects. This study evaluated the allelopathic potential of sage dried leaves, on soil as a cover crop on the development of *Lycopersicon esculentum* Mill. (tomato), *Panicum maximum* Jacq. (guinea grass) and *Salvia hispanica* L. (chia) plants. Three seedlings were transplanted seven days after germination in 1 kg plastic containers with soil, in greenhouse. The grinded dry mass of sage was put at 3.75; 7.5 and 15 t ha<sup>-1</sup> rates, and the control (no mass). After 30 days, the chlorophyll index of tomato and guinea grass plants were inhibited with 7.5 and 15 t ha<sup>-1</sup> sage cover crop. Tomato shoot length was inhibited in all tested rates, and guinea grass plants showed some reduction on growth when using the highest rate of sage mass (15 t ha<sup>-1</sup>). The dry mass of tomato and guinea grass plants was reduced when used 15 t ha<sup>-1</sup>, and 7.5 and 15 t ha<sup>-1</sup> of sage as cover crop, respectively. Finally, it can be concluded that there was some effect of sage cover crop on soil in tomato and guinea grass plants, but there was no effect on chia plants.

**KEYWORDS:** allelopathic potential, coverage, plant growth, *Salvia officinalis*.

## INTRODUÇÃO

A alelopatia é a capacidade que as plantas apresentam em produzir substâncias químicas que, ao serem liberadas no ambiente, influenciam de forma favorável ou desfavorável o desenvolvimento de outras plantas, incluindo microrganismos (RICE, 1984).

A sustentabilidade agrícola está associada ao uso eficiente dos recursos disponíveis, contando com o mínimo de insumos adquiridos. Aleloquímicos (substâncias presentes nos organismos vegetais) podem ser usados como aditivo na agricultura, sendo boa estratégia para aumentar a produtividade ou eliminar plantas invasoras. Interações alelopáticas têm influência no desenvolvimento das plantas, e a decomposição de resíduos vegetais pode ser tóxica para o crescimento de plantas invasoras e também podem diminuir a produtividade da cultura subsequente (CHOU, 1999).

Segundo Ferreira e Áquila (2000), todas as plantas produzem metabólitos secundários, os quais variam em qualidade e quantidade de espécie para espécie, até mesmo a quantidade do metabólito de um local de ocorrência, ou ciclo de cultivo, para outro, pois muitos têm sua síntese desencadeada por eventos a que as plantas estão expostas. Muitos compostos alelopáticos produzidos por plantas são regulados por fatores ambientais, como potencial de água no ambiente, temperatura, qualidade e quantidade de luz, composição do solo, nutrientes, microrganismos, dentre outros. A quantidade do composto produzido é significativamente maior se a planta cresce em condições estressantes quando comparada às condições normais (CHOU, 1999).

Os compostos que causam alelopatia podem afetar funções como absorção de nutrientes, crescimento, fotossíntese, respiração, permeabilidade da membrana, síntese proteica e a atividade enzimática. Uma mesma substância pode afetar diversas funções

fisiológicas bem como várias substâncias podem afetar apenas uma função no organismo (ALMEIDA, 1988; MALHEIROS e PERES, 2001).

Estudos sobre alelopatia em culturas e plantas daninhas têm sido desenvolvidos nas últimas décadas e o uso de culturas alelopáticas em rotação de culturas, culturas de cobertura, adubação verde, culturas intercalares tornou-se realidade. No entanto, a alelopatia deve ser reconhecida como um processo dinâmico que envolve mais do que apenas plantas doadoras e receptoras. Variações no tipo de solo, água e disponibilidade de nutrientes, culturas anteriores ou companheiras, condições climáticas, etc, são determinantes também para a ocorrência de efetiva atividade alelopática (ALBUQUERQUE et al., 2011).

Os metabólitos podem ser liberados no ambiente pela volatilização, lixiviação, decomposição dos resíduos das plantas no solo ou exsudação pelas raízes (REIGOSA et al., 1999). Assim, a cobertura pode liberar compostos aleloquímicos que inibem a germinação das sementes ou o desenvolvimento das plântulas de determinadas espécies. Também funciona como camada isolante entre a atmosfera e o solo, alterando as condições de temperatura e umidade e diminuindo suas amplitudes (ALMEIDA, 1991), além de proteger o solo contra a erosão, melhorar a fertilidade, aumentar a população da micro e mesofauna (THEISEN e VIDAL, 1999).

Práticas agrícolas, tais como rotação de culturas, adubação verde, plantio direto, cobertura vegetal requerem conhecimento anterior por parte dos agricultores em relação às interações alelopáticas que podem ocorrer entre as espécies de plantas envolvidas (SANGEETHA e BASKAR, 2015).

Muitas substâncias químicas presentes nas plantas medicinais podem levar ao surgimento de efeito alelopático. Para SAITO (2004), as plantas medicinais que apresentam em sua composição óleos essenciais, normalmente, têm-se identificado como promissoras no controle de plantas invasoras.

Plantas da família Lamiaceae são cultivadas em todos os lugares, principalmente para serem usadas como ervas aromáticas e medicinais, e são amplamente estudadas como fontes de antioxidantes naturais, uma vez que são ricas em polifenóis (KONTOGIANNI, et al., 2013).

A sálvia é citada por seus efeitos alelopáticos em sementes e plântulas de alface (*Lactuca sativa* L.) (VIECELLI e CRUZ-SILVA, 2009; BOUAJAJ et al., 2013), milho (*Zea mays* L.), tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill.) e girassol (*Helianthus annus* L.) (SIMONETO e CRUZ-SILVA, 2010).

Assim, o presente estudo avaliou o potencial alelopático de folhas secas de sálvia empregadas como cobertura vegetal sobre o índice de clorofila, crescimento da parte aérea e massa seca de plântulas de tomate cereja (*Lycopersicum esculentum* Mill. var. Cerasiforme Alef.), capim mombaça (*Panicum maximum* var. Mombaça) e chia (*Salvia hispanica* L.).

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido no Laboratório de Sementes e Plantas (LASP) e casa de vegetação, do Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Campus Cascavel – Paraná.

As folhas de sálvia foram adquiridas no comércio, já secas; foram trituradas em moinho tipo Willey, reduzidas a pó, o qual foi acondicionado em recipiente plástico até sua utilização.

Para o bioensaio em casa de vegetação, sementes de tomate, capim mombaça e chia foram previamente colocadas em bandeja de germinação, com terra e substrato Tropstrato HT® por sete dias, a  $25 \pm 3$  °C.

