

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE DOUTORADO**

**SÍNTESE DE METABÓLITOS ESPECIAIS EM *Salvia officinalis*
UTILIZANDO DIFERENTES ELICITORES**

GISELE CHAGAS MOREIRA

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA
OUTUBRO - 2022**

SÍNTESE DE METABÓLITOS ESPECIAIS EM *Salvia officinalis* UTILIZANDO DIFERENTES ELICITORES

GISELE CHAGAS MOREIRA

Engenheira Agrônoma

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2016

Tese apresentada ao Colegiado de Curso do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia como requisito parcial para obtenção do Grau de Doutor em Ciências Agrárias, Área de Concentração: Fitotecnia.

Orientador: Prof. Dr. Fabio de Souza Dias

Co-orientadora: Prof. Dra. Franceli da Silva

CRUZ DAS ALMAS – BAHIA

OUTUBRO – 2022

Ficha catalográfica

| | |
|-------|--|
| M838s | <p>Moreira, Gisele Chagas. Síntese de metabólitos especiais em <i>Salvia officinalis</i> utilizando diferentes elicitores / Gisele Chagas Moreira. Cruz das Almas, BA, 2022. 78f; il.</p> <p>Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Doutorado em Ciências Agrárias.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Fábio de Souza Dias. Coorientadora: Prof. Dra. Franceli da Silva.</p> <p>1.Plantas medicinais – Manejo. 2.Plantas medicinais – Reguladores de crescimento – Análise. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.</p> <p>CDD: 581.634</p> |
|-------|--|

Ficha elaborada pela Biblioteca Universitária de Cruz das Almas - UFRB. Responsável pela Elaboração – Antonio Marcos Sarmento das Chagas (Bibliotecário - CRB5 / 1615).

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE DOUTORADO**

**SÍNTESE DE METABÓLITOS ESPECIAIS EM *Salvia officinalis* UTILIZANDO
DIFERENTES ELICITORES**

COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE TESE DE GISELE CHAGAS MOREIRA

Realizada em 7 de outubro de 2022

Prof. Dr. Fábio de Souza Dias

Universidade Federal da Bahia - UFBA

Examinador interno (orientador)

Profa. Dra. Maria Angélica Costa

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB

Examinador interno

Profa. Dra. Leilane Silveira D'Ávila

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB

Examinador externo

Dra. Candice Nobrega Carneiro

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB

Examinador externo

Prof. Dr. Jorge Luís Oliveira Santos

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB

Examinador externo

*“Tudo se torna extraordinário quando sentimos
gratidão por cada conquista que acontece
em nossa vida.”*

(Autor desconhecido)

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

| | |
|----------------------------------|-----------|
| INTRODUÇÃO..... | 8 |
| CAPÍTULO 1..... | 10 |
| CAPÍTULO 2..... | 38 |
| CAPÍTULO 3..... | 61 |
| CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 77 |

SÍNTESE DE METABÓLITOS ESPECIAIS EM *Salvia officinalis* UTILIZANDO DIFERENTES ELICITORES

Autora: Gisele Chagas Moreira

Orientador: Fábio de Souza Dias

RESUMO – A produção dos metabólitos especiais em plantas medicinais e aromáticas depende de fatores genéticos, como a espécie estudada, estágio de desenvolvimento e fatores ambientais, como temperatura, interação microrganismo-planta. Devido a importância que os compostos bioativos possuem e sabendo-se que as condições de cultivo interferem na quantidade e composição dos extratos vegetais, cientistas buscam por técnicas de manejo que aumentem a concentração dos metabólitos especiais. Entre as técnicas estudadas, a inoculação com microrganismos benéficos, como o *Trichoderma* spp., é capaz de ativar o sistema de defesa vegetal, aumentando a concentração de compostos bioativos, além de favorecer a germinação de sementes, o crescimento e desenvolvimento vegetal e controlar patógenos. O mecanismo de ação varia entre as cepas estudadas e é possível que o *Trichoderma* spp. induza a planta produzir fitohormônios envolvidos na defesa vegetal. Outra técnica com resultados promissores é a aplicação de reguladores vegetais, substâncias que são análogas aos fitohormônios produzidos pelas plantas, interferindo em processos fisiológicos como divisão celular, crescimento, floração. Assim como o *Trichoderma* spp., os reguladores vegetais podem ativar genes relacionados ao sistema de defesa vegetal, atuando como elicitores. Plantas de *Salvia officinalis* são cultivadas mundialmente para produção de óleo essencial que podem ser utilizados no controle de pragas e doenças, como matéria-prima na produção de fármacos, cosméticos e alimentos, devido as suas propriedades antioxidantes e antimicrobianas. Além do óleo essencial, o extrato da *Salvia officinalis* é fonte de importantes metabólitos especiais, como os compostos fenólicos. O objetivo deste trabalho foi revisar a produção dos metabólitos especiais em *Salvia officinalis* e avaliar o crescimento vegetal e síntese de compostos fenólicos e flavonoides utilizando diferentes reguladores vegetais e isolados de *Trichoderma* spp.

Palavras-chave: Reguladores vegetais; *Trichoderma* spp.; compostos bioativos.

SYNTHESIS OF SPECIALS METABOLITES IN *Salvia officinalis* USING DIFFERENT ELICITORS

Author: Gisele Chagas Moreira

Advisor: Fábio de Souza Dias

ABSTRACT - The production of special metabolites in medicinal and aromatic plants depends on genetic factors, such as the species studied, developmental stage and environmental factors, such as temperature, microorganism-plant interaction. Due to the importance of bioactive compounds and knowing that the cultivation conditions interfere with the amount and composition of plant extracts, scientists are looking for management techniques that increase the concentration of special metabolites. Among the techniques studied, inoculation with beneficial microorganisms, such as *Trichoderma* spp., is capable of activating the plant defense system, increasing the concentration of bioactive compounds, in addition to favoring seed germination, plant growth and development and controlling pathogens. The mechanism of action varies among the strains studied and it is possible that *Trichoderma* spp. induce the plant to produce phytohormones involved in plant defense. Another technique with promising results is the application of plant regulators, substances that are analogous to phytohormones produced by plants, interfering with physiological processes such as cell division, growth, flowering. Like *Trichoderma* spp., plant regulators can activate genes related to the plant defense system, acting as elicitors. *Salvia officinalis* plants are cultivated worldwide for the production of essential oil that can be used to control pests and diseases, as a raw material in the production of drugs, cosmetics and food, due to its antioxidant and antimicrobial properties. In addition to the essential oil, *Salvia officinalis* extract is a source of important secondary metabolites, such as phenolic compounds. The objective of this work was to review the production of special metabolites in *Salvia officinalis* and to evaluate plant growth and synthesis of phenolic and flavonoid compounds using different plant regulators and *Trichoderma* spp.

Keywords: plant regulators; *Trichoderma* spp.; bioactives compounds.

INTRODUÇÃO

Atualmente, as plantas medicinais são utilizadas por 80% da população rural dos países em desenvolvimento como tratamento e prevenção de doenças e 25% dos medicamentos disponíveis possui alguma substância de origem vegetal (MIJALLI et al., 2022). Plantas do gênero *Salvia* são amplamente utilizadas não só na indústria farmacêutica, como cosmética, alimentícia e agroindústria, por serem fontes de fitoquímicos como os terpenos e flavonoides (CVETKOVIKJ et al., 2013).

A *Salvia officinalis* é a espécie mais cultivada do gênero e o seu cultivo é voltado principalmente para produção de óleo essencial (FARHAT et al., 2016). O óleo essencial da *Salvia officinalis* é fonte de terpenos como cânfora, tujona, cariofileno e diferentes estudos atribuem ao óleo essencial atividade antioxidante, antibacteriana, antiurease e antidiabética (EIDI e EIDI, 2009; FARHAT et al., 2016; HASSAN et al., 2019; MIJALLI et al., 2022). O óleo essencial possui, em menor concentração, outros metabólitos especiais como os compostos fenólicos e taninos (KHIYA et al., 2019). Os compostos fenólicos são um dos principais agentes responsáveis pela ação anti-inflamatória e antioxidante das plantas e estão presentes no óleo essencial e extrato da *Salvia officinalis* e, assim como os terpenos, os compostos fenólicos derivam do metabolismo secundário da planta (PEREZ et al., 2016). Fatores como espécie estudada, idade da planta, temperatura, produtos químicos, infecção por microrganismos interferem no rendimento e composição dos metabólitos especiais (SIRIN, ERTURK e KASANKAYA, 2022).

O uso de elicitores é uma estratégia utilizada por pesquisadores, uma vez que são capazes de induzir a produção de metabólitos especiais nas plantas (SHARMA et al., 2022). Reguladores vegetais, enzimas, proteínas extracelulares encontradas em microrganismos podem atuar como elicitores, pois as plantas são capazes de reconhecer algumas substâncias e, por meio de uma sequência de sinais bioquímicos, ativar genes envolvidos na resistência sistêmica adquirida e resistência sistêmica induzida (PINTO et al., 2011; SHARMA et al., 2022).

Fungos do gênero *Trichoderma* spp. são microrganismos benéficos e, quando inoculados nas plantas, podem atuar na supressão de patógenos, crescimento vegetal, mitigar os efeitos causados por condições ambientais de estresse e aumentar a disponibilidade de nutrientes para as plantas (CONTE et al., 2022; SIRIN, ERTURK e KASANKAYA, 2022). O micélio, metabólitos especiais, hormônios, enzimas produzidos

pelas cepas de *Trichoderma* spp. podem ativar o sistema de defesa vegetal. A resposta à inoculação depende de muitos fatores como cepa e espécie vegetal estudada, disponibilidade de água e nutrientes, temperatura, interação com outros microrganismos.

Os reguladores vegetais são substâncias orgânicas produzidos pelas plantas ou de origem sintética, que alteram o crescimento e desenvolvimento vegetal e podem induzir ao aumento na produção dos metabólitos especiais (ROSTAMI e AZHDARPOOR, 2019). A aplicação de reguladores vegetais aumentaram significativamente a síntese de compostos fenólicos em *Salvia officinalis* e *Ocimum basilicum* (MOREIRA et al., 2021; KOCA e KARAMAN, 2015).

O objetivo deste trabalho foi revisar a produção dos metabólitos especiais em *Salvia officinalis* e avaliar o crescimento vegetal e síntese de compostos fenólicos e flavonoides utilizando diferentes reguladores vegetais e isolados de *Trichoderma* spp.

CAPÍTULO 1

Atividade biológica e composição química do óleo essencial e extrato encontrados na *Salvia officinalis*: revisão

Artigo a ser ajustado e submetido ao Comitê Editorial do período científico Industrial Crops em versão na língua inglesa

Atividade biológica e composição química do óleo essencial e compostos fenólicos encontrados na *Salvia officinalis*: revisão

Resumo - Os metabólitos especiais são substâncias produzidas pelas plantas medicinais e aromáticas que atuam como mecanismo de defesa vegetal, mas não são essenciais para o crescimento e desenvolvimento da planta. A *Salvia officinalis* é uma das espécies medicinais mais cultivadas da família Lamiaceae e é fonte de terpenos e compostos fenólicos. Os terpenos são derivados do isopreno, uma estrutura de 5 carbonos, e atualmente mais de 35 mil substâncias foram identificadas. Os compostos fenólicos são substâncias que se caracterizam por possuírem, pelo menos, um anel aromático ligado a uma ou mais hidroxilas e podem ocorrer de forma simples ou conjugadas com proteínas, carboidratos, terpenos. A síntese de metabólitos especiais nas plantas depende de fatores genéticos e ambientais, por isso podem ser observados na literatura diferenças sobre a composição química do óleo essencial e extratos vegetais. A atividade biológica dos óleos essenciais ou extratos de uma planta depende da quantidade e composição dos metabólitos especiais encontrados, além da interação das substâncias entre si e com o meio. O objetivo deste trabalho é revisar a literatura sobre a composição química e atividade biológica do óleo essencial e extrato de *Salvia officinalis*. Estudos realizados com a *Salvia officinalis* atribuem atividade antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória, anticancerígena, além de evidências que o extrato exerce efeito antidiabético, cognitivo e de melhoria de memória. Devido as diferentes propriedades farmacológicas atribuídas à *Salvia officinalis*, esta planta pode ser utilizada como matéria-prima na indústria farmacêutica, alimentícia, cosmética e agroindústria. O extrato ou óleo essencial produzidos pela *Salvia officinalis* podem ser eficientes para controlar pragas e doenças de outras culturas economicamente importantes, contribuindo para redução de defensivos químicos prejudiciais ao ambiente e à saúde humana. Por isso, mais estudos devem ser realizados, principalmente in vivo, visando à produção de fármacos e biopesticidas utilizando a *Salvia officinalis* como matéria-prima, pois para os testes in vitro a atividade biológica da planta já está bem documentada na literatura.

PALAVRAS-CHAVE: Plantas medicinais; extrato vegetal; fitoquímicos.

Biological activity and chemical composition of essential oil and phenolic compounds found in *Salvia officinalis*: review

Abstract – Special metabolites are substances produced by medicinal and aromatic plants that act as a plant defense mechanism, but are not essential for plant growth and development. *Salvia officinalis* is one of the most cultivated medicinal species of the Lamiaceae family and is a source of terpenes and phenolic compounds. Terpenes are derived from isoprene, a 5-carbon structure, and currently over 35,000 substances have been identified. Phenolic compounds are substances that are characterized by having at least one aromatic ring linked to one or more hydroxyl groups and can occur simply or conjugated to proteins, carbohydrates, terpenes. The synthesis of special metabolites in plants depends on genetic and environmental factors, so differences in the chemical composition of essential oil and plant extracts can be observed in the literature. The biological activity of essential oils or extracts from a plant depends on the amount and composition of the special metabolites found, in addition to the interaction of substances with each other and with the environment. The objective of this work is to review the literature on the chemical composition and biological activity of essential oil and extract of *Salvia officinalis*. Studies carried out with *Salvia officinalis* attribute antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory, anticancer activity, in addition to evidence that the extract has an antidiabetic, cognitive and memory-enhancing effect. Due to the different pharmacological properties attributed to *Salvia officinalis*, this plant can be used as a raw material in the pharmaceutical, food, cosmetics and agro-industry. The extract or essential oil produced by *Salvia officinalis* can be efficient to control pests and diseases of other economically important crops, contributing to the reduction of chemical pesticides that are harmful to the environment and human health. Therefore, more studies should be carried out, mainly in vivo, aiming at the production of drugs and biopesticides using *Salvia officinalis* as raw material, since for in vitro tests the biological activity of the plant is already well documented in the literature.

Keywords: medicinal plants; plant extract; phytochemicals.

INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais e aromáticas é uma prática antiga no tratamento ou prevenção de doenças e, muitas vezes, é o único recurso terapêutico disponível. Estudar a composição química e a atividade biológica destas plantas é necessário para garantir a segurança de quem já utiliza as plantas medicinais e ampliar as possibilidades de produção de novos fármacos (MACIEL et al., 2002; SYTAR et al., 2016; YESIL et al., 2020). Estima-se que, aproximadamente, 25% dos medicamentos disponíveis no mercado contém, pelo menos, uma substância de origem vegetal (BARDAKCI et al., 2019). Além de serem utilizadas pela indústria farmacêutica, as plantas medicinais podem ser utilizadas na fabricação de cosméticos, alimentos e biopesticidas, devido à presença dos metabólitos especiais (KHIYA et al., 2019).

Os metabólitos especiais são importantes mecanismos de defesa das plantas contra microrganismos patogênicos e insetos, como também podem atrair polinizadores, favorecendo a dispersão de sementes e pólen (BAKKALI et al., 2008). Para a espécie humana, os metabólitos especiais podem ser utilizados no tratamento de diversas doenças por possuírem atividade antioxidante, antimicrobiana, quimiopreventiva e anti-inflamatória (BARDAKCI et al., 2019). Devido a estas propriedades, os metabólitos especiais podem ser uma alternativa ambientalmente aceitável para substituir os insumos químicos utilizados na agricultura para controle de doenças (KHIYA et al., 2019).

Plantas da família Lamiaceae são utilizadas na medicina popular por serem ricas em diversos metabólitos, entre elas as plantas do gênero *Salvia*, que possui, aproximadamente, 1000 espécies e são amplamente utilizadas na alimentação, indústria farmacêutica, perfumaria e ornamentação (CVETKOVIKJ et al., 2013; ROBY et al., 2013; SYTAR et al., 2016; GHORBANI e ESMAEILIZADEH, 2017; HASSAN et al., 2019).

Diferentes extratos de espécies do gênero *Salvia* são ricos em compostos fenólicos e podem ser utilizados como fonte de antioxidantes naturais, especialmente a *Salvia officinalis*, que consiste em uma das espécies mais tradicionalmente cultivadas do gênero (FARHAT et al., 2013).

A *Salvia officinalis* é considerada como um alimento funcional e, também é utilizada no preparo de remédios caseiros para o tratamento de bronquite, tosse, asma, distúrbio digestivo, depressão e outras doenças (HASSAN et al., 2019; LI et al., 2019; MOHAMED e MUSTAFA, 2019). Baseado na *Food and Drug Administration* (FDA) esta espécie é segura para o uso como especiaria (EL EUCH et al., 2019).

As propriedades terapêuticas da *Salvia officinalis* são atribuídas, principalmente, aos compostos fenólicos e terpenos encontrados no extrato e óleo essencial, por isso esta espécie pode ser utilizada como ingrediente alimentar, substituindo os antioxidantes sintéticos, para preservação de alimentos, pode ser eficiente no controle de pragas em importantes espécies agrícolas e também no tratamento ou prevenção de doenças como Alzheimer (KHEDHER et al., 2017; TARRAF et al., 2017).

A *Salvia officinalis* apresentou atividade antimicrobiana contra patógenos nocivos à saúde humana (RUSSO et al., 2013). No antigo Egito, foi usada para tratar a infertilidade (HASSAN et al., 2019) e, atualmente, é utilizada para tratar doenças devido as propriedades farmacológicas, tais como, atividade anticancerígena, anti-inflamatória, antimicrobiana, antimutagênica, antioxidante, anti-Alzheimer e anti-gota. Há evidências, também, que o extrato exerce efeitos de melhoria da memória e cognição (GHORBANI e ESMAEILIZADEH, 2017; EL EUCH, 2019; HASSAN et al., 2019). Pode ser considerada como fonte de compostos que podem levar a redução dos efeitos adversos de agentes quimioterápicos, em pacientes com câncer (RUSSO et al., 2013; KHIYA et al., 2019).

Devido a ampla gama de ação que o extrato e óleo essencial da *Salvia officinalis* possuem, pesquisas têm focado no estudo fitoquímico e atividade biológica da espécie. O objetivo deste trabalho é revisar a literatura sobre a composição química e atividade biológica do óleo essencial e extrato de *Salvia officinalis*.

Extração dos óleos essenciais em plantas medicinais e aromáticas

Produzidos a partir do metabolismo especial das plantas, os óleos essenciais possuem alto valor econômico (PANDEY et al., 2020) e são uma importante classe de compostos fitoquímicos aromáticos que se caracterizam por possuir um forte odor (BAKKALI et al., 2008; WIJESUNDARA et al., 2018). São misturas complexas com diversas substâncias. Normalmente ocorre a presença de dois ou três componentes em maiores concentrações (representando de 20% a 70% do óleo) e os demais em concentrações mais baixas, sendo os terpenos o principal grupo (BAKKALI et al., 2008; CABARKAPA et al., 2020). São substâncias voláteis e para evitar que haja modificação na composição, os óleos essenciais precisam ser armazenados em recipientes hermeticamente fechados no escuro, pois fatores externos como temperatura, luz, acessibilidade ao oxigênio, presença de impurezas podem oxidar e degradar o óleo (BURT, 2004; TUREK e STINTZING, 2013).

A International Organization for Standardization (ISO), através da sua norma ISO 9909 (1997) regula a quantidade considerada segura dos constituintes do óleo para uso medicinal, determinando padrões físicos dos óleos e define óleo essencial como “produto obtido a partir de matéria-vegetal por destilação com água ou vapor ou a partir do epicarpo de frutas cítricas por um processo mecânico ou por destilação a seco” (EL EUCH et al., 2019; PANDEY et al., 2020). Instituições como o Comitê Científico de Segurança do Consumidor, o Instituto de Pesquisa de Fragrâncias e a Associação Internacional de Fragrância determinam a utilidade e a quantidade máxima de alguns óleos e de seus componentes (TUREK e STINTZING, 2013).

A produção e o consumo de óleos essenciais vêm aumentando devido as possibilidades de uso (PANDEY et al., 2020). Os óleos essenciais possuem diversas atividades biológicas, tais como ação antimicrobiana, nematicida, inseticida e antioxidante, que podem ser o resultado da ação dos componentes majoritários ou das interações entre os componentes presentes, que podem ser sinérgicas ou antagônicas (CABARKAPA et al., 2020; PANDEY et al., 2020).

Os óleos essenciais podem ser encontrados em diferentes órgãos da planta e são armazenados em células secretoras, cavidades, células epidérmicas ou tricomas glandulares (BAKKALI et al., 2008).

Composição e atividade dos óleos essenciais

Fatores como genética da planta, órgão estudado, condições ambientais, equipamentos experimentais para extração, época e horário de coleta, ciclo vegetativo, nutrição das plantas, localização geográfica e situações de estresse interferem na composição, rendimento e atividade biológica do óleo essencial (BURT, 2007; RAUT e KARUPPAYIL, 2014; EL EUCH et al., 2019; RGUEZ et al., 2019). Normalmente os principais componentes do óleo são os terpenos, em que os monoterpenos, formados a partir do acoplamento de duas unidades de isopreno (C10), representam 90% do óleo essencial, mas também observa-se sesquiterpenos (C15), hemiterpenos (C5), diterpenos (C20), triterpenos (C30) e tetraterpenos (C40) e, com menor frequência, substâncias que derivam do fenilpropano cuja rota biossintética normalmente é distinta dos terpenos, como os aldeídos e os compostos fenólicos (BAKKALI et al., 2008).

A variedade na composição dos óleos essenciais permite uma série de aplicações, mas para o uso adequado é necessário conhecer a sua composição química, bem como

suas propriedades (TUREK e STINTZING, 2013). Eles são utilizados desde a Idade Média no embalsamento ou como sedativos, anestésicos locais e atualmente são usados como matéria-prima para diversos produtos agrônômicos, alimentícios, repelentes, cosméticos, perfumes e sanitários. Entretanto, seu uso mais importante é no campo de medicamentos, pois são promissores os estudos que o utilizam como uma alternativa aos medicamentos sintéticos (BAKKALI et al., 2008; PANDEY et al., 2020).

Alguns dos efeitos benéficos atribuídos ao uso de óleos essenciais estão relacionados à sua atividade antioxidante. Eles podem ser utilizados como aditivos alimentares a fim de conservar os alimentos e, conseqüentemente, reduzindo o uso de sal e conservantes sintéticos, que podem ser prejudiciais à saúde, além de melhorar as propriedades organolépticas dos alimentos. Contudo, para que possam ser utilizados como ingredientes alimentares é preciso conhecer a composição química do óleo essencial e a quantidade de cada componente, pois alguns podem ser tóxicos (HASSIOTIS, 2018). A atividade antioxidante dos óleos essenciais está relacionada à presença de terpenos e compostos fenólicos (RGUEZ et al., 2019). Outros componentes como hidrocarbonetos, aldeídos, cetonas e éteres também contribuem para eliminação dos radicais livres (EDRIS, 2007).

O corpo humano necessita de um suprimento externo de antioxidantes para reduzir ou eliminar os radicais livres. Assim, é possível utilizar óleos essenciais na prevenção de doenças cardíacas, do sistema imunológico, disfunção cerebral, câncer (EL EUCH et al., 2019).

Os óleos essenciais são utilizados na aromaterapia, através da inalação, massagem ou aplicação tópica trazendo bem-estar físico, como o controle do sistema nervoso, ou psicológico (EDRIS, 2007; PANDEY et al., 2020). Um estudo recente demonstrou que, através da aromaterapia, uma técnica economicamente acessível, o óleo essencial pode ser útil para reduzir a fadiga de pacientes em hemodiálise (AHMADY, REZAEI e KHATONY, 2019).

Os óleos essenciais podem ser utilizados como matéria-prima de repelentes e serem mais eficientes que os sintéticos. A atividade repelente pode ser atribuída à ação dos constituintes presentes em menores quantidades, indicando que a bioatividade depende da complexidade da mistura (NERIO; VERBEL e STASHENKO, 2010). Apesar dos benefícios, são necessários cuidados ao utilizar os óleos essenciais, pois se tratam de substâncias químicas que, quando usadas incorretamente podem ser prejudiciais à saúde (PANDEY et al., 2020).

A *Salvia officinalis* é uma das plantas medicinais cultivadas principalmente para produção do óleo essencial (TAARIT et al., 2009; TARRAF et al., 2017; SAMANI et al., 2019).

Atividade biológica do óleo essencial de *Salvia officinalis*

O óleo essencial produzido pela *Salvia officinalis* é de coloração amarela, com odor forte e aromático, provavelmente relacionado à presença de cânfora (EL EUCH et al., 2019). Além da cânfora, mais de 120 compostos já foram relatados, entre eles tujona e cariofileno (GHORBANI e ESMAEILIZADEH, 2017; MIJALLI et al., 2022).

O maior teor de óleo essencial de *Salvia officinalis* é obtido na fase de florescimento e o menor no estágio vegetativo (GHAEDI et al., 2015; FARHAT et al., 2016). Diversos produtos utilizam o óleo da *Salvia officinalis* como um dos componentes de aromatizantes, perfumaria, cosméticos e farmacêuticos (RADULOVIC et al., 2017; HASSAN et al., 2019). Um estudo demonstrou que o óleo essencial da *Salvia officinalis* em testes *in vitro* exerceu efeito de clareamento dental, contudo são necessários mais estudos clínicos (YESIL et al., 2020).

Na literatura, é possível encontrar diferentes estudos sobre a composição e a atividade do óleo essencial de *Salvia officinalis* para controlar insetos, doenças fúngicas ou bacterianas (KHEDER et al., 2017). Altos níveis de α -tujona são eficientes para controlar a bactérias *Pseudomonas aeruginosa*. Logo, se o óleo for rico neste composto pode ser utilizado para tratar infecções causadas por esta bactéria (RADULOVIC et al., 2019). Substâncias encontradas no óleo essencial da *Salvia officinalis* como terpenos, tujona e cânfora são considerados os mais tóxicos. Em altas concentrações, essas espécies químicas podem induzir alguns efeitos indesejáveis, principalmente, em fetos ou recém-nascidos. Todavia também são tóxicas aos microrganismos, o que torna o óleo um agente potencial para controlar fungos e bactérias, causadores de doenças. Mas seus efeitos dependem do efeito sinérgico dos componentes presentes e da concentração utilizada (GHORBANI e ESMAEILIZADEH, 2017; HASSIOTIS, 2018; EL EUCH et al., 2019).

O óleo da *Salvia officinalis* teve ação bactericida com 5 cepas testadas: *Staphylococcus Aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*. Contudo, apresentou baixa atividade antioxidante. Possivelmente, essa resposta está relacionada com a composição química do óleo essencial (ADRAR, OUKIL e BEDJOU, 2016). Normalmente bactérias gram-positivas são

mais sensíveis do que bactérias gram-negativas, devido a diferença entre as estruturas das bactérias, principalmente na parede bacteriana (SOARES et al., 2013). Tanto o óleo essencial quanto o extrato de acetato de etila apresentaram alta atividade antibacteriana contra as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* (MOHAMED e MUSTAFA, 2019). Radulovic et al. (2017) observaram que o óleo essencial apresentou atividade antifúngica contra a *Candida albicans*. Diferentes cepas bacterianas adquiriram resistência a diversos antibióticos existentes e, o óleo essencial da *Salvia officinalis* tem demonstrado boa atividade bactericida (IMANE et al., 2020).

Hassiotis et al. (2018) relataram que pequenas quantidades das folhas de *Salvia officinalis* ou do óleo essencial foi favorável para infecção de fungos. Entretanto, maiores concentrações do óleo essencial foram eficientes para controlar o nível de inibição de diferentes cepas, uma vez que podem causar diferentes danos celulares nos microrganismos.

Alguns fungos como o *Aspergillus* são responsáveis por causar doenças em legumes e frutas, acarretando em prejuízos financeiros. Normalmente, o controle de doenças causadas por fungos é feito utilizando fungicidas. Contudo, em função da segurança ambiental e saúde humana, é preciso buscar alternativas mais seguras. O óleo essencial da *Salvia officinalis* reduziu, significativamente, a taxa de crescimento (31,71%) e a germinação dos esporos do *Aspergillus carbonarius*. O composto 1,8-cineol, que é um importante agente antioxidante encontrado no óleo essencial da *Salvia officinalis*, também foi testado isoladamente e observou-se inibição significativa da extensão micelial do fungo testado e que, quanto maior a concentração, maior a taxa de inibição (DAMMAK et al., 2019).

O óleo essencial de *Salvia officinalis* foi eficiente para controlar algumas cepas de fungos fitopatogênicos das espécies *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* e *Aspergillus alternata*, que são responsáveis por perdas econômicas (KHEDER et al., 2017). Em testes *in vitro* também foi eficiente no controle de *Botrytis cinérea* e *Fusarium sambucinum*, cuja inibição foi proporcional à concentração de óleo utilizada, mas a atividade contra *Botrytis cinérea* foi observada, mesmo em doses mais baixas (RGUEZ et al., 2019).

A atividade antifúngica dos óleos essenciais pode variar de acordo com a composição, do efeito sinérgico ou antagônico entre as substâncias ou ação dos componentes majoritários, como, por exemplo, a cânfora que pode ter ação antifúngica (DAMMAK et al., 2019). Os óleos essenciais são lipofílicos e podem passar pela parede

celular e membrana citoplasmática, podendo causar danos, por isso são considerados citotóxicos (BAKKALI et al., 2008).

Além de controlar doenças causadas por microrganismos, é possível que o óleo essencial da *Salvia officinalis* possua atividade contra pragas Lepidoptera e Coleoptera (KHEDER et al., 2017). No controle do mosquito *Aedes aegypti* o óleo essencial da *Salvia officinalis* age por diferentes mecanismos: danifica o DNA, inibe a enzima acetilcolinesterase, altera a mitocôndria por inibição de complexo II e suas enzimas associadas, mostrando eficiência para ser utilizado no controle deste inseto (MORALES et al., 2019). Foi observado que o óleo também teve efeito inseticida e repelente em *Acanthoscelides obtectus* (SCARIOT et al., 2016). Também, foi eficiente contra a larva *Spodoptera littoralis*, possivelmente em função da presença de limoneno, que pode ser inalado por insetos ou pelo sinergismo entre os componentes do óleo como o 1,8-cineol, que demonstrou alta eficácia inseticida em outros óleos essenciais testados (RGUEZ et al., 2019).

Quando comparadas a outras espécies do gênero *Salvia* ou da família Lamiaceae, a *Salvia officinalis* foi mais eficiente em eliminar os radicais livres, tornando-a uma espécie com grande potencial para ser utilizada como ingrediente alimentar para preservar o alimento. A presença dos compostos 1,8-cineol, α -pineno, terpinen-4-ol, ou linalol podem ser responsáveis pela alta atividade antioxidante (DAMMAK et al., 2019; EL EUCH et al., 2019).

A ISO 9909 (1997) definiu limites de alguns constituintes do óleo da *Salvia officinalis* como, por exemplo, os níveis de tujona devem ser baixos para que possa ser utilizado pela indústria alimentícia, já que é uma substância com potencial risco para saúde humana e deve ser consumida com prudência (TARRAF et al., 2017; EL EUCH et al., 2019). Em testes realizados com ratos demonstraram que não há uma relação direta entre a quantidade de tujona e a toxicidade com os animais testados, contudo a tujona pode causar neurotoxicidade, exercendo efeitos paralisantes (RADULOVIC et al., 2017).

Os óleos essenciais são adicionados aos alimentos para melhorar o sabor ou conservá-lo em função de suas propriedades antioxidantes e antimicrobianas (HMAIED et al., 2019). Componentes presentes no óleo essencial da *Salvia officinalis* como o 1,8-cineol, cânfora, viriflorol são eficientes para controlar o patógeno *Sarcina lutea* que é transmitido pelo alimento (RADULOVIC et al., 2019).

A concentração do óleo essencial na planta é um dos principais indicadores de qualidade e um grande desafio para produção em larga escala. Os novos trabalhos com

plantas medicinais devem ter como objetivo investigar técnicas de manejo que permitam modular o rendimento de massa seca e, quando possível, o teor e a composição do óleo essencial (RODRIGUES et al., 2016).

Na tabela 1 apresentamos os principais componentes determinados, o rendimento do óleo essencial, a atividade biológica e o método de extração do óleo essencial de *Salvia officinalis* em diferentes estudos.

Tabela 1. Principais compostos determinados, rendimento, a atividade biológica e método de extração do óleo essencial de *Salvia officinalis*.

| Principais compostos determinados | Quantidade de compostos totais | Rendimento (%) | Atividade biológica do óleo essencial | Método de extração do óleo essencial | Referências |
|---|---------------------------------------|-----------------------|--|---|-----------------------|
| á e â-pineno, 1,8-cineol, á e â-tujona, cânfora | 30 | 0,78-1,10 | Antioxidante Antifúngica Inseticida | Hidrodestilação | Rguez et al., 2019 |
| á-tujona, cânfora, borneol, muroleno, esclareol | 14 | 0,55-2,20 | Anticancerígeno | Hidrodestilação | Russo et al., 2013 |
| Viridiflorol, 1,8-cineol, á e â tujona, cânfora, manool, borneol | 41 | 0,21-0,60 (fruit) | - | Hidrodestilação | Taarit et al., 2009 |
| á e â tujona, linalol, cânfora, borneol | 42 | 0,88-1,23 | Antibacteriano | Hidrodestilação | Tarraf et al., 2017 |
| Cineol, viriflorol, nonacasane, cânfora, pentacosano | 20 | - | Antiurease | Hidrodestilação | Hassan et al., 2019 |
| Cânfora, á e â tujona, 1,8-cineol | 49 | - | Antioxidante Antimicrobiana Inseticida | Hidrodestilação | Kheder et al., 2017 |
| á e â tujona, cânfora, 1,8-cineol | 33 | 0,82-0,92 | Antioxidante | Hidrodestilação | Vosoughi et al., 2018 |
| â tujona, 1,8-cineol, cânfora, cariofileno, deydra-aromadendrano, guaiol, canfeno | 105 | 4,13* | Antioxidante Anticorrosiva | Destilação a vapor | Khvia et al., 2019 |

| | | | | | |
|---|----|-----------|---|--------------------|--------------------------------|
| á e â tujona, cânfora, 1,8-cineol, á pineno, borneol | 15 | 0,65-0,85 | - | Hidrodestilação | Samani et al., 2019 |
| 1,8 cineol, cânfora, á e â tujona, á pineno | 40 | 1,48 | Antifungica | Destilação a vapor | Hassiotis, 2018 |
| á e â tujona, cânfora, 1,8 cineol, á gurjuneno, canfeno | 14 | 1,36 | Antioxidante Antifungica | Hidrodestilação | Dammak et al., 2019 |
| Cânfora, á e â tujona, 1,8 cineol, canfeno, borneol, á e â pineno, p cimeno | 18 | 1,03 | Antioxidante Anti-inflamatória Anti-alzheimer Moderada atividade anti-gota | Hidrodestilação | El Euch et al., 2019 |
| á e â tujona, cânfora, humuleno, ledeno, fenchy álcool | 17 | 2,1 | Antibacteriano | Hidrodestilação | Wijesundara e Rupasinche, 2018 |

*Valores discrepantes podem estar relacionado ao cálculo de rendimento que varia entre os autores.

Embora seja conhecida, principalmente, pela produção do óleo essencial, a *Salvia officinalis* produz outros compostos bioativos de grande importância, como os compostos fenólicos (HASSIOTIS, 2018; SAMANI et al., 2019).

Síntese de compostos fenólicos nas plantas medicinais

Os radicais livres ou espécies reativas são substâncias produzidas a partir da respiração, exposição ao estresse, entre outros fatores. Em concentrações muito altas são prejudiciais as células, pois podem oxidar importantes moléculas como proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos, além de destruir as membranas biológicas. Por isso, as plantas desenvolveram diferentes sistemas antioxidantes, que podem ser enzimas ou componentes não enzimáticos como as vitaminas C e E, carotenoides e compostos fenólicos. Além de proteger as plantas do estresse oxidativo, os compostos fenólicos podem proteger contra a radiação ultravioleta e o ataque de microrganismos, reduzindo ou impedindo a infecção (KUBALT, 2016).

Os compostos fenólicos são um grupo amplo e heterogêneo que derivam do metabolismo secundário da planta e se caracterizam por possuírem pelo menos um anel aromático ligado a uma ou mais hidroxilas (PEREZ et al., 2016). São encontrados no citosol, na parede celular, vacúolos ou associados às ceras presentes na superfície da planta (KARAKAYA, 2004; KHODDAMI, WILKES e ROBERTS, 2013).

As principais classes de compostos fenólicos são divididas de acordo ao esqueleto do carbono e são: ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos e ligninas (KARAKAYA, 2004). Os flavonoides derivam dos fenóis simples e consiste em um dos grupos de fenólicos mais comuns e são responsáveis pela coloração de alguns tecidos vegetais. Os flavonoides podem limitar a esporulação, germinação de esporos e crescimento hifal de fungos patogênicos; Os ácidos fenólicos são uma outra classe que incluem ácido cafeíco, ácido ferúlico e ácido sináptico e, normalmente, ocorrem ligados a ésteres, glicosídeos ou amidas, mas raramente na forma livre; As cumarinas e os taninos são substâncias fenólicas que são tóxicas a herbívoros e podem ser excelentes repelentes devido

ao sabor amargo e desagradável, além de possuir a capacidade de se ligar e desnaturar as proteínas (KHODDAMI, WILKES e ROBERT, 2013; KUBALT, 2016).

A fenilalanina é o precursor comum dos compostos fenólicos, cuja enzima catalisadora fenilalanina amônia-liase (PAL) separa o grupo amino NH₂ da fenilalanina, formando o ácido cinâmico, que é um fenilpropanoide. O anel aromático é sintetizado na via do ácido chiquímico. E, a via fenilpropanoide pode levar a formação do ácido salicílico, que é um importante agente na indução de resposta de defesa da planta (MICHALAK, 2006; KUBALT, 2016).

Os compostos fenólicos são um dos principais responsáveis pela ação anti-inflamatória e antimicrobiana das plantas (KUBALT, 2016; PEREZ et al., 2016; ALU'DATT et al., 2017; LI et al., 2020), por isso eles podem ser uma alternativa promissora para produção de antibióticos, pois foi relatado ação antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis* (BELHAOUES, AMRI e BENSOUILAH, 2020). Além da ação anti-inflamatória e antimicrobiana, diversos pesquisadores relatam a ação antioxidante dos compostos fenólicos (JESHVAGHANI et al., 2015; ALVES et al., 2017; BELHAOUES; AMRI e BENSOUILAH, 2020).