Vasos plásticos com capacidade de aproximadamente um quilograma, preenchidos com solo coletado em área agricultável no município de Catanduvas, na profundidade de

0-20 cm, peneirado e seco ao ar (terra fina seca ao ar – TFSA), foram preparados para receber três plântulas, sete dias após a germinação, com aproximadamente 5 cm de comprimento, em cada vaso, sendo 10 vasos (repetições) por tratamento. Sobre elas foi disposta a massa seca triturada de folhas de sálvia nas proporções 3,75; 7,5 e 15,0 t ha<sup>-1</sup>, além da testemunha (sem massa). Os vasos foram irrigados a cada dois dias para manter a capacidade de campo, em casa de vegetação.

Aos 30 dias, as plantas de tomate cereja, capim mombaça e chia foram avaliadas quanto ao índice de clorofila, crescimento da parte aérea e massa seca. O índice de clorofila das folhas foi determinado utilizando-se o clorofiLog Falker®. Foi mensurada uma planta por repetição, no período da manhã, e o resultado expresso em índice de clorofila Falker (ICF). Para a determinação da massa seca da parte aérea, as amostras colhidas foram submetidas à secagem em estufa com ventilação forçada a 65 °C, durante 72 horas. Após esse período, as amostras foram pesadas, para obtenção da massa seca em gramas por plântula.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com quatro proporções de massa seca de sálvia, incluindo o controle e dez repetições por tratamento.

Os dados foram previamente submetidos aos testes de normalidade (Shapiro-Wilk) e homocedasticidade (Bartlett) para análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, utilizando-se o software R (R Development Core Team, 2014).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Após 30 dias verificou-se que a sálvia utilizada como cobertura influenciou negativamente o índice de clorofila das folhas de tomate cereja e capim mombaça, quando utilizadas nas proporções de 7,5 e 15,0 t ha<sup>-1</sup>, as quais diferiram estatisticamente do tratamento controle (Tabela 3.1). As plântulas de chia não tiveram o índice de clorofila

influenciado pelos tratamentos.

**Tabela 3.1** – Índice de clorofila, comprimento da parte aérea (CPA) e massa seca de plantas de tomate cereja submetidos à sálvia como cobertura vegetal.

Tomate cereja			
Tratamentos	Clorofila(ICF)	CPA (cm)	Massa seca (g)
0 t ha <sup>-1</sup>	12,72a	20,07a	0,56a
3,75 t ha <sup>-1</sup>	10,12ab	14,81b	0,36ab
7,5 t ha <sup>-1</sup>	8,27bc	13,64bc	0,36ab
15,0 t ha <sup>-1</sup>	5,95c	8,71c	0,16b
Média	7,39	11,44	0,29
Capim Mombaça			
Tratamentos	Clorofila	CPA (cm)	Massa seca (g)
0 t ha <sup>-1</sup>	36,45a	45,18a	0,21a
3,75 t ha <sup>-1</sup>	33,28ab	43,38a	0,18ab
7,5 t ha <sup>-1</sup>	31,27b	38,84ab	0,12bc
15,0 t ha <sup>-1</sup>	28,55b	32,12b	0,10c
Média	32,39	39,88	0,15
Chia			
Tratamentos	Clorofila ns	CPA (cm) ns	Massa seca (g) ns
0 t ha <sup>-1</sup>	33,65	15,50	0,18
3,75 t ha <sup>-1</sup>	31,32	13,78	0,14
7,5 t ha <sup>-1</sup>	32,78	16,28	0,18
15,0 t ha <sup>-1</sup>	33,06	14,21	0,13
Média	32,59	14,96	0,16

ICF: Índice de clorofila Falker. Médias seguidas de letras diferentes na coluna indicam diferença estatística significativa pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns.: não significativo

Em testes com extratos de plantas alelopáticas, comsorgo (*Sorghum bicolor*), girassol (*Helianthus annuus*), brássicas (*Brassica compestris*), amoreira (*Morris alba*), eucalipto (*Eucalyptus camaldulensis*) e cereja-de-inverno (*Withania somnifera*), sobre plantas invasoras de arroz, das espécies (beldroega-cavalo (*Trianthema portulacastrum*), arroz-selvagem (*Echinochloa colona*), capim (*E. cruss-galli*), tiririca-roxa (*Cyperus rotundus*) e tiririca-arroz-plana (*C. iria*); KHALIQ et al. (2013) verificaram que o conteúdo total de clorofilas foliares tratadas com os extratos aquosos diminuiu em comparação ao controle, e os níveis de variações das reduções foram observados de acordo com a espécie doadora e receptora. Semelhante ao observado neste trabalho, em que houve resposta variada de acordo com a espécie receptora utilizada.

Segundo KONTOGIANNI et al. (2013), a *S. officinalis* apresenta alto teor de compostos fenólicos. YANG et al. (2004) testaram o efeito de compostos fenólicos, em

plântulas de arroz, e encontraram efeitos inibitórios, em graus diferentes, no acúmulo de clorofila e aumento na atividade das clorofilases a e b, que são enzimas associadas à degradação da clorofila, levando à diminuição da eficiência fotossintética.

A inibição no teor de clorofila pode estar associada aos compostos encontrados na sálvia. O 2-Benzoxazolinone (BOA) é um aleloquímico presente em algumas dicotiledôneas incluindo a família Lamiaceae (HUSSAIN e REIGOSA, 2011). O teor de clorofila é a média da quantidade de clorofila presente em determinada área foliar. Plantas de soja (*Glycine max* L. Merrill) expostas ao BOA apresentaram menor teor de clorofila, cujo resultado foi a redução da taxa fotossintética (PARIZOTTO et al., 2011).

Segundo CHOU (1999), a fotossíntese é afetada pelos aleloquímicos, pois esses provocam mudanças no conteúdo de clorofila das plantas receptoras. A redução da clorofila pode ser atribuída à inibição da biossíntese daquelas pelos compostos alelopáticos (BORELLA et al., 2012).

Além disso, DAYAN et al. (2000) relacionaram que a resposta fenotípica às fitotoxinas naturais pode ser um resultado de efeito secundário, ao invés de um mecanismo de ação primária do composto. Exemplificaram ao relacionarem que a redução do crescimento da raiz é um efeito secundário para a inibição do fotossistema II, causado pelo aleloquímico sorgoleone.

O comprimento da parte aérea das plantas de tomate foi inibido em todas as proporções de sálvia usada como cobertura, com redução do crescimento em 26, 32 e 56% para as massas de 3,75; 7,5 e 15,0 t ha<sup>-1</sup>, respectivamente, de forma dose dependente.

Diferente do observado, CHALKOS et al. (2010) utilizaram duas espécies da família Lamiaceae, *Mentha spicata* e *Salvia fruticosa*, com folhas incorporadas ao solo por 60 dias e verificaram que, em geral, o comprimento da parte aérea e a biomassa de plantas de tomate, em solo incorporado, foi maior do que as do tratamento controle. Esse

crescimento aumentou com o aumento da taxa do composto (2, 4 e 8%), mas não de forma proporcional. Esse também foi mais evidente no crescimento inicial, 20 dias após emergência, principalmente para as plantas com incorporação de *M. spicata*. Em solos que foram incorporados *M. spicata* observou-se a redução do número de plantas invasoras que surgiram ao longo do experimento, quando comparado aos demais.

Semelhante ao observado para a variável comprimento da parte aérea, a utilização de extrato aquoso obtido por infusão de folhas de sálvia inibiu o crescimento da parte aérea de plântulas de girassol (*Helianthus annuus* L.) em todas as concentrações testadas (7,5 a 30%) e de tomate na concentração mais elevada (30%) (SIMONETO e CRUZ-SILVA, 2010).

As plantas de capim mombaça tiveram seu crescimento reduzido quando se utilizou a proporção mais elevada de massa seca (20g), com inibição de 29% do comprimento comparado ao tratamento sem massa. Ao passo que, o crescimento das plantas de chia não foi influenciado pela presença de folhas de sálvia em cobertura, sem apresentar autotoxicidade.

VIECELLI e CRUZ-SILVA (2009) observaram que extratos aquosos de folhas de sálvia, preparados por decocção, estático e triturado inibiram o crescimento da parte aérea de plântulas de alface (*Lactuca sativa* L.) na concentração de 30%, de acordo com as estações do ano. Também, BOUAJAJ et al. (2013) relataram que seu óleo essencial inibiu a germinação e o crescimento da raiz de alface.

A massa seca das plantas de tomate reduziu em 71% com o uso de 15,0 t ha<sup>-1</sup> de folhas secas de sálvia por vaso e diferiu significativamente do tratamento controle. Também houve redução na massa de plantas do capim mombaça quando foram utilizados 7,5 e 15,0 t ha<sup>-1</sup> de sálvia em cobertura, na proporção de 43 e 52%, respectivamente quando comparado ao tratamento controle. Não foi observado efeito para plantas de chia.

KRUSE et al. (2000); PIRES e OLIVEIRA (2001) relacionam além da alface, o tomate como uma espécie sensível aos compostos aleloquímicos, as quais podem ser utilizadas como indicadoras da atividade alelopática.

Ferreira e Áquila (2000) relataram que a resistência ou tolerância aos metabólitos secundários que funcionam como aleloquímicos é mais ou menos específica, pois existem espécies mais sensíveis que outras. O mesmo também foi observado neste trabalho, pois as plantas de tomate são mais sensíveis à massa seca de sálvia quando comparadas às plantas de capim mombaça. As plantas de chia se mostraram tolerantes à massa seca de sálvia, sem redução nas características avaliadas.

Neste contexto, MATYSIAK et al. (2014) analisaram o efeito da massa seca de plantas medicinais sobre a emergência e massa fresca de quatro espécies e verificaram que a sálvia afeta distintamente, de acordo com a espécie receptora. A sálvia reduziu a germinação e a massa fresca de plantas da espécie nabo forrageiro (*Brassica napus* var. oleifera (L.) cultivar maximus), sem influenciar esses parâmetros para as demais espécies, incluindo a *B. napus* var. oleifera (L.) cultivar californium, que é da mesma espécie da planta que foi influenciada negativamente. Isso evidencia que as espécies respondem de forma diferente à planta doadora testada.

Desta forma, o uso de mais de uma espécie permite melhor dimensionamento das reais potencialidades alelopáticas das espécies doadoras do que simplesmente utilizar uma única espécie, além de possibilitar inferências mais amplas e mais próximas da realidade. Segundo os autores, pode-se considerar que entre as espécies receptoras esteja uma sensível, outra medianamente sensível e outra de baixa sensibilidade (SOUZA FILHO, GUILHON e SANTOS, 2010).

Segundo PIRZAD et al. (2010), o uso de extrato aquoso de sálvia influenciou menos o crescimento da parte aérea do que da raiz em plântulas de beldroega (*Portulaca oleracea* L.). O desenvolvimento do caule foi inibido utilizando extratos a 10%, enquanto o

crescimento da raiz foi inibido em todas as concentrações (5-20%) quando comparado ao controle. O mesmo padrão de inibição foi verificado para a massa seca das plântulas de beldroega que reduziram quando expostas às concentrações de 10, 15 e 20% quando comparadas às concentrações de 0 e 5%.

BAJALAN et al. (2013) também observaram inibição do crescimento do caule, da raiz e da massa seca de cevada (*Hordeum vulgare* L.) e beldroega quando expostas aos extratos aquosos de sálvia. E o efeito foi mais pronunciado quando se aumentava a concentração do extrato (6 a 50%). Os autores sugerem usar as características de *Salvia officinalis* na produção de herbicidas e pesticidas naturais.

Extratos de *Salvia macrosiphon* Boiss, do mesmo gênero da espécie estudada neste trabalho, inibiu a germinação, o crescimento aéreo e radicular, a massa fresca e seca de milho (*Zea mays* L.) com o aumento da concentração do extrato (ROWSHAN e KARIMI, 2013).

De forma geral, nas condições de realização deste experimento, a sálvia em cobertura reduziu as variáveis avaliadas no desenvolvimento do tomate cereja e capim mombaça, e isso indica que houve efeito alelopático. Pode-se sugerir então que a semeadura em sequência, ou muito próxima, deve ser evitada. As plantas de chia não apresentaram sensibilidade à sálvia em cobertura.

## AGRADECIMENTOS

A primeira autora é grata à CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa de estudos.

## REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, M. B.; SANTOS, R. C.; LIMA, L. M.; MELO FILHO, P. A.; NOGUEIRA, R. J. M. C.; CÂMARA, C. A. G.; RAMOS, A. R. Allelopathy, an alternative tool to improve