A atividade antioxidante de um extrato normalmente está relacionada com a presença dos compostos fenólicos, que podem ser utilizados na prevenção de doenças no humano, como também ser utilizado como ingrediente em alimentos e cosméticos para minimizar os efeitos causados pelos radicais livres (ALVES et al., 2017; KAROLAK et al., 2019; BELHAOUES, AMRI e BENSOUILAH, 2020).

O uso de extratos vegetais tornou-se, então, uma das melhores alternativas aos antioxidantes sintéticos, que podem ser tóxicos e, por isso os consumidores estão preferindo alimentos cujos ingredientes sejam naturais (DURLING et al., 2007; KHAN et al., 2019). Contudo, a atividade antioxidante de um extrato depende da concentração utilizada, da composição da amostra, estrutura, número e posição dos grupos hidroxilas das moléculas presentes (KUBALT, 2016; BELHAOUES; AMRI e BENSOUILAH, 2020).

A adição de extratos ricos em compostos fenólicos em alimentos de conserva prolonga a vida útil do produto em função das propriedades

antioxidantes e antimicrobianas e alguns compostos, em baixas concentrações, não mostram efeitos tóxicos, assim a adição em alimentos é uma prática segura (LI et al., 2020). Contudo, cada composto apresenta diferentes níveis de toxicidade e, por isso são necessárias mais pesquisas para conhecer os efeitos causados pelos produtos naturais, principalmente a dose, pois em alta concentração os compostos fenólicos podem causar doenças como leucemia, danos nos rins e fígado (KHAN et al., 2019).

A inclusão de alimentos, como frutas e vegetais ou bebidas, derivados de plantas que sejam ricas nestes compostos podem prevenir doenças como asma, câncer, diabetes e doenças cardíacas (KHAN et al., 2019). Um extrato de *Anthemis praecox*, rico em compostos fenólicos, foi eficiente no tratamento de distúrbios gastrointestinais (BELHAOUES; AMRI e BENSOUILAH, 2020). O extrato da *Salvia officinalis* pode melhorar significativamente índices antropométricos e marcadores de resistência à insulina em pacientes com síndrome de ovário policístico (AMINI et al., 2020). O extrato, também, apresentou efeito antidiabético comparado ao antidiabético padrão glibenclamida, dependendo da dose estudada, indicando o potencial desta espécie para ser utilizado na fitoterapia (EIDI e EIDI, 2009).

Em infecções bacterianas induzidas por patógenos produtores de urease, foi possível utilizar o extrato aquoso da *Salvia officinalis* que possui ação antiurease (HASSAN et al., 2019). Em alguns casos, as matrizes podem exercer efeito terapêutico superior aos compostos isolados, em virtude do sinergismo das moléculas (MARTINS; BARROS e FERREIRA, 2016).

Para que os compostos fenólicos possam exercer efeitos positivos à saúde humana, é necessário que os mesmos estejam disponíveis. No metabolismo humano, algumas substâncias são ativadas, inativadas ou, então, vinculam-se a outras moléculas alterando sua atividade biológica, por isso são necessários mais estudos que investiguem os efeitos causados pelo uso de compostos fenólicos (MARTINS; BARROS e FERREIRA, 2016).

Extração dos compostos fenólicos

A quantidade dos compostos fenólicos em um extrato depende da genética da espécie estudada, condições ambientais e situações de estresse (BRITO et al., 2018). Estudar a composição química dos vegetais é um desafio devido ao grande número de compostos presentes em uma amostra, em diferentes concentrações, conjugados a outras substâncias como carboidratos e proteínas ou na forma livre (ALVES et al., 2017; ALU'DATT et al., 2017). Além disso, a parede celular é um fator que dificulta a liberação do conteúdo da célula (MARTINS; BARROS e FERREIRA, 2016).

Para extrair os compostos fenólicos é preciso levar em consideração as propriedades químicas como polaridade, concentração, estrutura molecular, número de grupos hidroxilas, anel aromático e conjugação com outras substâncias. O uso de radiação ultra-sônica (ultrassom) facilita a extração desses compostos que podem ser determinados utilizando diferentes técnicas como espectrofotometria, cromatografia gasosa, cromatografia líquida e eletroforese capilar (KHODDAMI; WILKES e ROBERTS, 2013).

Atividade biológica dos extratos de *Salvia officinalis*

Plantas do gênero *Salvia* são ricas em compostos fenólicos e, isto é uma das razões dessas plantas serem amplamente estudadas (KAROLAK et al., 2019). O ácido ferúlico pode ser responsável pelo aumento da atividade antioxidante do extrato de *Salvia hispânica* (ALVES et al., 2017). O ácido cafeíco pode melhorar a função da memória, tem potencial para prevenir a progressão da demência e desempenha um importante papel na proteção hepática e redução do estresse oxidativo (YANG et al., 2013; CHANG et al., 2015). A quercetina é um flavonoide com ação antioxidante (BELHAOUES; AMRI e BENSOUILAH, 2020). O efeito do ácido transcinâmico e derivados depende da concentração, estrutura química (mudanças no anel aromático pode mudar a bioatividade da molécula) e condições de crescimento. Tratar plantas com ácido transcinâmico podem ativar mecanismos de defesa envolvidos na resposta a condições de estresse (ARANITI et al., 2018).

A *Salvia viridis* cujo componente predominante é o ácido rosmarínico, é utilizada para o tratamento de doenças inflamatórias e doenças infecciosas. O extrato apresentou atividade bacteriostática e propriedades bactericidas, muito provavelmente em função da presença do ácido rosmarínico e ácido cafeíco e, também, apresentou ação antifúngica para *Candida albicans*, *Candida glabrata* e *Aspergillus brasiliensis*, cuja atividade foi extremamente alta (KAROLAK et al., 2019). Na *Salvia heldreichiana* foram encontrados ácido cafeíco, ácido ferulico, quercetina, apigeninina e ácido rosmarínico e seus extratos foram eficientes para inibir o crescimento de *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Candida albicans* (BARDAKCI et al., 2019).

A *Salvia officinalis* também apresentou atividade antifúngica para *Candida albicans*. A atividade antifúngica desta espécie foi maior contra *Aspergillus oryzae* quando comparado com *Chamaemelum nobile* e *Urtica dioica*. No mesmo estudo foi observada uma atividade moderada contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus* e, ação fraca em relação a *Escherichia coli*. Quando aumentou a concentração estudada, o extrato apresentou atividade significativa contra a *Escherichia coli*, moderada contra *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus* e fraca contra *Bacillus subtilis* (GHAEDI et al., 2015).

Os autores concluíram que o conteúdo de compostos fenólicos na *Salvia officinalis* aumentou em 4 vezes em condição de déficit hídrico, indicando o importante papel dos compostos fenólicos na resistência das plantas a condições adversas, contudo em condições severas de limitação de água houve uma redução dos compostos fenólicos Bettaieb et al.

Durling et al. (2007) e Xu; Wang e Li (2019) afirmaram que a *Salvia officinalis* é fonte de ácido rosmarínico e ácido carnósico. Farhat et al. (2013) concluíram que plantas de *Salvia* são ricas em compostos fenólicos e, que a *Salvia officinalis* obteve um rendimento de fenólicos superior à *Salvia argentea*, *Salvia verbenaca* e *Salvia aegyptica*. Martins et al. (2015) relataram ação antifúngica do extrato aquoso contra diferentes cepas do gênero *Candida*.

A diferença encontrada na literatura sobre os compostos bioativos encontrados na mesma espécie de planta é comum, visto que a produção de

fitoquímicos depende de muitos fatores, como as condições ambientais e metodologia de extração (Tabela 2). Segundo Khiya et al. (2019) a *Salvia officinalis* é rica em polifenóis, taninos, flavonoides, esteróis e catecois. E ausentes de saponinas, alcaloides, leucoantocianinas e antocianinas.

Tabela 2. Metodologia de extração, fenólicos totais e compostos encontrados no extrato de *Salvia officinalis*.

| Solvente | Procedimento de extração | Fenólicos totais | Compostos determinados | Propriedades terapêuticas | Referências |
|-----------------------|----------------------------------|------------------------------------|---|---|--------------------------|
| Metanol (80%) | Maceração | 86,4 mg TAE/g | - | Antioxidante | Jeshvaghani et al., 2015 |
| Água Metanol (80%) | Infusão Decocção Agitação | 265,87-323,47 mg GAE/g | Rosmarínico e derivados, flavonoides, ac. cafeíco | Antioxidante Antifúngico | Martins et al., 2015 |
| Metanol | - | 2,23 mg GAE/g | Ac. vanílico, ac. clorogênico, ac. cumárico, ac. siringico | Antioxidante | Sytar et al., 2016 |
| Água | Decocção | 229 µg GAE/g | Ac. cafeíco, ac. rosmarínico, apigenina glucoronide, ac. sagerinico | Antioxidante Anti-inflamatório Antibacteriano | Afonso et al., 2019 |
| | | | | | |
| Metanol | Ultrassom | 2,02 mg GAE/g | Derivados de ac. benzoico, ac. cinâmico, flavonoides | Antioxidante | Bettaieb et al., 2011 |
| Metanol | Agitação Soxlet Evaporador | 158,79 mg GAE/g 161,37 mg GAE/g | Ac. cafeíco, ac. Ferúlico, ac. Rosmarínico, ac. Carnosico, ac. Cumárico, ac. Gálico e flavonoides | Antioxidante | Farhat et al., 2013 |
| Acetona | Agitação | - | Ac. Gallic, Ac. Rosmarinic, ac. Caffeic, hesperetin, epirosmanol, apigenin, | - | Gomes et al., 2002 |

| | | | | | |
|---|-----------|--------------------------------|--|--------------------------------------|---------------------|
| | | | hispidulin, cirsimaritin, genkwanin, carnosol, rosmadial, ac. carnosic | | |
| Metanol, etanol, éter dietílico, hexano | Maceração | 4,25 mg GAE/g 5,95 mg GAE/g | Ac. Clorogenico, ac. Cafeico, ac. Ferulico, ac. Rosmarinico, apigenina, ac. Carnosic, ac. cinamico | Antioxidante | Roby et al., 2013 |
| Água | Infusão | 37,1 mg GAE/g | - | Anti-urease | Hassan et al., 2019 |
| Metanol e água | Maceração | 1,044 mg GAE/g | - | Antioxidante Inibição de corrosão | Khyia et al., 2019 |

CONCLUSÃO

As condições ambientais, genéticas e de extração determinam a composição e concentração dos metabólitos especiais encontrados nas plantas medicinais. O óleo essencial e extrato da *Salvia officinalis* são fontes de terpenos e compostos fenólicos e na literatura é possível encontrar diferentes estudos sobre a atividade biológica da *Salvia officinalis* e, devido as suas propriedades antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória, o extrato e óleo essencial podem ser utilizados como matéria-prima na produção de biopesticidas, fármacos, alimentos e cosméticos.

REFERÊNCIAS

ADRAR, N.; OUKIL, N.; BEDJOU, F. Antioxidant and antibacterial activities of *Thymus numidicus* and *Salvia officinalis* essential oils alone or in combination. **Industrial Crops and Products**, v. 88, p. 112-119, 2016.

AHMADY, S.; REZAEI, M.; KHATONY, A. Comparing effects of aromatherapy with lavender essential oil and orange essential oil on fatigue of hemodialysis patients: A randomized trial. **Complementary therapies in clinical practice**, v. 36, p. 64-68, 2019.

ALU'DATT, M. H.; RABABAH, T.; ALHAMAD, M. N.; AL-MAHASNEH, M. A., ALMAJWAL, A., GAMMOH, S.; EREIFEJ, K.; JOHARGY, A.; ALLI, I. A review of phenolic compounds in oil-bearing plants: Distribution, identification and occurrence of phenolic compounds. **Food chemistry**, v. 218, p. 99-106, 2017.

ALVES, S. C. O., COSTA, D. B. V., CAZARIN, C. B. B., JÚNIOR, M. R. M., FERREIRA, J. P. B., SILVA, A. B., PRADO, M. A., BRONZE, M. R. Characterization of phenolic compounds in chia (*Salvia hispanica* L.) seeds, fiber flour and oil. **Food chemistry**, n. 232, p. 295-305, 2017.

AMINI, L. MOJAB, F., JAHNFAR, S., SEPIDARKISH, M., RAOOFI, Z., HAJIAGHA, A. M. Efficacy of *Salvia officinalis* extract on the prevention of insulin resistance in euglycemic patients with polycystic ovary syndrome: A double-blinded placebo-controlled clinical trial. **Complementary Therapies in Medicine**, v. 48, 2020.

ARANITI, F., LUPINI, A., MAUCERI, A., ZUMBO, A., SUNSERI, F., ABENAVOLI, M. R. The allelochemical trans-cinnamic acid stimulates salicylic acid production and galactose pathway in maize leaves: A potential mechanism of stress tolerance. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 128, p. 32-40, 2018.

BARDAKCI, H., CELEP, E., GOZET, T., KURT-CELEP, I., DENIZ, I., SEN-UTSUKARCI, B., AKAYDIN, G. A comparative investigation on phenolic composition, antioxidant and antimicrobial potentials of *Salvia heldreichiana* Boiss. ex Bentham extracts. **South African Journal of Botany**, v. 125, p. 72-80, 2019.

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.

BETTAIEB, I., SELLAMI, I. H., BOURGOU, S., LIMAM, F., MARZOUK, B. Drought effects on polyphenol composition and antioxidant activities in aerial parts of *Salvia officinalis* L. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 33, n. 4, p. 1103-1111, 2011.

BELHAOUES, S., AMRI, S., BENSOUILAH, M. Major phenolic compounds, antioxidant and antibacterial activities of *Anthemis praecox* Link aerial parts. **South African Journal of Botany**, v. 131, p. 200-205, 2020.

BRITO, S. S., SILVA, F., MALHEIRO, R., BAPTISTA, P., PEREIRA, J. A. *Croton argyrophyllus* Kunth and *Croton heliotropiifolius* Kunth: Phytochemical characterization and bioactive properties. **Industrial Crops and Products**, v. 113, p. 308-315, 2018.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. **International journal of food microbiology**, v. 94, n. 3, p. 223-253, 2004.

ČABARKAPA, I., PUVAČA, N., POPOVIĆ, S., ČOLOVIĆ, D., KOSTADINOVIĆ, L., TATHAM, E. K., LEVIĆ, J. Aromatic plants and their extracts pharmacokinetics and in vitro/in vivo mechanisms of action. In *Feed Additives*. **Academic Press**, p. 75-88, 2020.

CHANG, W. C., KUO, P. L., CHEN, C. W., WU, J. S. B., SHEN, S. C. Caffeic acid improves memory impairment and brain glucose metabolism via ameliorating cerebral insulin and leptin signaling pathways in high-fat diet-induced hyperinsulinemic rats. **Food Research International**, v. 77, p. 24-33, 2015.

CVETKOVIKJ, I., STEFKOV, G., ACEVSKA, J., STANOEVA, J. P., KARAPANDZOVA, M., STEFOVA, M., DIMITROVSKA, A. KULEVANOVA, S. Polyphenolic characterization and chromatographic methods for fast assessment of culinary *Salvia* species from South East Europe. **Journal of Chromatography A**, v. 1282, p. 38-45, 2013.

DAMMAK, I., HAMDY, Z., EL EUCH, S. K., ZEMNI, H., MLIKI, A., HASSOUNA, M., LASRAM, S. Evaluation of antifungal and anti-ochratoxigenic activities of *Salvia officinalis*, *Lavandula dentata* and *Laurus nobilis* essential oils and a major

monoterpene constituent 1, 8-cineole against *Aspergillus carbonarius*. **Industrial crops and products**, v. 128, p. 85-93, 2019.

DURLING, N. E., CATCHPOLE, O. J., GREY, J. B., WEBBY, R. F., MITCHELL, K. A., FOO, L. Y., PERRY, N. B. Extraction of phenolics and essential oil from dried sage (*Salvia officinalis*) using ethanol–water mixtures. **Food chemistry**, v. 101, n. 4, p. 1417-1424, 2007.

EDRIS, A. E. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. **Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives**, v. 21, n. 4, p. 308-323, 2007.

EIDI, A., EIDI, M. Antidiabetic effects of sage (*Salvia officinalis* L.) leaves in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. **Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews**, v. 3, n. 1, p. 40-44, 2009.

EL EUCH, S. K., HASSINE, D. B., CAZAUX, S., BOUZOUITA, N., BOUAJILA, J. *Salvia officinalis* essential oil: Chemical analysis and evaluation of anti-enzymatic and antioxidant bioactivities. **South African Journal of Botany**, v. 120, p. 253-260, 2019.

FARHAT, M. B., LANDOULSI, A., CHAOUCH-HAMADA, R., SOTOMAYOR, J. A., JORDÁN, M. J. Characterization and quantification of phenolic compounds and antioxidant properties of *Salvia* species growing in different habitats. **Industrial Crops and Products**, v. 49, p. 904-914, 2013.

FARHAT, M. B., JORDÁN, M. J., HAMADA, R. C., LANDOULSI, A., SOTOMAYOR, J. A. Phenophase effects on sage (*Salvia officinalis* L.) yield and composition of essential oil. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 3, n. 3, p. 87-93, 2016.

GOMES, P. C. S., SEABRA, R. M., ANDRADE, P. B., FERREIRA, M. F. Phenolic antioxidant compounds produced by in vitro shoots of sage (*Salvia officinalis* L.). **Plant Science**, v. 162, n. 6, p. 981-987, 2002.

GHAEDI, M., NAGHIHA, R., JANNESAR, R., MIRTAMIZDOUST, B. Antibacterial and antifungal activity of flower extracts of *Urtica dioica*, *Chamaemelum nobile* and *Salvia officinalis*: Effects of Zn [OH] 2 nanoparticles and Hp-2-minh on their property. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 32, p. 353-359, 2015.

GHORBANI, A., ESMAEILIZADEH, M. Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. **Journal of traditional and complementary medicine**, v. 7, n. 4, p. 433-440, 2017.

HASSAN, S. T., ŠVAJDLENKA, E., RENGASAMY, K. R., MELICHÁRKOVÁ, R., & PANDIAN, S. K. The metabolic profile of essential oils and assessment of anti-

urease activity by ESI-mass spectrometry of *Salvia officinalis* L. **South African journal of botany**, v. 120, p. 175-178, 2019.

HASSIOTIS, C. N. The role of aromatic *Salvia officinalis* L. on the development of two mycorrhizal fungi. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 77, p. 61-67, 2018.

HMAIED, M., BOUAFIF, H., MAGDOULI, S., BRAGHIROLI, F. L., KOUBAA, A. Effect of Forest Biomass Pretreatment on Essential Oil Yield and Properties. **Forests**, v. 10, n. 11, p. 1042, 2019.

IMANE, N. I., FOUZIA, H., AHMED, E., ISMAIL, G., IDRISSE, D., MOHAMED, K. H., SIRINE, F., L'HOUCINE O., NOUREDDINE, B. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of some essential oils against multidrug resistant bacteria. **European Journal of Integrative Medicine**, v. 35, 2020.

KARAKAYA, S. Bioavailability of phenolic compounds. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 44, n. 6, p. 453-464, 2004.

KAROLAK, I. G., KUŹMA, Ł., LISIECKI, P., KISS, A. Accumulation of phenolic compounds in different in vitro cultures of *Salvia viridis* L. and their antioxidant and antimicrobial potential. **Phytochemistry Letters**, v. 30, p. 324-332, 2019.

KHAN, M. R.; MOHIDDIN, F. A. Trichoderma: its multifarious utility in crop improvement. In: **Crop Improvement Through Microbial Biotechnology**. Elsevier, p. 263-291, 2018.