- cropping systems. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v.1, n.2, p. 379-395, 2011.
- ALMEIDA, F. S. Controle de plantas daninhas em plantio direto. Londrina: IAPAR, 1991. 34p. (**Circular 67**).
- BAJALAN, I.; ZAND, M.; REZAEI, S. Allelopathic effects of aqueous extract from *Salvia officinalis* L. on seed germination of barley and purslane. **International Journal of Agriculture and Crop Sciences**, v.5, n.7, p.802-805, 2013.
- BORELLA, J.; WANDSCHEER, A.C.D.; PASTORINI, L.H. Efeito alelopático de extratos de folhas de *Solanum americanum* sobre o vigor do rabanete. **Revista Trópica - Ciências Agrárias e Biológicas**, v.6, n.1, p.44-51, 2012. BOUAJAJ, S.; BENYAMNA, A.; BOUAMAMA, H.; ROMANE, A.; FALCONIERI, D.; PIRAS, A.; MARONGIU, B. Antibacterial, allelopathic and antioxidant activities of essential oil of *Salvia officinalis* L. growing wild in the Atlas Mountains of Morocco. **Natural Product Research**, v.27, n.18, p.1673-1676, 2013.
- CHALKOS, D.; KADOGLIDOU, K.; KARAMANOLI, K.; FOTIOU, C.; PAVLATOU-VE, A.S.; ELEFTHEROHORINOS, I.G.; CONSTANTINIDOU, H.A.; VOKOU, D. *Mentha spicata* and *Salvia fruticosa* composts as soil amendments in tomato cultivation. **Plant Soil**, v.332, n.1/2, p.495-509., 2010.
- CHOU, C. Roles of allelopathy in plant biodiversity and sustainable agriculture. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.18, n.5, p.609-636, 1999.
- DAYAN, F.E.; ROMAGNI, J.G.; DUKE, S.O. Investigating the mode of action of natural phytotoxins. **Journal of Chemical Ecology**, v.26, n.9, p.2079-2094, 2000.
- FERREIRA, A. G.; ÁQUILA, M. E. A Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.12 edição especial, p.175-204, 2000.
- HUSSAIN, M. I.; REIGOSA, M. J. Allelochemical stress inhibits growth, leaf water relations, PSII photochemistry, non-photochemical fluorescence quenching, and heat energy dissipation in three C3 perennial species. **Journal of Experimental Botany**, v. 62, n. 13, p. 4533-4545, 2011.
- KHALIQ, A.; MATLOOB, A.; KHAN, M.B.; TANVEER, A. Differential suppression of rice weeds by allelopathic plant aqueous extracts. **Planta Daninha**, v. 31, n. 1, p. 21-28, 2013
- KONTOGIANNI, V. G.; TOMIC, G.; NIKOLIC, I.; NERANTZAKI, A. A.; SAYYAD, N.; STOSIC-GRUJICIC, S.; STOJANOVIC, I.; GEROTHANASSIS, I. P.; TZAKOS, A. G. Phytochemical profile of *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis* extracts and correlation to their antioxidant and anti-proliferative activity. **Food Chemistry**, v.136, n.1, p.120–129, 2013.
- KRUSE, M.; STRANDBERG, M.; STRANDBERG, B. **Ecological effects of allelopathic plants. A review.** Department of Terrestrial Ecology, Silkeborg: Denmark, Rep. n.315, 2000. 66p.
- MALHEIROS, A.; PERES, M. T. L. P. Alelopatia: Interações químicas entre espécies. Chapecó: Argos: 2001. In: YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B. **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna.** Chapecó: Argos: 2001. p. 505-521.
- MATYSIAK, K.; KACZMAREK, S.; KIERZEK, R. Allelopathic effect of popular medicinal plants on *Fagopyrum esculentum* (Moench), *Papaver somniferum* (L.) and *Brassica napus* var. *Oleifera* (L.). **Journal of Medicinal Plant Research**, v.8, p.1051-1059, 2014.
- PARIZOTTO, A.V.; FOLETTO, M.P.; BIDO, G.; FERRARESE FILHO, O. Influência do aleloquímico 2-benzoxazolinona na atividade fotossintética de plantas de soja (*Glycine max* L. Merrill). **VII EPCC – Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar CESUMAR – Centro Universitário de Maringá.** 2011. p.1-6.
- PIRES, N. M.; OLIVEIRA, V. R. Alelopatia. (Cap. 5). In: OLIVEIRA, R. S.; CONSTANTIN, J. **Plantas daninhas e seu manejo.** Agropecuária, Guaíba, 2001. p. 145-185.

- PIRZAD, A.; GHASEMIAN, V.; DARVISHZADEH, R.; SEDGHI, M.; HASSANI, A.; ONOFRI, A. Allelopathy of sage and white wormwood on purslane germination and seedling growth. **Notulae Scientia Biologicae**, v.2, n.3, p.91-95, 2010.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. 2014. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, <http://www.R-project.org>.
- REIGOSA, M. J.; MOREIRAS-SANCHEZ, A.; GONZALEZ, L. Ecophysiological approach in allelopathy. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.18, n.5, p.577-608, 1999.
- RICE, E.L. **Allelopathy**. 2 ed., New York: Academic Press, 1984. 422p.
- ROWSHAN, V.;KARIMI, S. Essential oil composition and allelopathic effect of *Salvia macrosiphon* Boiss. On *Zea mays* L. **International Journal of Agriculture: Research and Review**, v.3, p.788-794, 2013.
- SAITO, L.M. **As plantas praguicidas: alternativa para o controle de pragas da agricultura**. Embrapa:Meio ambiente. Jaguariúna, 2004. 4p.
- SANGEETHA, C.; BASKAR, P. Allelopathy in weed management: a critical review. **African Journal of Agricultural Research**, v.10, n.9, p.1004-1015, 2015.
- SIMONETO, E. L.; CRUZ-SILVA, C. T. A. Alelopatia de sálvia sobre a germinação e o desenvolvimento do milho, tomate e girassol. **Cultivando o Saber**, v.3, n.3, p.48-56, 2010.
- SOUZA-FILHO, A. P. S.; GUILHON, G. M. S. P.; SANTOS, L. S. Metodologias empregadas em estudos de avaliação da atividade alelopática em condições de laboratório – Revisão crítica. **Planta Daninha**, v. 28, n.3, p.689- 697, 2010.
- THEISEN, G.; VIDAL, R. A. Efeito da cobertura do solo com resíduos de aveia preta nas etapas do ciclo de vida do campim marmelada. **Planta Daninha**, v.17, n.2, p.189 - 96, 1999.
- VIECELLI, C.A.; CRUZ-SILVA, C. A. T. Efeito da variação sazonal no potencial alelopático de Sálvia. **Semina: Ciências agrárias**, v.30, n.1, p.39-46, 2009.
- YANG, C.M.; CHANG, I.F.; LIN, S.J.; CHOU, C.H. Effects of three allelopathic phenolics on chlorophyll accumulation of rice (*Oryza sativa*) seedlings: II. Stimulation of consumption-orientation. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, v.45, n.2, p. 119-125, 2004.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A análise fitoquímica dos extratos, preparados a partir de folhas secas de *S. officinalis* L., indicou a presença de taninos, saponinas, flavonóides e triterpenóides. Os extratos acetônico e metanólico apresentaram melhor atividade antioxidante, equivalente ao antioxidante sintético BHT. Os extratos de sálvia apresentaram maior efeito fitotóxico para os parâmetros germinativos do que para o crescimento das plântulas. Os resultados variaram de acordo com o solvente utilizado para preparo do extrato, visto que os compostos apresentam diferente afinidade de acordo com o grupo químico ao qual pertencem os compostos fitotóxicos. O efeito também variou em função da espécie alvo, pois as espécies apresentam sensibilidade diferenciada ao possível aleloquímico. Assim, evidencia-se a importância de se utilizar mais de uma espécie como receptora em pesquisas semelhantes.

A composição química do óleo essencial de folhas de sálvia é diversificada. Os componentes majoritários identificados foram cânfora, canfeno,  $\alpha$  e  $\beta$ -pineno e limoneno, com predominância de monoterpenóides. O óleo também apresentou valores que o caracterizam como ótimo antioxidante. O percentual final de germinação das três espécies testadas não foi influenciado pelo óleo de sálvia. Entretanto, o índice de velocidade, tempo e velocidade média de germinação de sementes de tomate e chia foram afetados de forma negativa na maior parte das concentrações analisadas. O diferencial associado à espécie também foi observado para o efeito do óleo essencial e o capim mombaça apresentou menor sensibilidade.

A sálvia em cobertura reduziu as variáveis avaliadas em tomate e capim mombaça. Assim, a semeadura em sequência, ou muito próxima, deve ser evitada. Entretanto, não apresentou efeito nas plantas de chia. Sugerem-se estudos futuros com o potencial alelopático da sálvia utilizada em campo, visando à redução de espécies invasoras.

Pode-se ressaltar que as espécies botânicas respondem de forma diferenciada e, nem sempre o efeito ocorre sobre o percentual de germinação. O tomate foi a espécie mais sensível, pois foi influenciada por todas as formas utilizadas das folhas de sálvia, seguido do capim mombaça e por último, da chia, a qual foi afetada negativamente quando se utilizou o óleo essencial.

De forma geral, as folhas secas de sálvia apresentaram potencial fitotóxico nas espécies e na forma de isolamento avaliadas, o que a torna uma espécie de interesse para pesquisa aleloquímica.

Os extratos hexânico e metanólico apresentaram maior potencial de inibição, sendo as frações promissoras que devem ser utilizadas para estudos futuros sobre fracionamento e purificação de compostos, com possível atividade alelopática.

**ANEXO I**  
**Normas Acta Scientiarum. Agronomy**

Diretrizes para Autores

**POLÍTICA CONTRA PLÁGIO E MÁIS-CONDUTAS EM PESQUISA**

Continuando nossa tradição de excelência, informamos as melhorias editoriais que visam fortalecer a integridade dos artigos publicados por esta revista. Em conformidade com as diretrizes do COPE (*Committee on Publication Ethics*), que visam incentivar a identificação de plágio, más práticas, fraudes, possíveis violações de ética e abertura de processos, indicamos:

**1. Os autores devem visitar o website do COPE** <http://publicationethics.org>, que contém informações para autores e editores sobre a ética em pesquisa;

**2. Antes da submissão, os autores devem seguir os seguintes critérios:**

- artigos que contenham aquisição de dados ou análise e interpretação de dados de outras publicações devem referenciá-las de maneira explícita;
- na redação de artigos que contenham uma revisão crítica do conteúdo intelectual de outros autores, estes deverão ser devidamente citados;
- todos os autores devem atender os critérios de autoria inédita do artigo e nenhum dos pesquisadores envolvidos na pesquisa poderá ser omitido da lista de autores;
- a aprovação final do artigo será feita pelos editores e conselho editorial.

**3. Para responder aos critérios, serão realizados os seguintes procedimentos:**

- a) Os editores avaliarão os manuscritos com o sistema CrossCheck logo após a submissão. Primeiramente será avaliado o conteúdo textual dos artigos científicos, procurando identificar plágio, submissões duplicadas, manuscritos já publicados e possíveis fraudes em pesquisa;
- b) Com os resultados, cabe aos editores e conselho editorial decidir se o manuscrito será enviado para revisão por pares que também realizarão avaliações;
- c) Após o aceite e antes da publicação, os artigos poderão ser avaliados novamente.

**INSTRUÇÕES PARA SUBMISSÃO DE ARTIGOS:**

1. *Acta Scientiarum. Agronomy*, ISSN 1807-8621 (*on-line*), é publicada trimestralmente pela Universidade Estadual de Maringá.
2. A revista publica artigos originais em todas as áreas relevantes da Agronomia, incluindo ciência do solo, entomologia agrícola, fertilidade do solo e adubação, física do solo, fisiologia de plantas cultivadas, fitopatologia, fitossanidade, fitotecnia, gênese, morfologia e classificação dos

solos, manejo e conservação do solo, manejo integrado de pragas das plantas, melhoramento vegetal, microbiologia agrícola, parasitologia agrícola e produção e beneficiamento de sementes.

3. Os autores se obrigam a declarar a cessão de direitos autorais e que seu manuscrito é um trabalho original, e que não está sendo submetido, em parte ou no seu todo, à análise para publicação em outro meio de divulgação científica sob pena de exclusão. Esta declaração encontra-se disponível no endereço: <http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciAgron/about/submissions>.

4. Os dados, ideias, opiniões e conceitos emitidos nos artigos, bem como a exatidão das referências, são de inteira responsabilidade do(s) autor(es). A eventual citação de produtos e marcas comerciais não significa recomendação de seu uso por parte do Conselho Editorial da revista.

5. Os relatos deverão basear-se nas técnicas mais avançadas e apropriadas à pesquisa. Quando apropriado, deverá ser atestado que a pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética e Biossegurança da instituição.

6. Os artigos submetidos deverão ser em inglês.

7. Os artigos serão avaliados por, no mínimo, três consultores da área de conhecimento da pesquisa, de instituições de ensino e/ou pesquisa nacionais e estrangeiras, de comprovada produção científica. Após as devidas correções e possíveis sugestões, o artigo será aceito se tiver dois pareceres favoráveis e rejeitado quando dois pareceres forem desfavoráveis.

8. Os artigos deverão ser submetidos pela internet, acessando o **Portal ACTA**, no endereço <http://www.uem.br/acta>.

9. O conflito de interesses pode ser de natureza pessoal, comercial, política, acadêmica ou financeira. Conflitos de interesses podem ocorrer quando autores, revisores ou editores possuem interesses que podem influenciar na elaboração ou avaliação de manuscritos. Ao submeter o manuscrito, os autores são responsáveis por reconhecer e revelar conflitos financeiros ou de outra natureza que possam ter influenciado o trabalho. Os autores devem identificar no manuscrito todo o apoio financeiro obtido para a execução do trabalho e outras conexões pessoais referentes à realização do mesmo. O revisor deve informar aos editores quaisquer conflitos de interesse que poderiam influenciar sobre a análise do manuscrito, e deve declarar-se não qualificado para revisá-lo.

10. O texto em inglês dos artigos aceitos para publicação será submetido à correção do *American Journal Experts* e custeado pelos autores. (<http://www.journalexperts.com>).