KHEDHER, M. R. B., KHEDHER, S. B., CHAIEB, I., TOUNSI, S., & HAMMAMI, M. Chemical composition and biological activities of *Salvia officinalis* essential oil from Tunisia. **EXCLI journal**, v. 16, p. 160-173, 2017.

KHIYA, Z., HAYANI, M., GAMAR, A., KHARCHOUF, S., AMINE, S., BERREKHIS, F., BOUZOUBAE, A., ZAIR, T., EL HILALI, F. Valorization of the *Salvia officinalis* L. of the Morocco bioactive extracts: Phytochemistry, antioxidant activity and corrosion inhibition. **Journal of King Saud University-Science**, v. 31, n. 3, p. 322-335, 2019.

KHODDAMI, A., WILKES, M. A., ROBERTS, T. H. Techniques for analysis of plant phenolic compounds. **Molecules**, v. 18, n. 2, p. 2328-2375, 2013.

KUBALT, K. The role of phenolic compounds in plant resistance. **Biotechnol Food Sci**, v. 80, n. 2, p. 97-108, 2016.

LEKBACH, Y., LI, Z., XU, D., ELABED, S., DONG, Y., LIU, D., GU, T., KORAICHI, S. I., YANG, K., WANG, F. *Salvia officinalis* extract mitigates the microbiologically influenced corrosion of 304L stainless steel by *Pseudomonas aeruginosa* biofilm. **Bioelectrochemistry**, v. 128, p. 193-203, 2019.

LI, L., WEI, S., ZHU, T., XUE, G., XU, D., WANG, W., WANG, X., LUO, K., KONG, L. Anti-inflammatory norabietane diterpenoids from the leaves of *Salvia officinalis* L. **Journal of functional foods**, v. 54, p. 154-163, 2019.

LI, J., HUANG, S. Y., DENG, Q., LI, G., SU, G., LIU, J., WANG, H. M. D. Extraction and characterization of phenolic compounds with antioxidant and antimicrobial activities from pickled radish. **Food and Chemical Toxicology**, v. 136, 2020.

MACIEL, M. A. M., PINTO, A. C., VEIGA JR, V. F., GRYNBERG, N. F., ECHEVARRIA, A. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química nova**, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MARTINS, N., BARROS, L., SANTOS-BUELGA, C., HENRIQUES, M., SILVA, S., FERREIRA, I. C. Evaluation of bioactive properties and phenolic compounds in different extracts prepared from *Salvia officinalis* L. **Food chemistry**, v. 170, p. 378-385, 2015.

MARTINS, N., BARROS, L., FERREIRA, I. C. In vivo antioxidant activity of phenolic compounds: Facts and gaps. **Trends in Food Science & Technology**, v. 48, p. 1-12, 2016.

MICHALAK, A. Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 15, n. 4, 2006.

MOHAMED, A. Y., MUSTAFA, A. A. In Vitro Anti-Microbial Activity of Essential Oils and other Extracts from *Salvia officinalis* against Some Bacteria. **Preprint**, 2019

MORALES, R. M. C.X, OTERO, A. L. C., MENDEZ-SANCHEZ, S. C., DA SILVA, M. A. N., STASHENKO, E. E., DUQUE, J. E. Mitochondrial affectation, DNA damage and AChE inhibition induced by *Salvia officinalis* essential oil on *Aedes aegypti* larvae. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 221, p. 29-37, 2019.

NERIO, L. S., VERBEL, J. O., STASHENKO, E. Repellent activity of essential oils: a review. **Bioresource technology**, v. 101, n. 1, p. 372-378, 2010.

PANDEY, A. K., KUMAR, P., SAXENA, M. J., MAURYA, P. Distribution of aromatic plants in the world and their properties. **In Feed Additives**. Academic Press, p. 89-114, 2020

PÉREZ, D. L.A., LÓPEZ, N. L., GRIJALVA, E. P. G., HEREDIA, J. B. Phenolic compounds: Natural alternative in inflammation treatment. A Review. **Cogent Food & Agriculture**, v. 2, n. 1, 2016.

RADULOVIĆ, N. S., GENČIĆ, M. S., STOJANOVIĆ, N. M., RANDJELOVIĆ, P. J., STOJANOVIĆ-RADIĆ, Z. Z., STOJILJKOVIĆ, N. I. Toxic essential oils. Part V: Behaviour modulating and toxic properties of thujones and thujone-containing

essential oils of *Salvia officinalis* L., *Artemisia absinthium* L., *Thuja occidentalis* L. and *Tanacetum vulgare* L. **Food and Chemical Toxicology**, v. 105, p. 355-369, 2017.

RAUT, J. S., KARUPPAYIL, S. M. A status review on the medicinal properties of essential oils. **Industrial Crops and Products**, v. 62, p. 250-264, 2014.

RGUEZ, S., MSAADA, K., REMADI, M. D., CHAYEB, I., REBEY, I. B., HAMMAMI, M., SELLAMI, I. H., LAARIF, A., SELLAMI, I. H. Chemical composition and biological activities of essential oils of *Salvia officinalis* aerial parts as affected by diurnal variations. **Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology**, v. 153, n. 2, p.264-272, 2019.

ROBY, M. H. H., SARHAN, M. A., SELIM, K. A. H., KHALEL, K. I. Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. **Industrial Crops and Products**, v. 43, p. 827-831, 2013.

RODRIGUES, C. R., CORRÊIA, R. M., FAQUIN, V., PINTO, J. E. B. P., SOUSA, J. B., DE PAULA BARBOSA, K., TRINDADE, P. R. Relação nitrato: amônia na nutrição mineral, crescimento e produção de óleo essencial da Sálvia cultivada em solução nutritiva. **Global Science and Technology**, v. 9, n. 2, 2016.

RUSSO, A., FORMISANO, C., RIGANO, D., SENATORE, F., DELFINE, S., CARDILE, V., ROSSELI, S., BRUNO, M. Chemical composition and anticancer activity of essential oils of Mediterranean sage (*Salvia officinalis* L.) grown in different environmental conditions. **Food and Chemical Toxicology**, v. 55, p. 42-47, 2013.

SAMANI, M. R., PIRBALOUTI, A. G., MOATTAR, F., GOLPARVAR, A. R. L-Phenylalanine and bio-fertilizers interaction effects on growth, yield and chemical compositions and content of essential oil from the sage (*Salvia officinalis* L.) leaves. **Industrial Crops and Products**, v. 137, p. 1-8, 2019.

SOARES, K. A., RESENDE, A., JÚNIOR, W. S., PANDOLFO, C. Avaliação da atividade antimicrobiana de extrato de alecrim-do-campo (*Baccharis dracunculifolia*) sobre bactérias Gram negativas e Gram positivas. **Ensaio e Ciência C Biológicas Agrárias e da Saúde**, v. 17, n. 4, 2013.

SCARIOT, M. A., REICHERT JÚNIOR, F. W., RADÜNZ, L. L., BARRO, J. P., MOSSI, A. J. *Salvia officinalis* essential oil in bean weevil control. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 46, n. 2, p. 177-182, 2016.

SINGH, S., TRIPATHI, A., MAJI, D., AWASTHI, A., VAJPAYEE, P., KALRA, A. Evaluating the potential of combined inoculation of *Trichoderma harzianum* and *Brevibacterium halotolerans* for increased growth and oil yield in *Mentha arvensis* under greenhouse and field conditions. **Industrial Crops and Products**, v. 131, p. 173-181, 2019.

SYTAR, O., HEMMERICH, I., ZIVCAK, M., RAUH, C., BRESTIC, M. Comparative analysis of bioactive phenolic compounds composition from 26 medicinal plants. **Saudi journal of biological sciences**, v. 25, n. 4, p. 631-641, 2018.

TAARIT, M. B., MSAADA, K., HOSNI, K., HAMMAMI, M., KCHOUK, M. E., MARZOUK, B. Plant growth, essential oil yield and composition of sage (*Salvia officinalis* L.) fruits cultivated under salt stress conditions. **Industrial Crops and Products**, v. 30, n. 3, p. 333-337, 2009.

TARRAF, W., RUTA, C., TAGARELLI, A., DE CILLIS, F., DE MASTRO, G. Influence of arbuscular mycorrhizae on plant growth, essential oil production and phosphorus uptake of *Salvia officinalis* L. **Industrial crops and products**, v. 102, p. 144-153, 2017.

TUREK, C., STINTZING, F. C. Stability of essential oils: a review. **Comprehensive reviews in food science and food safety**, v. 12, n. 1, p. 40-53, 2013.

WIJESUNDARA, N. M.; RUPASINGHE, H. P. V. Essential oils from *Origanum vulgare* and *Salvia officinalis* exhibit antibacterial and anti-biofilm activities against *Streptococcus pyogenes*. **Microbial pathogenesis**, v. 117, p. 118-127, 2018

XU, J., WANG, W., LI, Y. Dough properties, bread quality, and associated interactions with added phenolic compounds: A review. **Journal of functional foods**, v. 52, p. 629-639, 2019.

YANG, S. Y., HONG, C. O., LEE, G. P., KIM, C. T., LEE, K. W. The hepatoprotection of caffeic acid and rosmarinic acid, major compounds of *Perilla frutescens*, against t-BHP-induced oxidative liver damage. **Food and chemical toxicology**, v. 55, p. 92-99, 2013.

YEŞİL, M., ÖZTÜRK, I., DUYMUŞ, Z. Y., & ÖZCAN, M. M. Evaluating The Effect of Some Medicinal Plants (*Mentha piperita*, *Ocimum basilicum*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis*) on Whitening of the Permanent Teeth. **Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology**, v. 8, n. 1, p. 1-6, 2020.

CAPÍTULO 2

Support vector machine e PCA na análise exploratória de amostras de *Salvia officinalis* tratadas com reguladores de crescimento baseada em parâmetros de crescimento e composição multielementar

Support vector machine e PCA na análise exploratória de amostras de *Salvia officinalis* tratadas com reguladores de crescimento baseada em parâmetros de crescimento e composição multielementar

Resumo – O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de diferentes reguladores de crescimento sobre os teores minerais e compostos fenólicos totais de *Salvia officinalis*. Foi pulverizado ácido salicílico (AS), ácido giberélico (AG), ácido abscísico (ABA) e solução sem reguladores (controle). A avaliação exploratória das amostras foi realizada por meio da análise dos principais componentes (PCA). Além disso, foi utilizado o método support vector machine (SVM) para classificação das amostras. Os flavonoides e fenólicos totais foram maiores nas plantas tratadas com reguladores. O elemento encontrado em maior concentração na *Salvia officinalis* foi N. As plantas pulverizadas com ABA apresentaram maiores concentrações de N, K e Mn; Fe e Al foram maiores nas plantas tratadas com ABA e giberelina, enquanto a aplicação de AS proporcionou o maior acúmulo de P. A aplicação de reguladores vegetais melhora as propriedades nutracêuticas da *Salvia officinalis*.

PALAVRAS-CHAVE: Elementos essenciais, estatística multivariada, fitoreguladores, *Salvia officinalis*.

Support vector machine and PCA for the exploratory analysis of *Salvia officinalis* samples treated with growth regulators based in the agronomic parameters and multielement composition

Abstract - The objective of this work was to evaluate the influence of different growth regulators on the mineral and total phenolic contents of *Salvia officinalis*. The samples received the applications of salicylic acid (AS); gibberellic acid (GA3); abscisic acid (ABA) and solution without regulators (control). The exploratory evaluation of the samples was carried out through the Principal Component Analysis (PCA). In addition, has been used supervised learning methods with support vector machine (SVM) algorithms to classify the samples. The phenolic and total flavonoid contents were higher in the plants treated with the regulators. The element found in the highest concentration in *Salvia officinalis* was N. Plants sprayed with ABA showed higher concentrations of N, K, and Mn; Fe and Al were higher with ABA and gibberellin application, while the application of AS provided the highest accumulation of P. The application of plant regulators improves the nutraceutical properties of *Salvia officinalis*.

Keywords: Essential elements, multivariate statistics, phyto regulators, *Salvia officinalis*

INTRODUÇÃO

Antioxidantes sintéticos são adicionados em alimentos para evitar a contaminação por microrganismos ou oxidação lipídica (SÓJIC et al., 2018), no entanto, estes ingredientes podem ser prejudiciais à saúde humana, por isso os consumidores buscam cada vez mais por alimentos naturais. Plantas medicinais e seus produtos, tais como os óleos essenciais e extratos, podem retardar a deterioração dos alimentos devido as suas propriedades antioxidantes e antimicrobianas. Plantas do gênero *Salvia*, além de ter potencial para ser utilizada como conservante de alimentos, são conhecidos por seus valores culinários, ou seja, por dar sabor aos alimentos, principalmente a *Salvia officinalis*, que é a espécie mais estudada para fins alimentícios, cuja eficácia foi comprovada em diversas aplicações (SHARIFI-RAD et al., 2018; SÓJIC et al., 2018).

A *Salvia officinalis* é uma erva aromática produzida mundialmente para fins farmacêuticos e alimentícios (CVETKOVIC et al., 2018). A inclusão de ervas aromáticas na dieta é uma prática descrita há séculos, no entanto, tem havido um aumento do consumo *in natura* ou como aditivo alimentar, devido a seu sabor intenso e valor nutricional. Ervas aromáticas podem ser uma boa fonte de potássio, fósforo e cálcio, vitaminas e fibras (SANTO et al., 2014). Além de ser uma fonte de minerais essenciais para o metabolismo e funcionamento do organismo, a *Salvia officinalis* é rica em compostos bioativos, tais como, os compostos fenólicos e flavonoides, que possuem diferentes propriedades terapêuticas, prevenindo doenças no corpo humano (DIAS et al., 2016; SHARIFI-RAD et al., 2018).

A absorção de elementos minerais, bem como a produção de metabólitos especiais, que conferem propriedades nutracêuticas a *Salvia officinalis*, depende de fatores como genética e as condições ambientais, por isso é possível buscar estratégias que maximizem a absorção desses elementos, tornando-os disponíveis para o consumo do ser humano. A aplicação de reguladores de crescimento pode ser uma técnica que melhora a qualidade dos alimentos vegetais (ALRASHDI et al., 2017). Os reguladores são como substâncias

orgânicas produzidas por plantas ou sintéticas que, em baixas concentrações, influenciam vários processos biológicos como a síntese de metabólitos e a absorção de nutrientes minerais, alterando o crescimento e desenvolvimento, podendo ser aplicado na planta ou no solo por pulverização (GIANNAKOULA et al., 2012; ROSTAMI e AZHDARPOOR, 2019). Exemplos de reguladores de crescimento são as giberelinas, ácido salicílico e ácido abscísico.

A giberelina regula processos como divisão e expansão celular, germinação de sementes e pode influenciar na floração (ALRASHDI et al., 2017; TAIZ et al., 2017; ROSTAMI e AZHDARPOOR, 2019); o ácido salicílico é um fitohormônio fenólico que regula diferentes aspectos do crescimento e desenvolvimento, tais como, tolerância a condições de estresse e indução do sistema de defesa da planta; o ácido abscísico regula o fechamento estomático, crescimento, dormência de sementes e tanto o ácido abscísico quanto o ácido salicílico estão envolvidos no processo de senescência (TAIZ et al., 2017; ROSTAMI e AZHDARPOOR, 2019). Esses reguladores de crescimento além de exercerem os mais diversos efeitos no crescimento e desenvolvimento, também podem alterar o metabolismo secundário das plantas, aumentando a síntese de substâncias de interesse.

Diferentes estudos são encontrados na literatura que observaram um aumento na síntese de metabólitos especiais devido a aplicação exógena de reguladores de crescimento e seus efeitos na absorção de elementos minerais do solo (KOCA e KARAMAN, 2015; ALRASHDI et al., 2017; KHALIL et al., 2018; CHEN et al., 2020). Macro e micronutrientes como N, P, K, Fe, Cu, Mn são essenciais para o funcionamento de órgãos vitais e processos metabólicos e celulares, de modo que eles devem ser incluídos na dieta através da ingestão de alimentos vegetais. Outro elemento como o Al, que também está disponível no solo, é potencialmente tóxico para plantas e humanos e a avaliação é necessária para garantir a segurança alimentar. A determinação desses elementos é de grande importância do ponto de vista nutricional e metabólico, pois podem influenciar na saúde humana (TANNUS et al., 2021).

Diferentes técnicas analíticas podem ser utilizadas para determinar elementos minerais em amostras de plantas, tais como espectrometria de

absorção atômica de chama (Flame Atomic Absorption Spectrometry - FAAS), cuja análise é mono-elementar. A espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry - ICP OES) e espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry - ICP MS) são técnicas com alta sensibilidade e alta seletividade, mas de alto custo operacional (JUNG et al., 2019). Uma técnica analítica que tem sido reportada na literatura com uma nova proposta para análise multi-elementar é a espectrometria de emissão ótica com plasma induzido por micro-ondas (Microwave Induced Plasma Optical Emission Spectrometry - MIP OES). Essa técnica apresenta boa sensibilidade para determinação multi-elementar e baixo custo operacional, pois utiliza o nitrogênio de plasma com ar pressurizado para gerar energia para o equipamento. Contudo, quando comparado com o ICP OES, a frequência analítica e o número de analitos determinado por amostra é baixo (MATUSIEWICS e SLACHCINSKI, 2014; BROEKAERT e SIEMENS, 2004).

Técnicas de análise multielementar podem fornecer um banco de dados complexos e ferramentas estatísticas que são usadas para facilitar a interpretação e discussão dos dados. A análise de componentes principais (PCA) reduz drasticamente o número de variáveis no estudo, agrupando os dados em *clusters* e o *support vector machines* (SVM) é aplicável à regressão e problemas de regressão, com base em um conjunto de métodos de aprendizado supervisionado (SHMILOVICI, 2010; PAPANDREA et al., 2020). Na literatura é possível encontrar diferentes estudos que utilizaram ferramentas estatísticas PCA e SVM para análise exploratória (CARNEIRO et al., 2020; SANT'ANA et al., 2020; JIANG et al., 2020).

A aplicação de reguladores vegetais pode aumentar a qualidade nutracêutica de alguns vegetais. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de diferentes reguladores de crescimento no conteúdo mineral e fenólicos totais de *Salvia officinalis* e aplicar estatística multivariada para avaliar o efeito dos reguladores de crescimento na absorção mineral.

MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Amostras

O experimento foi conduzido em casa de vegetação da Universidade Federal de Universidade do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas – Ba. Sementes de *Sálvia officinalis* L. (Isla Sementes®) foram semeados em bandejas de polietileno com solo e compostagem comercial Vivatto®. Aos 35 dias após a semeadura, as mudas de tamanho uniforme foram selecionadas e transplantadas para vasos com capacidade de 2 dm³ (o substrato utilizado foi solo + húmus de minhoca. O solo apresentou a seguinte característica química: pH: 6,4; P: 0,15 mg dm⁻³; K: 7,82 mg dm⁻³; Ca: 2,6 cmolc dm⁻³; Mg: 1,9 cmolc dm⁻³; Al: 0,0 cmolc dm⁻³; H + Al: 0,6 cmolc dm⁻³; SB: 4,52 cmolc dm⁻³; CTC (T): 5,12 cmolc dm⁻³; MO: 0,92%; V: 88,27%). A irrigação e controle de plantas invasoras foram realizadas manualmente todos os dias. Após 70 dias de semeadura, no final da tarde para evitar a degradação das substâncias reguladoras, foi realizada a primeira aplicação dos tratamentos: Tratamento 1: Aplicação da solução sem regulador de crescimento; Tratamento 2: 2000 µmol L⁻¹ (ALRASHDI et al., 2017, adaptado); Tratamento 3: 144 µmol L⁻¹ de ácido giberélico (ALRASHDI et al., 2017, adaptado); Tratamento 4 10 µmol L⁻¹ de ácido abscísico (MOREIRA et al., 2020). Os reguladores foram aplicados 3 vezes, uma vez por semana, com auxílio de um spray manual, no qual as soluções (preparadas com 0,01% (v v⁻¹) Triton X-100 e etanol 5%) foram pulverizados em toda a planta, nas partes adaxial e abaxial, até o ponto de gotejamento. O delineamento foi inteiramente casualizado, com 5 repetições, totalizando 20 amostras. Aos 113 dias após a semeadura, foi mensurado a altura (com auxílio de uma régua do colo até o ápice), diâmetro do caule (utilizando o paquímetro digital), comprimento da raiz e o número de folhas. Então o experimento foi coletado e o material vegetal foi mantido em estufa a 45° C até atingir a massa seca constante, então foram determinados a massa seca da parte aérea (MSPA), raiz (MSR) e massa seca total (MST).

2.2. Instrumentação e reagentes

Os álcoois etílicos e metílicos usados na preparação dos extratos foram adquiridos por J. T. Baker (Xalostoc, Edo. De Mex., México). O reagente de Folin-Ciocalteu, os padrões de ácido gálico e quercetina são de Sigma Aldrich Co® (St. Louis, MO, EUA). Ácido abscísico, ácido giberélico, e ácido salicílico da Interlab®, São Paulo, Brasil. O ácido nítrico e peróxido de hidrogênio utilizados são da Merck® (Darmstadt, Alemanha). Os padrões usados para preparar a curva de calibração para Al, Fe, Mn, P, K e Cu (1000 mg L^{-1}) são da SpecSol® (Quimlab Química e Metrologia, São José dos Campos, Brazil). Para o preparo dos extratos, os tubos de ensaio contendo as amostras de *Salvia officinalis* foram sonicadas em banho ultrassônico (Elma Ultrassônico S10H®, F.: 50/60 Hz, P.: 90 W, Alemanha). Para determinar os compostos fenólicos totais, flavonoides totais e nitrogênio, foi utilizado um espectrofotômetro (Tecnal®, São Paulo, Brasil). A determinação de espécies inorgânicas foi realizado utilizando a técnica de espectrometria de emissão ótica com plasma induzido por micro-ondas modelo 4200 (Agilent Technologies®, Santa Clara, CA, EUA).

2.3. Preparação do extrato

A preparação do extrato de *Salvia officinalis* foi determinada usando a metodologia descrita por Moreira et al. (2020), com algumas adaptações. A parte aérea do material vegetal foi triturada com auxílio de um almofariz e pistilo. Aproximadamente 0,15 g do material vegetal foi pesado e adicionado 15 mL de solução de extração hidroalcoólica ($50\% \text{ v v}^{-1}$) (DURLING et al., 2007). As amostras foram sonicadas em banho ultrassônico por 15 minutos.

2.4. Determinação de compostos fenólicos e flavonoides totais

Os compostos fenólicos totais nos extratos de *Salvia officinalis* foram determinados pela metodologia descrita por Moreira et al. (2020), adaptado. Foram adicionados 300 μL de extrato de amostra, 1 mL de carbonato de sódio saturado e 400 μL de reagente Folin-Ciocalteu. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro no comprimento de onda de 765 nm, após 60 min de reação

em temperatura ambiente e sem luz. Os testes foram realizados em triplicata. O teor total de compostos fenólicos foi calculado a partir da curva de calibração de ácido gálico expresso em miligramas de equivalentes de ácido gálico por grama de massa seca. A determinação de flavonoides totais foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Marques et al. (2012), adaptado. Foram adicionados 1,0 mL de extrato de *Salvia officinalis*, 2,0 mL de $AlCl_3$ em solução de etanol (5% $v v^{-1}$). O volume foi ajustado para 10,0 mL com solução hidroalcoólica (40% $v v^{-1}$). A solução foi armazenada na ausência de luz por 30 min e, posteriormente, a leitura foi realizada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 408 nm. Os testes foram realizados em triplicata. Os flavonoides totais foram calculados a partir da curva de calibração da quercetina utilizada como padrão e expressa em miligramas de equivalentes de quercetina por grama de matéria seca.

2.5. Digestão da amostra

Para determinação multielementar, pesou-se 0,1 g de material vegetal e 3 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) foram adicionados em exaustor a 350 °C por 40 min, conforme descrito por Abreu et al. (2021), com modificações. Um volume de 3 mL de peróxido de hidrogênio foi adicionado a cada tubo. Após o tempo de análise, o conteúdo dos tubos foi filtrado e transferido para balões volumétricos de 10 mL.

2.6. Determinação multielementar por MIP OES

A vidraria foi descontaminada em banho de ácido nítrico a 10% ($v v^{-1}$) por 24 h e lavado com água deionizada antes do uso. Soluções estoque de Al, Fe, Mn, P, K e Cu (1000 mg L^{-1}) foram utilizadas na preparação de padrões de referência para uso em calibração. Os parâmetros instrumentais MIP OES foram utilizados de acordo com as recomendações do fabricante. O sistema de introdução de amostras inclui um amostrador automático Agilent SPS 3, uma câmara de nebulização ciclônica de vidro de dupla passagem e um nebulizador OneNeb inerte. Um gerador de nitrogênio modelo 4107 (Agilent Technologies) foi

usado como fonte de gás para plasma. Utilizando o software MP Expert, foi realizada uma correção automática de fundo. A bomba peristáltica foi programada para operar a 15 rpm. O tempo de estabilização foi de 15s e o tempo de integração de 3s. Dois parâmetros operacionais críticos (fluxo do nebulizador e posição de observação no plasma) foram otimizados automaticamente pelo software MP Expert (Agilent Technologies). Os comprimentos de onda selecionados (nm) foram Al (371.993), Fe (324.754), Mn (396.152), P (371.993), K (403.076) e Cu (766.491).

2.7. Determinação de nitrogênio

A determinação do nitrogênio foi realizada pelo método espectrofotométrico de fenol-hipoclorito, conforme descrito por Weatherburn (1967), adaptado. Um volume de 24 μL do material digerido mais 216 μL de água destilada foram adicionados aos tubos de ensaio com 1,5 mL de solução A (5 g de fenol e 0,025 g de nitroprussiato de sódio, perfazendo até 500 mL com água destilada) e 1,5 mL de solução B (2,5g de NaOH e 12,6mL de hipoclorito de sódio, completando até 500mL com água destilada), em seguida colocada em banho-maria por 20 min a 37 °C. Após 45 minutos de repouso, as leituras foram feitas em espectrofotômetro no comprimento de onda de 630 nm.

2.8. Análise estatística

Análise de componentes principais (Principal Component Analysis - PCA) e cluster hierárquico (Hierarchical Clustering Agglomerative - HCA) dos dados foi realizada com auxílio do R Development Core Team program (2020). Na análise de classificação por *support vector machine* (SVM) utilizamos algoritmos implementados em Python da biblioteca de código aberto sklearn para aprendizado de máquina. O software foi desenvolvido usando o spyder que é um ambiente de desenvolvimento científico exclusivo e de código aberto. Na classificação das amostras pelo SVM, foram utilizadas funções Kernel nos dados previamente padronizados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados encontrados estão na Tabela 1 e indicam que os reguladores de crescimento influenciaram nas variáveis analisadas.

Tabela 1. Crescimento, concentração de analitos inorgânicos e compostos fenólicos em *Salvia officinalis* cultivadas com reguladores de crescimento.

| Analito | C | AS | GA ₃ | ABA |
|--|--------------|--------------|-----------------|--------------|
| N (g kg ⁻¹) | 23± 1 | 21± 1 | 25± 2 | 30± 2 |
| P (mg kg ⁻¹) | 2,7± 0,3 | 3,2± 0,3 | 2,2± 0,4 | 1,9± 0,3 |
| K (mg kg ⁻¹) | 7,5± 0,6 | 6,0± 0,4 | 6,4± 0,1 | 9,7± 0,5 |
| Fe (mg kg ⁻¹) | 0,7± 0,1 | 0,71± 0,03 | 1,4± 0,2 | 1,3± 0,1 |
| Cu (mg kg ⁻¹) | 0,020± 0,001 | 0,004± 0,001 | 0,005± 0,002 | 0,006± 0,002 |
| Mn(mg kg ⁻¹) | 0,25± 0,05 | 0,21± 0,02 | 0,2± 0,03 | 0,26± 0,06 |
| Al (mg kg ⁻¹) | 1,9± 0,4 | 1,8± 0,4 | 2,4± 0,2 | 2,8± 0,1 |
| Fenólicos totais (mg g ⁻¹) | 15± 5 | 26±3 | 25± 4 | 27± 5 |
| Flavonoides totais (mg g ⁻¹) | 10± 2 | 12± 1 | 12± 2 | 14± 3 |
| Altura (cm) | 5.5 ± 2.6 | 7,5± 1 | 14± 1 | 5± 1 |
| Diâmetro do caule (cm) | 0,25± 0,01 | 0,28± 0,05 | 0,3± 0,1 | 0,21± 0,05 |
| Comprimento da raiz (cm) | 13± 5 | 19± 2 | 19± 7 | 19± 3 |
| Número de folhas | 11± 2 | 12± 3 | 14± 1 | 10± 1 |
| MSPA (g) | 0,4± 0,2 | 0,6± 0,1 | 0,6± 0,2 | 0,6± 0,1 |
| MSR (g) | 0,25± 0,03 | 0,5± 0,1 | 0,6± 0,2 | 0,7± 0,4 |
| MST (g) | 0,6± 0,2 | 1,0± 0,1 | 1,2± 0,3 | 1,2± 0,5 |

MSPA: Massa seca da parte aérea; MSR: Massa seca da raiz; MST: Massa seca total; C: Controle (Solução sem reguladores); AS: ácido salicílico; GA₃: Giberelina; ABA: ácido abscísico.

Além de interferir na absorção de elementos minerais, os reguladores de crescimento podem contribuir para o aumento na produção de alimentos. A produtividade dos alimentos vegetais pode ser medida através da análise de crescimento. As giberelinas estão relacionadas ao alongamento e divisão celular, estimulando o alongamento do caule (BHATTACHARYA, 2019). Jiménez et al. (2015) observaram que plantas de *Capsicum annum* tratadas com giberelinas apresentaram maior altura e peso quando comparadas aos controles. Neste estudo, os maiores valores para a variável altura foram encontrados nas plantas tratadas com giberelina, corroborando com a literatura.

O diâmetro do caule foi maior nas plantas tratadas com ácido salicílico, enquanto comprimento de raiz em plantas tratadas com ácido abscísico. O maior número de folhas foi observado nas plantas tratadas com giberelina. Khalloufi et al. (2017) observaram que a aplicação de giberelina aumentou o número de folhas de *Solanum Lycopersicum* L. Segundo a literatura, em algumas plantas, a presença de ácido abscísico inibe o crescimento da parte aérea por inibir a divisão celular. O crescimento ocorrerá à medida que os níveis de giberelina aumentarem (BHATTACHARYA, 2019). Portanto, para as variáveis de crescimento, os resultados encontrados neste estudo estão de acordo com a literatura.

A aplicação de reguladores de crescimento promoveu aumento significativo na massa seca da parte aérea, raiz e total da planta. Chen et al. (2020) também observaram que alguns reguladores exógenos, como a giberelina, têm efeito positivo no rendimento de massa seca. Khalloufi et al. (2017) relataram um aumento de 12% no peso seco da parte aérea em plantas de tomate em resposta à aplicação de giberelina. Neste trabalho, a aplicação de giberelina aumentou o rendimento de massa seca da parte aérea em mais de 59%, ou seja, a giberelina pode ser utilizada como estratégia para aumentar a produção de *Salvia officinalis*.

A maior concentração de compostos fenólicos e flavonoides totais foi encontrada nas plantas tratadas com ácido abscísico. O aumento de fenólicos totais devido a aplicação exógena de ácido abscísico pode estar relacionado à síntese de enzimas que estão envolvidas na produção de compostos fenólicos. A maioria dos compostos fenólicos é sintetizada pela via do fenil propanoide, iniciada pela fenilalanina amônia liase e, possivelmente, os ácidos abscísico e salicílico ativam genes envolvidos na síntese dessas enzimas (FLORES, BLANCH e CASTILLO, 2018). Giberelina também pode atuar como elicitores, aumentando a concentração de compostos fenólicos e flavonoides (ALRASHDI et al., 2017).

A aplicação de reguladores de crescimento pode interferir na absorção e translocação de elementos minerais (CHEN et al., 2020). Alguns elementos minerais são essenciais para vários processos metabólicos no corpo humano e

devem ser fornecidos pela alimentação, pois não são sintetizados pelo organismo. A Tabela 2 mostra as concentrações médias de elementos minerais retiradas da análise no MIP OES. Os macroelementos essenciais quantificados em *Salvia officinalis* foram K (6,05–9,72 mg kg⁻¹) e P (1,85–3,24 mg kg⁻¹). Estes elementos são de grande importância na regulação de fluidos corporais e como componente dos ossos (CINDRIC et al., 2013). Os microelementos determinados foram Fe, Mn e Cu. Eles desempenham um papel vital no funcionamento normal das enzimas no corpo humano (CVETKOVIC et al., 2018). O principal constituinte da *Salvia officinalis* foi o Fe, cuja concentração variou de 0,67 a 1,40 mg kg⁻¹. O Fe atua no transporte de oxigênio dos pulmões para os demais órgãos, pois é um dos constituintes da hemoglobina (CINDRIC et al., 2013).

O elemento encontrado em maior concentração foi o N (21,16 – 30,45 g kg⁻¹). O N é considerado essencial para o metabolismo de plantas e animais, pois constitui proteínas, e a proteína animal é importante na dieta humana, e como substituto, são necessárias pelo menos proteínas vegetais com qualidades metabólicas semelhantes (LIU et al., 2016). Concentrações significativas de Al (1,85–2,84 mg kg⁻¹) foram determinadas, o que pode indicar que *Salvia officinalis* tem uma capacidade relativamente alta de acumular esse elemento. O consumo de Al pode estar relacionado à ocorrência da doença de Alzheimer em humanos (CINDRIC et al., 2013). De acordo com Chen et al. (2020) os reguladores de crescimento promovem a absorção de elementos tóxicos pelas plantas, porém, as razões específicas para esses processos requerem mais pesquisas.

Com base nos resultados encontrados, o material vegetal que foi tratado com ácido abscísico apresentou maior concentração de N, K e Mn. As concentrações de Fe e Al foram maiores com a aplicação de ácido abscísico e giberelina. Esse aumento na concentração de Fe em resposta à aplicação de ABA e giberelina já foi relatado na literatura em plantas de pimenta (JIMENEZ et al., 2015). Esses autores relataram que o ácido abscísico e a giberelina podem ter algum papel no armazenamento e remobilização de Fe em plantas de pimenta, o que leva a um aumento na quantidade de Fe no fruto.

A concentração de P foi maior com a aplicação de ácido salicílico, no entanto foi observada uma redução para os demais elementos minerais estudados. As plantas de *Salvia officinalis* tratadas com ácido salicílico apresentaram maiores concentrações de K (11,6–19,3 mg g⁻¹ MS), P (2,2–2,7 mg g⁻¹ MS) e Ca (13,2–15,2 mg g⁻¹ MS) nas folhas, no entanto, o ácido salicílico reduziu a concentração de Cu (traço) (ES-SBIHI et al., 2020). Neste estudo, também foi observada redução na concentração de Cu em resposta à aplicação dos reguladores.

Nas folhas de tomate, a aplicação de giberelina aumentou a concentração de K e houve redução significativa de P, Mg e Fe (KHALLOUFI et al., 2017). Alrashdi et al. (2017) observaram um aumento na concentração de N, P, K em uvas tratadas com reguladores vegetais.

O aumento da concentração de elementos minerais em vegetais tratadas com reguladores podem estar relacionadas a uma melhor capacidade de permeabilidade da membrana e aumento do sistema radicular (KHANAM et al., 2012). Neste trabalho, o ácido abscísico promoveu o crescimento do sistema radicular de *Salvia officinalis*, que pode ter interferido na absorção e acúmulo de elementos minerais.

A melhoria da composição mineral em resposta à aplicação de reguladores vegetais deve ser um fator de estudo, pois permite a produção de alimentos com maiores concentrações de elementos minerais essenciais à saúde humana (JIMENEZ et al., 2015).

O uso da Análise de Componentes Principais visa reduzir o dimensionamento do conjunto de dados, estabelecendo variáveis ortogonais (componentes principais) com o máximo de preservação da informação possível nos dados. Os dados de concentração dos elementos minerais (N, P, K, Fe, Cu, Mn e Al), altura, diâmetro do caule, comprimento da raiz, número de folhas, flavonoides totais, compostos fenólicos totais, massa seca da parte aérea, massa seca da raiz e a massa seca total foi utilizada como matriz de resposta.

Os dois principais componentes PC1 (40,1%) e PC2 (29,1%) foram extraídos, explicando 69,2% da variância acumulada. A Tabela 2 mostra quais variáveis tiveram maior peso no modelo. PC1 está relacionado principalmente

aos elementos minerais Fe, Al (cargas positivas) e P, Cu (cargas negativas) e as variáveis comprimento da raiz, flavonoides totais, compostos fenólicos totais, massa seca da parte aérea, massa seca da raiz e massa seca total (cargas positivas), enquanto PC2 está relacionado aos minerais N, K e Mn (cargas negativas) e as variáveis altura, diâmetro do caule e número de folhas (cargas positivas). O gráfico de pesos, representado na figura 1, mostra a separação das variáveis em quatro grupos diferentes. A discriminação foi possível devido às diferenças encontradas nas plantas estudadas de acordo com a aplicação dos reguladores utilizados (ácido salicílico, giberelina, ácido abscísico) e as plantas que não receberam reguladores (C).

Tabela 2. Correlação das variáveis analisadas com o primeiro e segundo componente.

| Variáveis | Coeficientes | |
|----------------------------|--------------|--------|
| | PC1 | PC2 |
| Altura | 0.13 | 0.34 |
| Diâmetro do caule | -0.11 | 0.38 |
| Comprimento da raiz | 0.28 | 0.11 |
| Número de folhas | 0.07 | 0.40 |
| MSPA | 0.32 | 0.09 |
| MSR | 0.35 | -0.004 |
| MST | 0.36 | 0.03 |
| N | 0.25 | -0.29 |
| P | -0.24 | 0.23 |
| K | 0.12 | -0.42 |
| Fe | 0.27 | 0.008 |
| Cu | -0.29 | -0.22 |
| Mn | -0.05 | -0.38 |
| Al | 0.19 | -0.15 |
| Compostos fenólicos totais | 0.32 | 0.11 |
| Flavonoides totais | 0.30 | -0.04 |

MSPA: Massa seca da parte aérea; MSR: Massa seca da raiz; MST: Massa seca total;

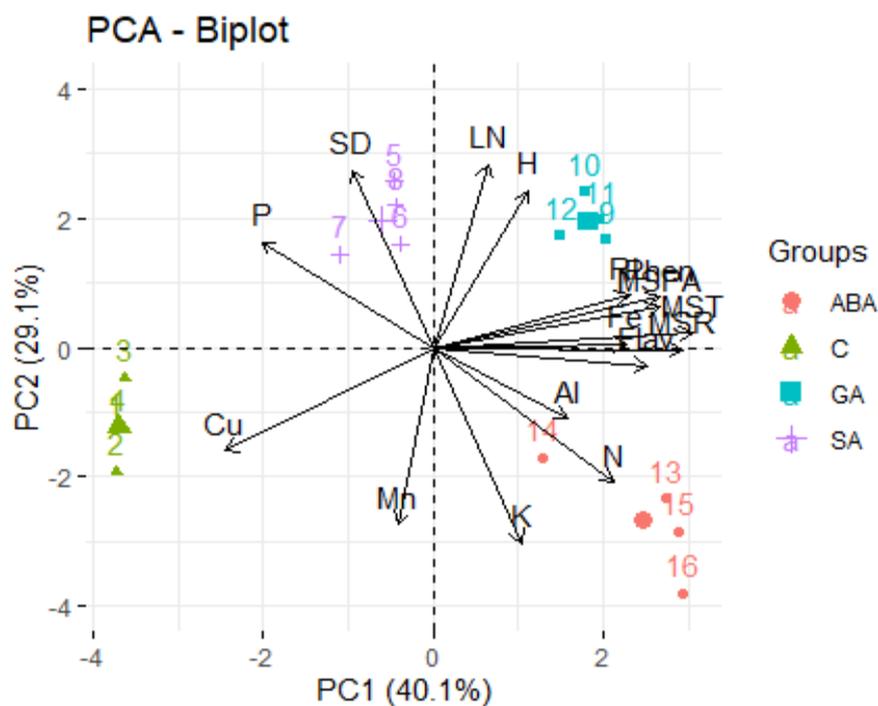


Figura 1. Gráfico da análise dos principais componentes do crescimento e variáveis nutracêuticas de plantas de *Salvia officinalis* tratadas com reguladores de crescimento. Legenda: ABA: ácido abscísico; C: Controle (Solução sem reguladores); GA: giberelina; SA: ácido salicílico.