**11.** Não serão aceitos manuscritos nos quais:

- a) os experimentos de campo não incluam dados de dois anos ou de várias localidades dentro do mesmo ano;
- b) a análise de dados obtidos de ambientes controlados seja limitada a apenas um experimento ou bioensaio, sem repetições durante o período;
- c) os experimentos se refiram a apenas testes sobre a atividade de produtos químicos ou biológicos contra agentes bióticos ou estresses fisiológicos;
- d) os experimentos com cultura *in vitro* sejam limitados ao melhoramento dos protocolos padronizados de cultura ou os que não forneçam novas informações no campo;
- e) seus objetivos sejam limitados a registrar a primeira ocorrência de um organismo nocivo ao sistema ecoagrícola ou um estudo básico sobre os parâmetros biológicos do organismo sem uma definida indicação de como esse conhecimento poderia melhorar o manejo da praga no contexto local ou regional.

**12.** Estão listadas abaixo a formatação e outras convenções que deverão ser seguidas:

- a) No processo de submissão, deverão ser inseridos os nomes completos dos autores (no máximo seis), seus endereços institucionais e o *e-mail* do autor indicado para correspondência.
- b) Os artigos deverão ser subdivididos com os seguintes subtítulos: Resumo, Palavras-chave, *Abstract*, *Keywords*, Introdução, Material e métodos, Resultados e/ou Discussão, Conclusão, Agradecimentos (opcional) e Referências. Esses itens deverão ser em caixa alta e em negrito e não deverão ser numerados.
- c) O título, com no máximo vinte palavras, em português e inglês, deverá ser preciso. Também deverá ser fornecido um título resumido com, no máximo, seis palavras.
- d) O resumo, não excedendo 200 palavras, deverá conter informações sucintas sobre o objetivo da pesquisa, os materiais experimentais, os métodos empregados, os resultados e a conclusão. Até seis palavras-chave que não estejam citadas no título deverão ser acrescentadas ao final tanto do resumo como do *abstract*.
- e) Os artigos não deverão exceder 18 páginas digitadas, incluindo figuras, tabelas e referências. Deverão ser escritos em espaço 1,5 linhas e ter suas páginas e linhas numeradas. O trabalho deverá ser editado no *Word*, ou compatível, utilizando *Times New Roman* fonte 12.
- f) O trabalho deverá ser formatado em A4 e as margens inferior, superior, direita e esquerda deverão ser de 2,5 cm.

- g) O arquivo contendo o trabalho que deverá ser anexado (transferido), durante a submissão, não poderá ultrapassar o tamanho de 2 MB, nem poderá conter qualquer tipo de identificação de autoria, inclusive na opção propriedades do *Word*.
- h) Tabelas, figuras e gráficos deverão ser inseridos no texto, logo depois de citados.
- i) As figuras e as tabelas deverão ter preferencialmente 7,65 cm de largura e não deverão ultrapassar 16 cm.
- j) As figuras digitalizadas deverão ter 300 dpi de resolução e preferencialmente gravadas no formato jpg ou png. Ilustrações em cores serão aceitas para publicação.
- k) Deverá ser adotado o Sistema Internacional (SI) de medidas.
- l) As equações deverão ser editadas, utilizando o *software Math Type* ou inseridas como figura jpg ou png.
- m) As variáveis deverão ser identificadas após a equação.
- n) Recomenda-se que os autores realizem a análise de regressão para fatores quantitativos.
- o) Artigos de revisão poderão ser publicados mediante convite do Conselho Editorial ou Editor-Chefe da Eduem.
- p) A revista recomenda que oitenta por cento (80%) das referências bibliográficas sejam de artigos listados na base *ISI Web of Knowledge*, *Scopus* ou *SciELO* com menos de 10 anos. Recomenda-se dar preferência às citações de artigos internacionais. Não serão aceitas nas referências citações de monografias, dissertações e teses, anais, resumos, resumos expandidos, jornais, magazines, boletins técnicos e documentos eletrônicos.
- q) As citações deverão seguir os exemplos abaixo, que se baseiam na norma da *American Psychological Association* (APA). Para citação no texto, usar o sobrenome e ano: Lopes (2005) ou (Lopes, 2005); para dois autores: Souza e Scapim (2005) ou (Souza & Scapim, 2005); para três a cinco autores (1.<sup>a</sup> citação): Venturieri, Venturieri e Leopoldo (2013) ou (Venturieri, Venturieri & Leopoldo, 2013) e, nas citações subsequentes, Venturieri et al. (2013) ou (Venturieri et al., 2013); para seis ou mais autores, citar apenas o primeiro seguido de et al.: Wayner et al. (2007) ou (Wayner et al., 2007).

### **MODELOS DE REFERÊNCIAS**

Deverão ser organizadas em ordem alfabética, alinhamento justificado, conforme os exemplos seguintes, que se baseiam na norma da *American Psychological Association* (APA). Listar todos os autores do trabalho. Os títulos dos periódicos deverão ser completos e não abreviados e em itálico, sem o local de publicação.

## Artigos

### Um autor

Oerke, E. C. (2006). Crop losses to pests. *Journal of Agricultural Science*, 144(1), 31-43.

**Dois a sete autores** (devem-se indicar todos os autores separados por vírgula, exceto o último que deve ser separado por vírgula seguido de &)

Caporusso, N. B., & Rolim, G. S. (2015). Reference evapotranspiration models using different time scales in the Jaboticabal region of São Paulo, Brazil. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 37(1), 1-9. doi: 10.4025/actasciagron.v37i1.18277

Achten, W. M. J., Verchot, L., Franken, Y. J., Mathijs, E., Singh, V. P., Aerts, R., & Muys, B. (2008) *Jatropha* bio-diesel production and use. *Biomass and Bioenergy*, 32(12), 1063-1084.

**Oito ou mais autores** (devem-se indicar os seis primeiros, inserir reticências e acrescentar o último autor)

Soares, M. A., Leite, G. L. D., Zanuncio, J. C., Sá, V. G. M., Ferreira, C. S., Rocha, S. L., ... Serrão, J. E. (2012). Quality Control of *Trichogramma atopovirilia* and *Trichogramma pretiosum* (Hym.: Trichogrammatidae) adults reared under laboratory conditions. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 55(2), 305-311.

### Livros

Falconer, D. S., & Mackay, T. F. C. (1996). *Introduction to quantitative genetics*. Edinburgh, SC: Addison Wesley Longman.

Kevan, P. G., & Imperatriz-Fonseca, V. L. (2006). *Pollinating bees: the conservation link between agriculture and nature*. 2nd ed. Brasília, DF: Secretariat for Biodiversity and Forests.

Parra, J. R. P. (1991). Consumo e utilização de alimentos por insetos. In A. R. P. Panizzi (Ed.), *Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas* (p. 9-65). São Paulo, SP: Manole.

### Condições para submissão

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

1. A contribuição é original e inédita e não está sendo avaliada por outra revista.
2. Os arquivos para submissão estão em formato Microsoft Word, Open Office ou RTF (desde que não ultrapasse 2MB).