A análise hierárquica de cluster é uma análise exploratória que classifica os dados com base nas semelhanças entre eles e uma das formas mais utilizadas para visualizar o HCA é por meio de dendrogramas. O método de Ward calcula quais dados devem ser agrupados com base na subtração da soma das distâncias quadradas de cada observação da observação média em um cluster (MURTAGH e LEGENDRE, 2014).

A figura 2 mostra o dendrograma obtido da análise de cluster hierárquico usando o método de Ward e distância euclidiana. É possível observar que o HCA agrupou as amostras em classes com base na similaridade dos dados participantes das mesmas classes e nas diferenças entre amostras de diferentes classes. Conforme visto no gráfico de pesos da Análise de Componentes Principais, é possível classificar e visualizar as amostras de plantas estudadas de acordo com os regulares aplicados em quatro grupos diferentes: controle, ácido salicílico, giberelina e ácido abscísico.

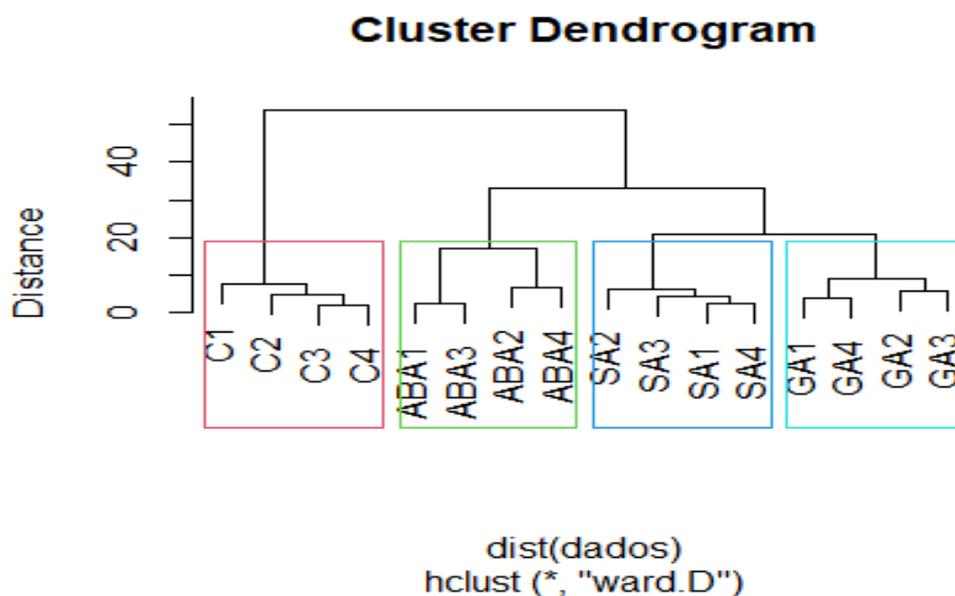


Figura 2: Dendrograma do crescimento e variáveis nutracêuticas de *Salvia officinalis* tratadas com reguladores de crescimento. Legenda: ABA: ácido abscísico; C: Controle (Solução sem reguladores); GA: giberelina; SA: ácido salicílico.

Verificamos a possibilidade de classificar amostras de diferentes grupos de tratamento baseados apenas em variáveis químicas (composição mineral, flavonoides totais e compostos fenólicos totais) ou variáveis agrônômicas como altura, diâmetro do caule, comprimento da raiz, número de folhas, massa seca da parte aérea, massa seca da raiz e massa seca total. Dessa forma, aplicamos SVM aos dados, que é um modelo de aprendizado de máquina supervisionado. As amostras foram melhores classificadas usando o modelo SVM Linear Kernel em comparação com os modelos SVM Não-Linear como um kernel polinomial.

A avaliação do modelo por validação cruzada de 5 vezes (CV = 5) expôs um precisão média de 87,5% para amostras classificadas com base em variáveis químicas e 93,7% para classificação com base em variáveis agrônômicas. Este resultado indica que as variáveis agrônômicas são pouco mais eficientes na classificação das amostras do que as químicas. A qualidade do classificador SVM foi avaliada por uma matriz de confusão nos dados do teste e mostrou uma taxa de sucesso de 100% em termos de previsões de verdadeiros positivos e falsos positivos.

A importância das variáveis na classificação das amostras por SVM linear

é mostrada nas Figuras 3 (A) e 3 (B). De acordo com os resultados, os teores de Cu e N são os atributos químicos mais importantes para o classificador, enquanto a altura e a massa seca da raiz são os atributos físicos mais importantes. Gráficos de superfície de decisão construídos com esses atributos podem ser vistos nas figuras 3 (C) e 4 (D).

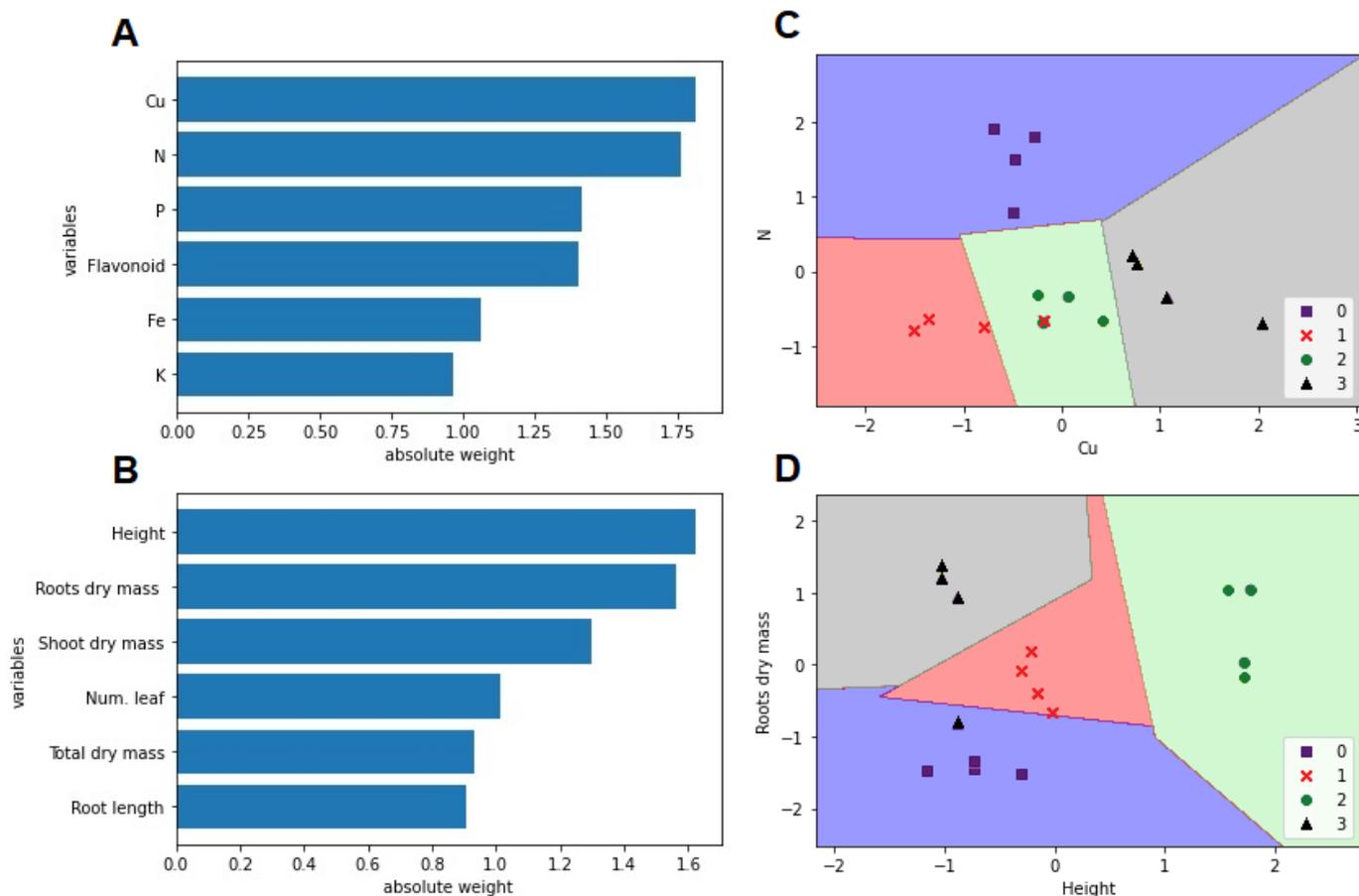


Figura 3: Importância das variáveis obtida por SVM com Kernel linear para atributos químicos (A) e atributos agrônômicos (B). Gráfico de superfície de decisão SVM com Kernel linear para: Cu e N (C); altura e massa seca das raízes (D). Legenda: 0 = Controle (solução sem reguladores), 1=SA: Ácido salicílico, 2 = GA: Ácido giberélico, 3= ABA: Ácido abscísico.

CONCLUSÃO

Os resultados mostraram que a *Salvia officinalis* é uma boa fonte de compostos fenólicos e flavonoides e que reguladores vegetais podem ser utilizados para aumentar a biossíntese desses compostos.

É possível que os reguladores de crescimento ativem genes específicos envolvidos na síntese da enzima fenilalanina amônia liase, precursora da síntese

de compostos fenólicos. Os compostos fenólicos possuem propriedades antioxidantes e antimicrobianas, por isso a *Salvia officinalis* tem potencial para ser utilizada como aditivo natural em alimentos ou cosméticos. A aplicação de reguladores na *Salvia officinalis* também é uma ferramenta útil para melhorar a produtividade e absorção de alguns elementos minerais essenciais para a saúde humana, mas em altas concentrações, reguladores como o ácido abscísico podem prejudicar o desenvolvimento das plantas, por isso, mais estudos sobre as concentrações ideais de cada regulador são necessários.

Fatores como composição mineral e espécies de plantas irão determinar absorção em maior quantidade. Neste estudo, o aplicativo ABA aumentou a concentração de N, K, Fe e Al. A giberelina foi eficiente em aumentar a absorção dos nutrientes N, Fe e Al. Para o elemento mineral P, apenas as plantas pulverizadas com ácido salicílico apresentaram maior concentração que o controle. Observou-se que os reguladores giberelina e ácido salicílico estimularam o crescimento da parte aérea e radicular, enquanto o ácido abscísico promoveu apenas o crescimento do sistema radicular de *Salvia officinalis*. A aplicação de reguladores de crescimento também favoreceu a produção de fotoassimilados.

A classificação das amostras usando support vector machine concordaram com ferramentas já tradicionalmente utilizadas em análises exploratórias como PCA e HCA.

REFERÊNCIAS

- Abreu, C. B., de O. Ribeiro, M., Pinho, C. S., Carneiro, C. N., de Azevedo Neto, A. D., de Souza, M. O., & de S. Dias, F. (2021). Exploratory analysis in the evaluation of stress due to aluminum presence in *Physalis angulata* L. and multielement determination by microwave-induced plasma optical emission spectrometry (MIP OES). *Environmental Science and Pollution Research*, 28(5), 5598–5608. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-10871-4>.
- Althoff, A. G., Williams, C. B., McSweeney, T., Gonçalves, D. A., & Donati, G. L. (2017). Microwave-Induced Plasma Optical Emission Spectrometry (MIP OES) and Standard Dilution Analysis to determine trace elements in pharmaceutical samples. *Applied Spectroscopy*, 71(12), 2692–2698. <https://doi.org/10.1177/0003702817721750>.

- Alrashdi, A. M. A., Al-Qurashi, A. D., Awad, M. A., Mohamed, S. A., & Al-rashdi, A. A. (2017). Quality, antioxidant compounds, antioxidant capacity and enzymes activity of 'El-Bayadi' table grapes at harvest as affected by pre-harvest salicylic acid and gibberellic acid spray. *Scientia Horticulturae*, 220, 243–249. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.04.00>
- Bhattacharya, A. (2019). Effect of high-temperature stress on the metabolism of plant growth regulators (pp. 485–591). Academic Press. Broekaert, J. A. C., & Siemens, V. (2004). Recent trends in atomic spectrometry with microwave-induced plasmas. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 59(12), 1823–1839. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2004.08.006>
- Carneiro, C. N., Gomez, F. J. V., Spisso, A., Silva, M. F., Azcarate, S. M., & Dias, F. d. S. (2020). Geographical characterization of South America wines based on their phenolic and melatonin composition: An exploratory analysis. *Microchemical Journal*, 158, 105240. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105240>
- Chen, L., Long, C., Wang, D., & Yang, J. (2020). Phytoremediation of cadmium (Cd) and uranium (U) contaminated soils by *Brassica juncea* L. enhanced with exogenous application of plant growth regulators. *Chemosphere*, 242, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125112>
- Cindric, I. J., Zeiner, M., Glamuzina, E., & Stingeder, G. (2013). Elemental characterisation of the medical herbs *Salvia officinalis* L. and *Teucrium montanum* L. grown in Croatia. *Microchemical Journal*, 107, 185–189. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2012.06.013>
- Cvetkovic, D., Stanojevic, L., Zvezdanovic, J., Savic, S., Ilic, D., & Karabegovic, I. (2018). Aronia leaves at the end of harvest season—Promising source of phenolic compounds, macro-and microelements. *Scientia Horticulturae*, 239, 17–25. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.05.015>
- Durling, N. E., Catchpole, O. J., Grey, J. B., Webby, R. F., Mitchell, K. A., Foo, L. Y., & Perry, N. B. (2007). Extraction of phenolics and essential oil from dried sage (*Salvia officinalis*) using ethanol–water mixtures. *Food Chemistry*, 101(4), 1417–1424. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.03.050>
- Dias F. S., David, J. M.; David, J. P. Determination of phenolic acids and quercetin in Brazilian red wines from Vale do São Francisco region using liquid-liquid ultrasoundassisted extraction and HPLC-DAD-MS *J. Braz. Chem. Soc.* 26 2016 1055 1059 10.5935/0103-5053.20150363.
- Es-sbihi, F. Z., Hazzoumi, Z., Benhima, R., & Amrani Joutei, K. (2020). Effects of salicylic acid on growth, mineral nutrition, glandular hairs distribution and essential oil composition in *Salvia officinalis* L. grown under copper stress. *Environmental Sustainability*, 3(2), 199–208. <https://doi.org/10.1007/s42398-020-00109-x>
- Flores, G., Blanch, G. P., & Castillo, M. L. R. (2018). Abscisic acid treated olive seeds as a natural source of bioactive compounds. *LWT - Food Science and Technology*, 90, 556–561. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.01.009>
- Giannakoula, A. E., Ilias, I. F., Maksimovic, J. J. D., Maksimovic, V. M., & Zivanovic, B. D. (2012). The effects of plant growth regulators on growth, yield, and phenolic profile of lentil plants. *Journal of Food Composition and Analysis*, 28(1), 46–53. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2012.06.005>

- Jiang, F., Lu, Y., Chen, Y., Cai, D., & Li, G. (2020). Image recognition of four rice leaf diseases based on deep learning and support vector machine. *Computers and Electronics in Agriculture*, 179, 105824. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2020.105824>
- Jimenez, M. P., Navarro, M. P., Marin, J. L., Galvez, A., Varo, P., & Amor, F. M. (2015). Foliar application of plant growth regulators changes the nutrient composition of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). *Scientia Horticulturae*, 194, 188–193. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.08.002>
- Jung, M. Y., Kang, J. H., Choi, Y. S., Lee, D. Y., Lee, J. Y., & Park, J. S. (2019). Analytical features of microwave plasma-atomic emission spectrometry (MP-AES) for the quantitation of manganese (Mn) in wild grape (*Vitis coignetiae*) red wines: Comparison with inductively coupled plasma-optical emission spectrometry (ICPOES). *Food Chemistry*, 274, 20–25. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.114>
- Khalloufi, M., Andújar, C. M., Lachaal, M., Bouraoui, N. K., Alfocea, F. P., & Albacete, A. (2017). The interaction between foliar GA3 application and arbuscular mycorrhizal fungi inoculation improves growth in salinized tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants by modifying the hormonal balance. *Journal of Plant Physiology*, 214, 134–144. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2017.04.012>
- Khalil, N., Fekry, M., Bishr, M., El-Zalabani, S., & Salama, O. (2018). Foliar spraying of salicylic acid induced accumulation of phenolics, increased radical scavenging activity and modified the composition of the essential oil of water stressed *Thymus vulgaris* L. *Plant Physiology and Biochemistry*, 123, 65–74. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.12.007>
- Khanam, U. K. S., Oba, S., Yanase, E., & Murakami, Y. (2012). Phenolic acids, flavonoids and total antioxidant capacity of selected leafy vegetables. *Journal of Functional Foods*, 4(4), 979–987. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2012.07.006>
- Koca, N., & Karaman, S. (2015). The effects of plant growth regulators and L-phenylalanine on phenolic compounds of sweet basil. *Food Chemistry*, 166, 515–521. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.06.065>
- Liu, J., Ma, K., Ciais, P., & Polasky, S. (2016). Reducing human nitrogen use for food production. *Scientific Reports*, 6(1). <https://doi.org/10.1038/srep30104>
- Marques, G. S., Monteiro, R. P. M., Leao, W. F., Lyra, M. A. A., Peixoto, M. S., Rolim Neto, P. J., & Soares, L. A. L. (2012). Avaliação de procedimentos para quantificação espectrofotométrica de flavonoides totais em folhas de *Bauhinia forficata* Link. *Química Nova*, 35(3), 517–522. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422012000300014>
- Matusiewicz, H., & Slachcinski, M. (2014). Development of a one-step microwave-assisted subcritical water extraction for simultaneous determination of inorganic elements (Ba, Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, Na, Pb, Sr, Zn) in reference materials by microwave induced plasma spectrometry. *Microchemical Journal*, 115, 6–10. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2014.02.002>
- Moreira, G. C., Anjos, G. L., Carneiro, C. N., Ribas, R. F., & Dias, F. S. (2020). Phenolic compounds and photosynthetic activity in *Physalis angulata* L. (Solanaceae) in response to application of abscisic acid exogenous. *Phytochemistry Letters*, 40, 96–100. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2020.09.018>