3. Todos os endereços de páginas da Internet, incluídas no texto (Ex: <http://www.eduem.uem.br>) estão ativos e prontos para clicar.
4. O texto está em empaço 1,5; usa uma fonte de 12-pontos Times New Roman; emprega itálico ao invés de sublinhar (exceto em endereços URL); com figuras e tabelas inseridas no texto, e não em seu final. No máximo **18** páginas.
5. O texto segue os padrões de estilo e requisitos bibliográficos em Diretrizes para Autores, na seção Sobre a Revista.
6. A identificação de autoria deste trabalho foi removida do arquivo e da opção propriedades do Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista, caso submetido para avaliação por pares (ex.: artigos), conforme instruções disponíveis em Assegurando a Avaliação por Pares Cega.

### **Declaração de Direito Autoral**

#### DECLARAÇÃO DE ORIGINALIDADE E CESSÃO DE DIREITOS AUTORAIS

Declaro que o presente artigo é original, não tendo sido submetido à publicação em qualquer outro periódico nacional ou internacional, quer seja em parte ou em sua totalidade. Declaro, ainda, que uma vez publicado na revista **Acta Scientiarum. Agronomy**, editada pela Universidade Estadual de Maringá, o mesmo jamais será submetido por mim ou por qualquer um dos demais co-autores a qualquer outro meio de divulgação científica. Através deste instrumento, em meu nome e em nome dos demais co-autores, porventura existentes, cedo os direitos autorais do referido artigo à Universidade Estadual de Maringá e declaro estar ciente de que a não observância deste compromisso submeterá o infrator a sanções e penas previstas na Lei de Proteção de Direitos Autorais (Nº9609, de 19/02/98).

### **Política de Privacidade**

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou à terceiros.

## ANEXO II

### Normas Journal of Medicinal Plants Research

#### **JMPR - Instructions for Authors**

##### **Introduction**

Authors should read the editorial policy and publication ethics before submitting their manuscripts. Authors should also use the appropriate reporting guidelines in preparing their manuscripts.

##### **Reporting guideline**

Responsible reporting of research studies, which includes a complete, transparent, accurate and timely account of what was done and what was found during a research study, is an integral part of good research and publication practice and not an optional extra.

See additional guidelines for reporting of health research.

##### **Preparing your manuscript**

The type of article should determine the manuscript structure. However, the general structure for articles should follow the IMRAD structure.

##### **Title**

The title phrase should be brief.

**List authors' full names** (first-name, middle-name, and last-name).

Affiliations of authors (department and institution).

Emails and phone numbers

##### **Abstract**

The abstract should be less than 300 words. Abstract may be presented either in unstructured or structured format. The keywords should be less than 10.

##### **Abbreviations**

Abbreviation should be used only for non standard and very long terms.

##### **Introduction**

The statement of the problem should be stated in the introduction in a clear and concise manner.

##### **Materials and methods**

Materials and methods should be clearly presented to allow the reproduction of the experiments.

##### **Results and discussion**

Results and discussion may be combined into a single section. Results and discussion may also be presented separately if necessary.

#### **Disclosure of conflict of interest**

Authors should disclose all financial/relevant interest that may have influenced the study.

#### **Acknowledgments**

Acknowledgement of people, funds etc should be brief.

#### **Tables and figures**

Tables should be kept to a minimum.

Tables should have a short descriptive title.

The unit of measurement used in a table should be stated.

Tables should be numbered consecutively.

Tables should be organized in Microsoft Word or Excel spreadsheet.

Figures/Graphics should be prepared in GIF, TIFF, JPEG or PowerPoint.

Tables and Figures should be appropriately cited in the manuscript.

#### **References**

References should be listed in an alphabetical order at the end of the paper. DOIs, PubMed IDs and links to referenced articles should be stated wherever available.

#### **Examples:**

Baumert J, Kunter M, Blum W, Brunner M, Voss T, Jordan A, Klusmann U, Krauss S, Neubrand M, Tsai YM (2010). Teachers' mathematical knowledge, cognitive activation in the classroom, and student progress. *Am. Educ. Res. J.* 47(1):133-180.

<http://dx.doi.org/10.3102/0002831209345157>

Christopoulos DK, Tsionas EG (2004). "Financial Development and Economic Growth: Evidence from Panel Unit Root and Cointegration Tests" *J. Dev. Econ.* pp.55-74

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jdeveco.2003.03.002>

Goren A, Laufer J, Yativ N, Kuint J, Ben Ackon M, Rubinshtein M, Paret G, Augarten A (2001). Transillumination of the palm for venipuncture in infants. *Pediatric. Emerg. Care* 17:130-131.

<http://dx.doi.org/10.1097/00006565-200104000-00013> PMID:11334094

Mishra A, Mishra SC (2001). Cost-effective diagnostic nasal endoscopy with modified otoscope. *J. Laryngol. Otol.* 115:648-649.

<http://dx.doi.org/10.1258/0022215011908739> PMID:11535147

## ANEXO III

### Normas Revista Brasileira de Plantas Mediciniais

A *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais - RBPM* é publicação trimestral, exclusivamente eletrônica a partir de 2012, e destina-se à divulgação de trabalhos científicos inéditos, revisões bibliográficas, e notas prévias, que deverão contemplar as grandes áreas do estudo de plantas medicinais: Agronomia, Farmácia, Biologia, e Química. Manuscritos que envolvam ensaios clínicos deverão apresentar, na carta de encaminhamento, a autorização da Comissão de Ética pertinente, bem como citar o número da autorização na descrição metodológica. Da mesma forma, as pesquisas que envolvam acesso ao patrimônio genético deverão apresentar a autorização do órgão competente citando-o no corpo do texto. Os manuscritos podem ser redigidos em português, inglês ou espanhol, sendo obrigatória a apresentação do resumo em português e em inglês, independente do idioma utilizado. Os manuscritos devem ser enviados por e-mail: [rbpm.sbpm@gmail.com](mailto:rbpm.sbpm@gmail.com), com letra Arial 12, espaço duplo, margens de 2 cm, em “Word for Windows”. A submissão deve ser acompanhada por carta de encaminhamento\*. Os manuscritos, em qualquer modalidade, não devem exceder 20 páginas. Para a publicação, os artigos aprovados submetidos à RBPM a partir de 1º de Abril de 2013 (inclusive), terão custo de tramite de 300 reais (trezentos reais) a ser efetivado pelos autores/responsáveis **somente** na ocasião do recebimento da carta de aceitação do artigo, quando receberão o respectivo boleto e instruções para o pagamento.

\* **Carta de Encaminhamento (em PDF)**

As Submissões devem ser acompanhadas de uma breve carta de encaminhamento ao Editor da RBPM assinada pelo autor principal informando o endereço postal completo, telefone, e-mail e CPF.