- Murtagh, F., & Legendre, P. (2014). Ward's hierarchical agglomerative clustering method: which algorithms implement ward's criterion? *Journal of Classification*, 31 (3), 274–295. <https://doi.org/10.1007/s00357-014-9161-z>
- Niedzielski, P., Kozak, L., Wachelka, M., Jakubowski, K., & Wybieralska, J. (2015). The microwave induced plasma with optical emission spectrometry (MIP-OES) in 23 elements determination in geological sample. *Talanta*, 132, 591–599. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.10.009>
- Papandrea, P. J., Frigieri, E. P., Maia, P. R., Oliveira, L. G., & Paiva, A. P. (2020). Surface roughness diagnosis in hard turning using acoustic signals and support vector machine: A PCA-based approach. *Applied Acoustics*, 159, 107102. <https://doi.org/10.1016/j.apacoust.2019.107102>
- R development core team. R: a language and environment for statistical computing. (2020). <https://www.r-project.org/>.
- Rostami, S., & Azhdarpoor, A. (2019). The application of plant growth regulators to improve phytoremediation of contaminated soils: A review. *Chemosphere*, 220, 818–827. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.12.203>
- Sant'ana, R. D. S., Carvalho, C. A. L., Oda-Souza, M., Souza, B. D. A., & Dias, F. S. (2020). Characterization of honey of stingless bees from the Brazilian semi-arid region. *Food Chemistry*, 327, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127041>
- Santos, J., Herrero, M., Mendiola, J. A., Oliva-Teles, M. T., Ibáñez, E., Delerue-Matos, C., & Oliveira, M. B. P. P. (2014). Fresh-cut aromatic herbs: Nutritional quality stability during shelf-life. *LWT – Food Science and Technology*, 59(1), 101–107. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.05.019>
- Sharifi-Rad, M., Ozcelik, B., Altin, G., Das, Kaya-Dikmen, C., Martorell, M., RamírezAlarcon, K., & Sharifi-Rad, J. (2018). *Salvia* spp. plants-from farm to food applications and phytopharmacotherapy. *Trends in Food Science & Technology*, 80, 242–263. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.08.008>
- Shmilovici, A. (2009). Support vector machines. In: *Data mining and knowledge discovery handbook*. Springer, 231-247. doi: 10.1007/978-0-387-09823-4_12.
- Sojic, B., Pavlic, B., Zekovic, Z., Tomovic, V., Ikonc, P., Kocic-Tanackov, S., & Dzinic, N. (2018). The effect of essential oil and extract from sage (*Salvia officinalis* L.) herbal dust (food industry by-product) on the oxidative and microbiological stability of fresh pork sausages. *LWT – Food Science and Technology*, 89, 749–755. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.11.055>
- Taiz, L., Zeiger, E., Moller, I. M., Murphy, A. (2017). *Fisiologia e desenvolvimento vegetal*. 6 ed.
- Tannus, C. A., Dias, F. S., Santana, F. B., Santos, D. C. M. B., Magalhães, H. I. F., Dias, F. S., Santos Junior, A. F. (2021). Multielement Determination in Medicinal Plants and Herbal Medicines Containing *Cynara scolymus* L., *Harpagophytum procumbens* D.C., and *Maytenus ilifolia* (Mart.) ex Reiss from Brazil Using ICP OES. *Biological Trace Element Research* 199, 2330-2341. doi: 10.1007/s12011-020-02334-1.
- Weatherburn, M. W. (1967). Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. *Analytical Chemistry*, 39, 971-974. doi: 10.1021/ac60252a045.

CAPÍTULO 3

***Trichoderma* spp. NA INDUÇÃO DE COMPOSTOS
FENÓLICOS E PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO EM *Salvia
officinalis***

Artigo a ser ajustado e submetido ao Comitê Editorial do período científico Industrial
Crops em versão na língua inglesa

Trichoderma* spp. na indução de compostos fenólicos e promoção de crescimento em *Salvia officinalis

Resumo - A *Salvia officinalis* é cultivada mundialmente para produção do óleo essencial, contudo o extrato da planta também é fonte de fitoquímicos, como os compostos fenólicos. O objetivo deste trabalho foi avaliar o rendimento de massa fresca e seca, teor de flavonoides e compostos fenólicos totais no extrato da *Salvia officinalis* inoculada com *Trichoderma* spp. O experimento foi realizado na área experimental do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas. Sementes de *Salvia officinalis* foram embebidas em uma suspensão de *Trichoderma* spp. 10^7 esporos por uma hora, então foram semeadas em bandejas de polietileno. Após 30 dias a semeadura, as plântulas foram transferidas para vasos com 5 dm³ de solo + húmus de minhoca. Foram testados os isolados TCS 85 (*Trichoderma asperellum*), TCS 29 (*Trichoderma harzianum*) e TCS 87 (*Trichoderma asperellum*), mais a testemunha (água esterilizada). A suspensão com os diferentes isolados de *Trichoderma* spp. foi aplicada diretamente no solo (10 mL por planta) e pulverizada nas folhas. As aplicações foram a cada 30 dias e aos 120 dias após a semeadura, o experimento foi coletado, totalizando 4 aplicações. O delineamento foi o inteiramente casualizado: 4 tratamentos, com 5 repetições; cada repetição com 5 plantas. A massa fresca e massa seca foram determinadas com auxílio de uma balança; O óleo essencial foi extraído pelo método da hidrodestilação; Os flavonoides totais e fenólicos totais foram determinados pelo método espectrofotométrico utilizando cloreto de alumínio e Folin ciocalteu, respectivamente. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, com auxílio do aplicativo R. A inoculação com *Trichoderma* spp. promoveu o aumento da massa seca da parte aérea, da raiz e na concentração de compostos fenólicos totais de *Salvia officinalis*. Conclui-se que os isolados estudados têm potencial para serem utilizados como biofertilizantes no cultivo de *Salvia officinalis*.

PALAVRAS-CHAVE: plantas medicinais, microrganismos benéficos, compostos biativos.

Trichoderma* spp. in the induction of phenolic compounds and growth promotion in *Salvia officinalis

Abstract – *Salvia officinalis* is cultivated worldwide for the production of essential oil, however the plant extract is also a source of phytochemicals, such as phenolic compounds. The objective of this work was to evaluate the yield of fresh and dry mass, content of flavonoids and total phenolic compounds in the extract of *Salvia officinalis* inoculated with *Trichoderma* spp. The experiment was carried out in the experimental area of the Center for Agrarian, Environmental and Biological Sciences, at the Federal University of Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas. *Salvia officinalis* seeds were soaked in a suspension of *Trichoderma* spp. 107 spores for one hour, then seeded in polyethylene trays. After 30 days of sowing, the seedlings were transferred to pots with 5 dm³ of soil + earthworm humus. The isolates TCS 85 (*Trichoderma asperellum*), TCS 29 (*Trichoderma harzianum*) and TCS 87 (*Trichoderma asperellum*), plus the control (sterilized water) were tested. The suspension with the different isolates of *Trichoderma* ssp. was applied directly to the soil (10 mL per plant) and sprayed on the leaves. The applications were every 30 days and at 120 days after sowing, the experiment was collected, totaling 4 applications. The design was completely randomized: 4 treatments, with 5 replications; each repetition with 5 plants. Fresh mass and dry mass were determined using a scale; The essential oil was extracted by the hydrodistillation method; Total and total phenolic flavonoids were determined by the spectrophotometric method using aluminum chloride and Folin ciocalteu, respectively. Data were submitted to analysis of variance and means were compared by Tukey's test, with the aid of the R application. Inoculation with *Trichoderma* spp. promoted an increase in shoot and root dry mass and in the concentration of total phenolic compounds of *Salvia officinalis*. It is concluded that the studied isolates have the potential to be used as biofertilizers in the cultivation of *Salvia officinalis*.

Keywords: medicinal plants; microorganisms benefits; bioactive compounds.

INTRODUÇÃO

A *Salvia officinalis* é uma das espécies mais cultivadas do gênero e é considerada uma planta de importância comercial devido à presença de compostos bioativos, como os compostos fenólicos, que podem ser explorados em indústrias farmacêutica, cosmética, agrícola e alimentícia (FARHAT et al., 2016; KHIYA et al., 2019; CORREIA et al., 2022).

Os compostos fenólicos são encontrados no óleo essencial e extrato da *Salvia officinalis*. São conhecidos por sua propriedade antioxidante e antimicrobiana, por isso desempenham importante papel na prevenção e tratamento de doenças (MARTINS, BARROS e FERREIRA, 2016; ESFANJANI, ASSADPOUR e JAFARI, 2018). Assim, a planta pode ser utilizada como uma alternativa aos antioxidantes e medicamentos sintéticos (DAMMAK et al., 2019; KHIYA et al., 2019; CABARKAPA et al., 2020; AL-MIJALLI et al., 2022). Além das propriedades antioxidantes e antimicrobianas, alguns compostos fenólicos isolados a partir da *Salvia officinalis* podem ter atividade anti-inflamatória (LI et al., 2019).

Diferenças encontradas na literatura sobre a composição química dos extratos de uma mesma espécie vegetal, é resultado das condições de cultivo como temperatura, pluviosidade, características do solo, bem como as condições de extração (IMANE et al., 2020; PANDEY et al., 2020).

Tendo em vista a importância desses compostos, pesquisadores buscam técnicas de manejo que aumentem a concentração destes na planta. Alguns trabalhos relatam que fungos como, por exemplo, micorrizas e *Trichodermas* associam-se as plantas sem causar doenças e exercem efeitos benéficos às plantas medicinais e aromáticas (TARRAF et al., 2017; HASSIOTIS et al., 2018).

Quando inoculados antes do plantio, os microrganismos podem levar ao estabelecimento precoce da planta. Além disso, podem controlar patógenos, aumentar a produção de metabólitos especiais, através da indução de defesa e promover o crescimento vegetal (SINGH et al., 2019; SHARMA et al., 2022).

A inoculação com *Trichoderma* spp. pode aumentar a absorção de alguns elementos minerais essenciais para o crescimento e desenvolvimento vegetal, mesmo em solos ácidos (CONTE et al., 2022). Algumas cepas são capazes de

produzir compostos como reguladores de crescimento, alterando o metabolismo vegetal (BADER et al., 2019). O mecanismo de ação para controlar fitopatógenos e promover o crescimento depende de fatores como características do solo, interação com outros microrganismos, espécie vegetal e linhagem de *Trichoderma* spp. estudada (STEWART e HILL, 2014; SHARMA et al., 2022; SIRIN et al., 2022). Entre as principais espécies estudadas estão *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma asperellum* (MORANDI e BETTIOL, 2009).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o rendimento de massa fresca e seca, concentração de flavonoides e compostos fenólicos totais em *Salvia officinalis* inoculada com diferentes isolados de *Trichoderma* spp.

Material e métodos

Material vegetal e condições experimentais

O experimento foi realizado na área experimental do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, Bahia.

O solo utilizado é classificado como Latossolo Amarelo Distrófico e foi coletado na área experimental da UFRB, Cruz das Almas- Bahia e a análise química do solo foi realizada pelo Laboratório de Análise de Solo, Água e Plantas cujo pH: 6,0; P (mg/dm³): 61,09; K(mg/dm³): 29,0; Na (mg/dm³): 1,0; Ca²⁺(cmol(c)/dm³): 2,8; Mg²⁺(cmol(c)/dm³): 1,5; Al³⁺(cmol(c)/dm³): 0; H + Al: 1,7; MO (%): 3,64. Como fonte de adubação orgânica foi utilizado o húmus de minhoca, adquirido na fazenda experimental (MOREIRA et al., 2021).

Obtenção dos isolados de *Trichoderma* spp.

Os isolados de *Trichoderma* spp. são da coleção de microrganismos do Laboratório de Microbiologia da UFRB, com identificação morfológica e molecular (MASCARENHAS, 2016). Os isolados TCS 87 (*Trichoderma asperellum*), TCS 85 (*Trichoderma asperellum*), obtidos de plantas de bananeira em área produtiva de Bom Jesus da Lapa, Bahia, Brasil. O isolado TCS 29 foi

(*Trichoderma harzianum*) foi obtido de solo de área de plantio de sisal da região sisaleira no município de Campo Formoso, Bahia, Brasil.

Inoculação dos isolados de *Trichoderma* spp.

As sementes (Isla Sementes®) foram embebidas por uma hora em uma suspensão de *Trichoderma* spp. de acordo com cada tratamento e depois foram semeadas em bandejas preenchidas com substrato comercial Plantmax® a uma profundidade de 0,5 cm. Após 10 dias foi realizado o desbaste deixando uma planta por célula e aos 30 dias após a semeadura foram transferidas para os vasos preenchidos com 5 dm³ de solo e húmus de minhoca (10%), dando início a inoculação dos isolados. A suspensão com os diferentes isolados foi aplicada diretamente no solo (10 mL por planta) e pulverizada nas folhas, na parte adaxial e abaxial. As aplicações foram a cada 30 dias e aos 120 dias após a semeadura, o experimento foi coletado. No tratamento controle foi aplicado apenas água destilada esterelizada, seguindo o mesmo protocolo utilizado na inoculação dos isolados.

Preparo da suspensão de esporos

Os isolados de *Trichoderma* TCS 87, TCS 85 e TCS 29 foram repicados utilizando aproximadamente 5 mm de diâmetro e transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA) com nutrientes diluídos para 1/5. Então foram incubados em B.O.D. com temperatura de 25±2°C e fotoperíodo de 12 horas durante 7 dias. Após este período, foi adicionado em cada placa 20 mL de água destilada estéril e uma gota de Tween 20®, com o objetivo de suspender os propágulos fúngico. Os conídios foram raspados com uma alça de Drigalsky esterilizada por flambagem, posteriormente foi realizada a contagem de esporos em câmara de Neubauer para ajuste da suspensão na concentração de 10⁷.

Rendimento de massa fresca e massa seca

No momento da coleta, foram pesadas a parte aérea das plantas com auxílio de uma balança portátil. Então o material vegetal foi levado à estufa a 45°C até atingir massa seca constante e foram pesados parte aérea e raiz utilizando uma balança analítica.

Preparo da solução extratora

Foram pesados 0,2 g da amostra e adicionados 10 mL de solução hidroalcoólica (50% EtOH) (DURLING et al., 2007). As amostras foram sonicadas em banho ultrassônico (Elma Ultrasonic S10H®, F.: 50/ 60 Hz, P.: 90 W, Alemanha) por 15 minutos. As soluções foram filtradas e armazenadas no congelador até o uso.

Determinação dos compostos fenólicos totais da solução extratora

Os compostos fenólicos totais foram determinados por espectrofotometria, utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu, de acordo a metodologia proposta por Moreira e Dias (2018), com algumas modificações. Uma alíquota de 300 µL da amostra foi misturada com 400 µL do reagente de Folin-Ciocalteu e 1 mL de Na₂CO₃ saturado. A absorbância foi mensurada a 750 nm utilizando o espectrofotômetro (Tecnal®, Piracicaba, SP, Brazil). As análises foram realizadas em triplicata e os resultados expressos em mg de ácido gálico (EAG) equivalente por g de *Salvia*.

Determinação dos flavonoides totais da solução extratora

A determinação de flavonoides totais seguiu a metodologia proposta por Abreu et al. (2017), com algumas modificações. Em um balão de 10 mL pegou-se uma alíquota de 1 mL da amostra e posteriormente foi adicionado 2 mL de solução etanólica de AlCl₃ (5%, m/v). O volume foi ajustado com a solução hidroalcoólica (40%, m/v). Após 30 minutos as análises foram realizadas

utilizando um espectrofotômetro (Tecnal®, Piracicaba, SP, Brazil) a 408 nm. As análises foram realizadas em triplicata e os resultados expressos em mg de quercetina (mgQE) equivalente por g de *Salvia*.

Extração de óleo essencial

A extração do óleo essencial de *Salvia officinalis* foi realizada pelo método de hidrodestilação. Foram pesados 25 g da massa seca da parte aérea de cada tratamento e colocados no balão de fundo redondo com capacidade de 2000 mL, então foi adicionado água destilada até que o material vegetal fosse coberto. O balão foi acoplado em equipamento Clevenger aquecido com auxílio da manta térmica. O processo durou 120 minutos, após a condensação da primeira gota. Este processo foi realizado duas vezes para cada tratamento, totalizando 50 g de amostra vegetal.

Para retirar o óleo essencial foi utilizado a pipeta de Pasteur e pesado em balança analítica de alta precisão para determinar o rendimento. O rendimento do óleo foi calculado segundo a equação apresentada por Wei et al. (2018) e análise é qualitativa.

Rendimento (%) = (massa do óleo extraído/ massa do material seco) x 100.

Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento foi o inteiramente casualizado com um total de 4 tratamentos e cada tratamento com 5 repetições. Cada repetição formada por 5 plantas, totalizando 100 unidades experimentais. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias, comparadas pelo teste de Tukey, com 5% de probabilidade de erro, foram realizadas com o auxílio do aplicativo R Development Core Team (2011).

Resultados e discussões

Os resultados encontrados a partir da análise estatística confirmam que a inoculação com os isolados TCS 85, TCS 87 e TCS 29 interfere no rendimento de massa seca da parte aérea, raiz e fenólicos totais de *Salvia officinalis*. Para massa fresca da parte aérea e flavonoides totais não foram observadas diferenças significativas (Tabela 1).

Tabela 1. Rendimento de massa seca da parte aérea, raiz e fenólicos totais de plantas de *Salvia officinalis* inoculada com diferentes isolados de *Trichoderma harzianum**

| Tratamento | MFPA (g) | MSPA (g) | MSR (g) | Flavonoides totais (mg QE/g) | Fenólicos totais (mg EAG/g) |
|------------|----------|----------|---------|------------------------------|-----------------------------|
| Testemunha | 24,47 | 5,02 B | 2,80 B | 5,67 | 17,07 AB |
| TCS 87 | 26,15 | 5,48 AB | 2,75 B | 4,90 | 21,21 A |
| TCS 29 | 24,72 | 5,52 AB | 2,62 B | 5,20 | 16,50 AB |
| TCS 85 | 26,48 | 6 A | 3,13 A | 5,54 | 14,11 B |
| CV (%) | 7,12 | 8,34 | 5,68 | 13,39 | 21,11 |

*Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey ($p > 0,05$). Onde MFPA: Massa fresca da parte aérea; MSPA: Massa seca da parte aérea; MSR: Massa seca da raiz.

Os resultados mostram um aumento de até 16,3% no rendimento de massa seca da parte aérea e da raiz das plantas de *Salvia officinalis* inoculadas com TCS 85. Os mecanismos de ação do *Trichoderma* na promoção de crescimento podem variar de acordo a cepa estudada, disponibilidade de nutrientes, presença de outros microrganismos, cultura estudada (MACHADO et al., 2015; TARRAF et al., 2017; BADER et al. 2019). Algumas cepas de *Trichoderma* podem solubilizar o P inorgânico, tornando-o disponível para planta, ou reprogramam a expressão gênica, induzindo à planta a síntese de compostos como os reguladores de crescimento ou metabólitos especiais, que modificam o metabolismo vegetal, resultando na alteração da fisiologia da planta, como o aumento das raízes e, conseqüentemente, favorecendo a absorção de elementos minerais essenciais (CHEPSEKON, MWAMBURI e KASSIM, 2014; STEWART e HILL, 2014; KHAN e MOHIDDIN, 2018; BADER et al., 2019). É possível também que isolados de *Trichoderma* produzam antioxidantes, enzimáticos ou não enzimáticos, eficientes em hidrolisar as espécies reativas de oxigênio (ERO's), contribuindo para o crescimento e desenvolvimento vegetal (ZHANG et al., 2019).

A inoculação com *Trichoderma* facilita o estabelecimento de plantas medicinais em solos pobres em nutrientes, visto que pode promover o aumento da absorção de importantes minerais como NPK, mesmo em condições de estresse abiótico, e isso pode refletir no acúmulo de massa seca, teor de clorofila e rendimento dos metabólitos especiais (SINGH et al., 2019; ZHANG et al., 2019; MOREIRA et al., 2021). Os microrganismos benéficos, como os *Trichodermas* atuam por um ou mais mecanismos de ação na promoção do crescimento e podem ser utilizados como uma alternativa aos fertilizantes químicos, principalmente em cultivos orgânicos, contudo é importante encontrar linhagens que estejam adaptadas às condições locais e a espécie vegetal cultivada.

Tarraf et al. (2017) relataram maior massa seca das folhas de *Salvia officinalis* inoculadas com fungos micorrizicos *Septoglomus viscosum* e Symbivit®, que disponibilizaram maior quantidade de P para as plantas, evidenciando que a prática de utilizar microrganismos benéficos é promissora para esta cultura. Resultados semelhantes foram demonstrados por Samani et al. (2018) em *Salvia officinalis* cuja maior massa fresca, seca e concentração máxima de pigmentos fotossintéticos foram encontrados nas plantas inoculadas com *Pseudomonas fluorescens* e fungos micorrizicos, que podem ter fornecido diferentes nutrientes à planta favorecendo o seu crescimento.

Estirpes de *Trichoderma harzianum* promoveram o crescimento, o aumento no teor de clorofila, massa fresca e massa seca em plantas de *Solanum lycopersicum* (BADER et al., 2019). A inoculação resultou no aumento das variáveis altura, comprimento da raiz, massa fresca e massa seca em *Gochnatia polymorpha* (MACHADO et al., 2015). Na espécie *Oryza sativa* observou-se o crescimento da cultura, mesmo em condições de estresse hídrico, em resposta a inoculação (PANDEY et al., 2016). O *Trichoderma harzianum* foi eficiente em mitigar os efeitos causados pelo estresse salino em *Cucumis sativa*, além de promover o crescimento da parte aérea e das raízes (ZHANG et al., 2019). Em plantas de *Mentha arvensis* inoculadas com *Trichoderma harzianum* não houve diferença estatística para altura, mas foi observado aumento da massa fresca (SINGH et al., 2019), diferente do que foi observado neste trabalho em que a massa fresca das plantas não diferiu entre si.

Os compostos fenólicos desempenham importante papel no crescimento e desenvolvimento vegetal, visto que são importantes mecanismos de defesa (KUBALT, 2016). O maior rendimento de compostos fenólicos foi observado nas plantas inoculadas com TCS 87 (21,21 mg EAG/g), entretanto não diferiram estatisticamente de plantas inoculadas com o TCS 29 (16,50 mg EAG/g) e sem inoculação (17,07 mg EAG/g). A concentração de compostos fenólicos nas plantas inoculadas com os isolados TCS 87 aumentou em 33,48% quando comparado com plantas inoculadas com o TCS 85 (14,11 mg EAG/g). Essa variação no rendimento de compostos fenólicos totais em resposta aos diferentes isolados pode estar relacionada com a produção de reguladores de crescimento, enzimas ou metabólitos especiais que varia entre as cepas de uma mesma espécie (SHARMA et al., 2022).

A atividade antioxidante não pode ser deduzida apenas em função da concentração de compostos fenólicos, uma vez que a estrutura dos compostos afeta a atividade, contudo geralmente observa-se uma relação entre a quantidade de compostos fenólicos e atividade antioxidante (ALVES et al., 2017; BELHAOUES, AMRI e BENSOUILAH, 2020). As melhores alternativas para os antioxidantes sintéticos são os extratos de plantas (KHAN et al., 2019) e a *Salvia officinalis* tem potencial para ser utilizada como agente antioxidante principalmente quando inoculada com *Trichoderma harzianum* TCS 87.

Vosoughi et al. (2018) encontraram 0,25 mg EAG/g de compostos fenólicos em *Salvia officinalis*. Dammak et al. (2019) relataram que o óleo essencial de *Salvia officinalis* possui 14,88 mg EAG/g de fenólicos totais, que possivelmente são responsáveis pelas propriedades antioxidantes do óleo essencial (BAKKALI et al., 2008).

O rendimento de óleo essencial encontrado no tratamento testemunha foi de 0,62%. Nas plantas inoculadas com os isolados TCS 87, TCS 29 e TCS 85 foi de 0,58%, 0,73% e 0,90%, respectivamente. A partir de uma análise qualitativa podemos inferir que a inoculação com o isolado TCS 85 proporcionou o maior rendimento de óleo essencial nas plantas de *Salvia officinalis*, enquanto que a maior concentração de compostos fenólicos foi observado nas plantas

inoculadas com o TCS 87. Possivelmente porque as rotas biossintéticas dos terpenos e dos compostos fenólicos são distintas (BAKKALI et al., 2008).

O rendimento de óleo essencial encontrado neste estudo foi menor do que o apresentado por Dammak et al. (2019) que relataram um rendimento de 1,36% do óleo essencial de *Salvia officinalis*. Wei et al. (2018) encontraram 0,856% de rendimento de óleo essencial de *Salvia officinalis*, utilizando 100 g de massa seca, enquanto neste trabalho utilizou-se 50 g. Essa diferença encontrada na literatura pode estar relacionada com as condições ambientais de cultivo como temperatura, umidade, características do solo, bem como a idade da espécie em estudo.

O rendimento do óleo essencial de *Salvia officinalis* não se diferiu em função da inoculação com dois fungos micorrizicos, em que observou-se 1,06% para o tratamento controle e 1,23% e 0,88% para plantas inoculadas com Symbivit® e *Septoglomus viscosum*, respectivamente, contudo foi observado alteração na composição química do óleo essencial em resposta a inoculação com os fungos (TARRAF et al., 2017). Samani et al. (2019) também não encontraram diferenças significativas no rendimento do óleo essencial de *Salvia officinalis* em função do uso de biofertilizantes. Plantas de *Mentha arvensis* inoculadas com *Trichoderma harzianum* associado a *Brevibacterium halotolerans* obtiveram um rendimento de óleo 42% superior quando comparado aos demais tratamentos. E quando inoculadas somente com *Trichoderma* também aumentaram significativamente o rendimento do óleo (SINGH et al., 2019).

O aumento na produção de metabólitos especiais em resposta a inoculação com os microrganismos pode ser resultado da defesa bioquímica que as plantas possuem quando são submetidas a condições adversas, tais como, presença de microrganismos ou mudanças climáticas, isto é, microrganismos presentes no solo como as bactérias fixadoras de nitrogênio ou *Trichodermas* podem estimular o sistema de defesa vegetal ativando a resistência sistêmica induzida, protegendo-a de ataques futuros de microrganismos patogênicos (KUBALT, 2016; TAIZ et al., 2017).

Conclusão

Os isolados de *Trichoderma asperellum* TCS 87 e TCS 85 têm potencial para uso como biofertilizante no cultivo de *Salvia officinalis* por aumentar o rendimento de massa seca e dos compostos fenólicos. Estudos futuros devem avaliar a viabilidade de produção de um mix com TCS 87 e TCS 85 para ser inoculados em diferentes espécies de plantas medicinais.

Referências

- Al-Mijalli, S. H., Assaggaf, H., Qasem, A., El-Shemi, A. G., Abdallah, E. M., Mrabti, H. N., & Bouyahya, A. Antioxidant, Antidiabetic, and Antibacterial Potentials and Chemical Composition of *Salvia officinalis* and *Mentha suaveolens* Grown Wild in Morocco. **Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences**, v. 2022, 2022.
- ABREU, C. B., DE SOUZA, M. O., MIRANDA, F. M., DOS SANTOS RODRIGUES, T. G., & DE SOUZA DIAS, F. Growth and Evaluation of Phenolic Compounds in *Physalis angulata* L. at Two Different Periods in the Bahia Reconcavo, Brazil. **Journal of Agricultural Science**, v. 9, n. 10, 2017.
- ADRAR, N.; OUKIL, N.; BEDJOU, F. Antioxidant and antibacterial activities of *Thymus numidicus* and *Salvia officinalis* essential oils alone or in combination. **Industrial Crops and Products**, v. 88, p. 112-119, 2016.
- ALVES, S. C. O., COSTA, D. B. V., CAZARIN, C. B. B., JÚNIOR, M. R. M., FERREIRA, J. P. B., SILVA, A. B., PRADO, M. A., BRONZE, M. R. Characterization of phenolic compounds in chia (*Salvia hispanica* L.) seeds, fiber flour and oil. **Food chemistry**, n. 232, p. 295-305, 2017.
- BADER, A. N., SALERNO, G. L., COVACEVICH, F., CONSOLO, V. F. Native *Trichoderma harzianum* strains from Argentina produce indole-3 acetic acid and phosphorus solubilization, promote growth and control wilt disease on tomato (*Solanum lycopersicum* L.). **Journal of King Saud University-Science**, v. 32, n.1, p. 867-873, 2019.
- 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.
- BELHAOUES, S., AMRI, S., BENSOUILAH, M. Major phenolic compounds, antioxidant and antibacterial activities of *Anthemis praecox* Link aerial parts. **South African Journal of Botany**, v. 131, p. 200-205, 2020.

ČABARKAPA, I., PUVAČA, N., POPOVIĆ, S., ČOLOVIĆ, D., KOSTADINOVIĆ, L., TATHAM, E. K., LEVIĆ, J. Aromatic plants and their extracts pharmacokinetics and in vitro/in vivo mechanisms of action. In *Feed Additives*. **Academic Press**, p. 75-88, 2020.

CHEPSEKON, J.; MWAMBURI, L.; KASSIM, M. K. Mechanism of drought tolerance in plants using *Trichoderma* spp. **International Journal Science and Research**, v. 3, p. 1592-1595, 2014.

CONTE, E. D., DAL MAGRO, T., DAL BEM, L. C., DALMINA, J. C., MATTÉ, J. A., SCHENKEL, V. O., SCHWAMBACH, J. Use of *Trichoderma* spp. in no-tillage system: effect on soil and soybean crop. **Biological Control**, v. 171, p. 104941, 2022.

CORREIA, D. B., CORREIA, D. B., VERÇOSA, C. J., FIGUEROA, M. E. V., DE OLIVEIRA, J. P. C., DOS SANTOS, A. F., FERNANDES, N. S.; VITOR, L. N. A.; PEREIRA, F. D.; BARROS, J. E. L.; BENTO, E. B.; SILVA, M. G.; PEREIRA, G. G.; DE LIMA, C. L. B. Óleos essenciais de espécies Lamiaceae com potencial atividade Anti-fúngica: uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 2, 2022.

DAMMAK, I., HAMDY, Z., EL EUCH, S. K., ZEMNI, H., MLIKI, A., HASSOUNA, M., LASRAM, S. Evaluation of antifungal and anti-ochratoxigenic activities of *Salvia officinalis*, *Lavandula dentata* and *Laurus nobilis* essential oils and a major monoterpene constituent 1, 8-cineole against *Aspergillus carbonarius*. **Industrial crops and products**, v. 128, p. 85-93, 2019.

DURLING, N. E., CATCHPOLE, O. J., GREY, J. B., WEBBY, R. F., MITCHELL, K. A., FOO, L. Y., PERRY, N. B. Extraction of phenolics and essential oil from dried sage (*Salvia officinalis*) using ethanol–water mixtures. **Food chemistry**, v. 101, n. 4, p. 1417-1424, 2007.

FARHAT, M. B., LANDOULSI, A., CHAOUCH-HAMADA, R., SOTOMAYOR, J. A., JORDÁN, M. J. Characterization and quantification of phenolic compounds and antioxidant properties of *Salvia* species growing in different habitats. **Industrial Crops and Products**, v. 49, p. 904-914, 2013.

GHAEDI, M., NAGHIHA, R., JANNESAR, R., MIRTAMIZDOUST, B. Antibacterial and antifungal activity of flower extracts of *Urtica dioica*, *Chamaemelum nobile* and *Salvia officinalis*: Effects of Zn [OH] 2 nanoparticles and Hp-2-minh on their property. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 32, p. 353-359, 2015.

ESFANJANI, A. F., ASSADPOUR, E., JAFARI, S. M. Improving the bioavailability of phenolic compounds by loading them within lipid-based nanocarriers. **Trends in Food Science & Technology**, v. 76, p. 56-66, 2018.

HASSIOTIS, C. N. The role of aromatic *Salvia officinalis* L. on the development of two mycorrhizal fungi. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 77, p. 61-67, 2018.

HMAIED, M., BOUAFIF, H., MAGDOULI, S., BRAGHIROLI, F. L., KOUBAA, A. Effect of Forest Biomass Pretreatment on Essential Oil Yield and Properties. **Forests**, v. 10, n. 11, p. 1042, 2019.

IMANE, N. I., FOUZIA, H., AHMED, E., ISMAIL, G., IDRISSE, D., MOHAMED, K. H., SIRINE, F., L'HOUCINE O., NOUREDDINE, B. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of some essential oils against multidrug resistant bacteria. **European Journal of Integrative Medicine**, v. 35, 2020.

KHAN, M. R.; MOHIDDIN, F. A. Trichoderma: its multifarious utility in crop improvement. In: **Crop Improvement Through Microbial Biotechnology**. Elsevier, p. 263-291, 2018.

KHIYA, Z., HAYANI, M., GAMAR, A., KHARCHOUF, S., AMINE, S., BERREKHIS, F., BOUZOUBAE, A., ZAIR, T., EL HILALI, F. Valorization of the *Salvia officinalis* L. of the Morocco bioactive extracts: Phytochemistry, antioxidant activity and corrosion inhibition. **Journal of King Saud University-Science**, v. 31, n. 3, p. 322-335, 2019.

KUBALT, K. The role of phenolic compounds in plant resistance. *Biotechnol Food Sci*, v. 80, n. 2, p. 97-108, 2016.

LI, L., WEI, S., ZHU, T., XUE, G., XU, D., WANG, W., WANG, X., LUO, K., KONG, L. Anti-inflammatory norabietane diterpenoids from the leaves of *Salvia officinalis* L. **Journal of functional foods**, v. 54, p. 154-163, 2019.

MACHADO, D. F. M., TAVARES, A. P., LOPES, S. J., SILVA, A. C. F. Trichoderma spp. na emergência e crescimento de mudas de camará (*Gochnatia polymorpha* (Less.) Cabrera). **Revista Árvore**, v. 39, n. 1, 2015.

MARTINS, N., BARROS, L., FERREIRA, I. C. In vivo antioxidant activity of phenolic compounds: Facts and gaps. **Trends in Food Science & Technology**, v. 48, p. 1-12, 2016.

MORANDI, M. A. B., BETTIOL, W. Controle biológico de doenças de plantas no Brasil. **Embrapa Meio Ambiente-Capítulo em livro científico (ALICE)**, 2009.

MOREIRA, G. C., DIAS, F. S. Mixture design and Doehlert matrix for optimization of the ultrasonic assisted extraction of caffeic acid, rutin, catechin and trans-cinnamic acid in *Physalis angulata* L. and determination by HPLC DAD. **Microchemical Journal**, v. 141, p. 247-252, 2018.

MOREIRA, G. C.; ANJOS, G. L.; FERREIRA, P. M.; SILVA, J. J.; JESUS, R. S.; SILVA, F.; DIAS, F. S. Uso de matéria orgânica na síntese de pigmentos fotossintéticos e crescimento de *Salvia officinalis* inoculadas com diferentes

isolados de *Trichoderma* spp.. In: Carla da Silva Sousa, Francisco de Sousa Lima, Sayonara Cotrim Sabioni. (Org.). **Agroecologia Métodos e Técnicas para uma Agricultura Sustentável**. 1ed.; p. 329-339, 2021.

PANDEY, A. K., KUMAR, P., SAXENA, M. J., MAURYA, P. Distribution of aromatic plants in the world and their properties. In **Feed Additives**. Academic Press, p. 89-114, 2020

SAMANI, M. R., PIRBALOUTI, A. G., MOATTAR, F., GOLPARVAR, A. R. L-Phenylalanine and bio-fertilizers interaction effects on growth, yield and chemical compositions and content of essential oil from the sage (*Salvia officinalis* L.) leaves. **Industrial Crops and Products**, v. 137, p. 1-8, 2019.

SHARMA, A.; SALWAN, R.; SHARMA, V. Extracellular proteins of *Trichoderma* and their role in plant health. **South African Journal of Botany**, v. 147, p. 359-369, 2022.

ŞIRIN, E.; ERTÜRK, Y.; KAZANKAYA, A. Effects of PGPR, AMF and *Trichoderma* Applications on Adaptation Abilities to Different Biotic and Abiotic Conditions in Medicinal and Aromatic Plants. **Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology**, v. 10, n. 2, p. 166-173, 2022.

RUSSO, A., FORMISANO, C., RIGANO, D., SENATORE, F., DELFINE, S., CARDILE, V., ROSSELI, S., BRUNO, M. Chemical composition and anticancer activity of essential oils of Mediterranean sage (*Salvia officinalis* L.) grown in different environmental conditions. **Food and Chemical Toxicology**, v. 55, p. 42-47, 2013.

TARRAF, W., RUTA, C., TAGARELLI, A., DE CILLIS, F., DE MASTRO, G. Influence of arbuscular mycorrhizae on plant growth, essential oil production and phosphorus uptake of *Salvia officinalis* L. **Industrial crops and products**, v. 102, p. 144-153, 2017.

TAIZ, L. et al. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Porto Alegre: Ardmmed, 6 ed. 2017. 858 p.

VOSOUGHI, N., GOMARIAN, M., PIRBALOUTI, A. G., KHAGHANI, S., MALEKPOOR, F. Essential oil composition and total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activity of sage (*Salvia officinalis* L.) extract under chitosan application and irrigation frequencies. **Industrial Crops and Products**, v. 117, p. 366-374, 2018.

WEI, Z. F., ZHAO, R. N., DONG, L. J., ZHAO, X. Y., SU, J. X., ZHAO, M., LI, L., BIAN, Y. J., ZHANG, L. J. Dual-cooled solvent-free microwave extraction of *Salvia officinalis* L. essential oil and evaluation of its antimicrobial activity. **Industrial Crops and Products**, v. 120, p. 71-76, 2018.

ZHANG, F., WANG, Y., LIU, C., CHEN, F., GE, H., TIAN, F., YANG, T., MA, K., ZHANG, Y. *Trichoderma harzianum* mitigates salt stress in cucumber via multiple responses. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 170, p. 436-445, 2019.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A composição fitoquímica da *Salvia officinalis* já está bem elucidada na literatura. Técnicas de manejo como o uso de reguladores de crescimento e microrganismos benéficos, como os *Trichodermas* spp., podem favorecer a germinação de sementes, o estabelecimento das mudas e estimular o crescimento e desenvolvimento vegetal. Além disso, atuam como elicitores, isto é, ativam a resistência sistêmica adquirida das plantas, aumentando a produção de importantes metabólitos especiais.

O uso de *Trichodermas* spp. pode aumentar a produtividade vegetal e controlar patógenos. Além de não ter o custo elevado, quando comparado com a adubação química, pode ser utilizado por produtores da cadeia orgânica. O principal entrave ainda é a dificuldade de encontrar produtos adaptados às condições locais.

O óleo essencial e extrato da *Salvia officinalis* possuem atividade antimicrobiana, antioxidante e anti-inflamatória, por isso podem ser utilizados na produção de fármacos, como ingredientes alimentares substituindo os antioxidantes sintéticos, cosméticos e biopesticidas. Contudo, apesar de ser comum os estudos sobre a composição fitoquímica e testes *in vitro* com a *Salvia officinalis*, é importante que mais estudos *in vivo* sejam conduzidos para verificar a viabilidade do uso desta planta em larga escala.