Esta carta deve conter: um parágrafo conciso indicando as razões do autor em optar pela publicação na RBPM, e indicar a área principal da pesquisa. O autor deve declarar que a pesquisa é inédita e que a presente submissão é exclusiva à RBPM. Deve anexar, quando couber, o parecer de comites de ética em pesquisa e/ou autorização de acesso ao patrimonio genético.

### **ARTIGO CIENTÍFICO**

Os artigos deverão ser organizados em:

**TÍTULO:** Deverá ser claro e conciso, escrito apenas com a inicial maiúscula, negrito, centralizado, na parte superior da página. Se houver subtítulo, deverá ser em seguida ao título, em minúscula, podendo ser precedido de um número de ordem em algarismo romano. Os nomes comuns das plantas medicinais devem ser seguidos pelo nome científico (binômio latino e autor) entre parênteses.

**AUTORES:** Começar pelo último sobrenome dos autores por extenso (nomes intermediários somente iniciais, sem espaço entre elas) em letras maiúsculas, 2 linhas abaixo do título. Após o nome de cada autor deverá ser colocado um número sobrescrito que deverá corresponder ao endereço: instituição, endereço da instituição (rua e número ou Caixa Postal, cidade, sigla do estado, CEP, e-mail). Indicar o autor que deverá receber a correspondência. Os autores devem ser separados com ponto e vírgula.

**RESUMO:** Deverá constar da mesma página onde estão o título e os autores, duas linhas abaixo dos autores. O resumo deverá ser escrito em um único parágrafo,

contendo objetivo, resumo do material e método, principais resultados e conclusão. Não deverá apresentar citação bibliográfica.

**Palavras-chave:** Deverão ser colocadas uma linha abaixo do resumo, na margem esquerda, podendo constar até cinco palavras.

**ABSTRACT:** Apresentar o título e resumo em inglês, no mesmo formato do redigido em português, com exceção do título, apenas com a inicial em maiúscula, que virá após a palavra ABSTRACT.

**Key words:** Abaixo do Abstract deverão ser colocadas as palavras-chave em inglês, podendo constar até cinco palavras.

**INTRODUÇÃO:** Na introdução deverá constar breve revisão de literatura e os objetivos do trabalho. As citações de autores no texto deverão ser feitas de acordo com os seguintes exemplos: Silva (1996); Pereira & Antunes (1985); (Souza & Silva, 1986) ou quando houver mais de dois autores Santos et al. (1996).

**MATERIAL E MÉTODO (CASUÍSTICA):** Deverá ser feita apresentação completa das técnicas originais empregadas ou com referências de trabalhos anteriores que as descrevam. As análises estatísticas deverão ser igualmente referenciadas. Na metodologia deverão constar os seguintes dados da espécie estudada: nome popular; nome científico com autor e indicação da família botânica; nome do botânico responsável pela identificação taxonômica; nome do herbário onde a exsicata está depositada, e o respectivo número (*Voucher Number*); época e local de coleta, bem como, a parte da planta utilizada.

**RESULTADO E DISCUSSÃO:** Poderão ser apresentados separados, ou como um só capítulo, contendo a conclusão sumarizada no final.

**AGRADECIMENTO:** deverá ser colocado neste capítulo (quando houver).

**REFERÊNCIA:** As referências devem seguir as normas da ABNT 6023 e de acordo com os exemplos:

**Periódicos:**

AUTOR(ES) separados por ponto e vírgula, sem espaço entre as iniciais. Título do artigo. **Nome da Revista, por extenso**, volume, número, página inicial-página final, ano.

KAWAGISHI, H. et al. Fractionation and antitumor activity of the water-insoluble residue of *Agaricus blazei* fruiting bodies. **Carbohydrate Research**, v.186, n.2, p.267-73, 1989.

**Livros :**

AUTOR. **Título do livro**. Edição. Local de publicação: Editora, Ano. Total de páginas.

MURRIA, R.D.H.; MÉNDEZ, J.; BROWN, S.A. **The natural coumarins**: occurrence, chemistry and biochemistry. 3.ed. Chinchester: John Wiley & Sons, 1982. 702p.

**Capítulos de livros:**

AUTOR(ES) DO CAPÍTULO. Título do Capítulo. In: AUTOR (ES) do LIVRO. **Título do livro**: subtítulo. Edição. Local de Publicação: Editora, ano, página inicial-página final.

HUFFAKER, R.C. Protein metabolism. In: STEWARD, F.C. (Ed.). **Plant physiology**: a treatise. Orlando: Academic Press, 1983. p.267-33.

**Tese ou Dissertação:**

AUTOR. **Título em destaque**: subtítulo. Ano. Total de páginas. Categoria (grau e área de concentração) - Instituição, Universidade, Local.

OLIVEIRA, A.F.M. **Caracterização de Acanthaceae medicinais conhecidas como anador no nordeste do Brasil**. 1995. 125p. Dissertação (Mestrado - Área de Concentração em Botânica) - Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

**Trabalho de Evento:**

AUTOR(ES). Título do trabalho. In: Nome do evento em caixa alta, número, ano, local.

**Tipo de publicação em destaque...** Local: Editora, ano. página inicial-página final.

VIEIRA, R.F.; MARTINS, M.V.M. Estudos etnobotânicos de espécies medicinais de uso popular no Cerrado. In: INTERNATIONAL SAVANNA SYMPOSIUM, 3., 1996, Brasília.

**Proceedings...** Brasília: Embrapa, 1996. p.169-71.

**Publicação Eletrônica:**

AUTOR(ES). Título do artigo. **Título do periódico em destaque**, volume, número, página inicial-página final, ano. Local: editora, ano. Páginas. Disponível em: <<http://www.....>>. Acesso em: dia mês (abreviado) ano.

PEREIRA, R.S. et al. Atividade antibacteriana de óleos essenciais em cepas isoladas de infecção urinária. **Revista de Saúde Pública**, v.38, n.2, p.326-8, 2004. Disponível em: <http://www.scielo.br>. Acesso em: 18 abr. 2005.

Não citar resumos e relatórios de pesquisa, a não ser que a informação seja muito importante e não tenha sido publicada de outra forma.

**TABELAS:** Devem ser inseridas no texto, com letra do tipo Arial 10, espaço simples. A palavra TABELA (Arial 12) deve ser em letras maiúsculas, seguidas por algarismo arábico; já quando citadas no texto devem ser em letras minúsculas (Tabela).

**FIGURAS:** As ilustrações (gráficos, fotográficas, desenhos, mapas) devem ser em letras maiúsculas seguidas por algarismo arábico, Arial 12, e inseridas no texto. Quando citadas no texto devem ser em letras minúsculas (Figura). As legendas e eixos devem ser em Arial 10, enviadas em arquivos separados, com resolução 300 DPI, 800 x600, com extensão JPG ou TIFF, para impressão de publicação.