



## **II COLÓQUIO NACIONAL DE PLANTAS AROMÁTICAS E MEDICINAIS**

Vila das Caldas do Gerês  
Terras de Bouro  
28 e 29 de Setembro de 2007

**Actas**

## Caracterização do óleo essencial e actividade *in vitro* de extractos de *Phlomis purpurea* contra *Phytophthora cinnamomi*

Dina Neves<sup>1</sup>, Paula Caetano<sup>2</sup>, Marília Horta<sup>2</sup>, Nelson Sousa<sup>2</sup>, Lúdia Dionísio<sup>2</sup>, Naresh Magan<sup>3</sup>, M. Graça Miguel<sup>2</sup>, A. Cristina Figueiredo<sup>4</sup>, José G. Barroso<sup>4</sup>, Luís G. Pedro<sup>4</sup> e Alfredo Cravador<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade do Algarve, Instituto Transfronteiriço Universitário para a Ciência, a Cultura e o Ambiente (ITUCCA), Campus de Gambelas, 8005-139 Faro, Portugal, dneves@ualg.pt

<sup>2</sup>Universidade do Algarve, Faculdade de Engenharia dos Recursos Naturais, Campus de Gambelas, 8005-139 Faro, Portugal

<sup>3</sup>Institute of Biosciences and Technology, Cranfield University, Silsoe, Bedford, MK45 4DT, UK

<sup>4</sup>Universidade de Lisboa, Faculdade de Ciências de Lisboa, DBV, Centro de Biotecnologia Vegetal, C2, Campo Grande, 1749-016 Lisboa, Portugal

### Resumo

*Phytophthora cinnamomi* é um oomiceta do solo que parasita as raízes de mais de 3000 espécies de plantas e está associado ao declínio de *Quercus suber* (sobreiro) e de *Q. ilex* subsp. *rotundifolia* (azinheira). Dada a importância económica, social e cultural que os povoamentos de sobreiro e azinheira representam para Portugal torna-se imperativo tomar medidas rápidas e eficazes para controlar este agente patogénico. Várias espécies de plantas arbustivas e subarbustivas típicas da flora mediterrânica estão presentes nos montados, sendo a maioria hospedeiras de *P. cinnamomi*. Contudo, existem plantas de onde não foi possível isolar este oomiceta, como é o caso de *Phlomis purpurea* L. (mariola) pertencente à família Lamiaceae (Labiatae). Os óleos essenciais de *P. purpurea* foram isolados, a partir da parte aérea, por hidrodestilação e a sua análise foi realizada por CG e por CG-EM. Os hidrocarbonetos monoterpénicos e sesquiterpénicos constituíram a fracção dominante (40% e 39%, respectivamente) dos óleos essenciais isolados, sendo o  $\alpha$ -pineno (34%) e o germacreno-D (12%), respectivamente, os constituintes maioritários de cada uma destas fracções. Prepararam-se extractos etanólicos da parte aérea e das raízes e foi testada, *in vitro*, a sua actividade anti-*P. cinnamomi*. O extracto mais eficaz foi o isolado a partir das raízes e a inibição máxima de crescimento de micélio foi de 78% com uma concentração de extracto de 1mg/ml.

**Palavras chave:** Mariola, Óleo essencial, Sobreiro, *Phytophthora cinnamomi*, Controlo do patógeno

### Abstract

Title: Essential oil characterisation and *in vitro* activity of the extracts of *Phlomis purpurea* against *Phytophthora cinnamomi*

*Phytophthora cinnamomi* is a soil oomycete that parasites the roots of more than 3000 plant species and is involved in the decline disease of *Quercus suber* (cork oak) and *Q. ilex* subsp. *rotundifolia* (holm oak). Due to the economical, social and cultural

value of cork and holm oak stands it is imperative to find efficient control measures to control this pathogen as soon as possible. Several Mediterranean plant species are present in the *montado*, most of them are hosts for *P. cinnamomi*. However there are plants from where it was not possible to isolate this root pathogen, as the case of *Phlomis purpurea* L (purple phlomis), a member of the Lamiaceae (Labiatae). *Phlomis purpurea* essential oil was isolated by hydrodistillation and the analysis performed in a GC and GC-MS. The monoterpene and sesquiterpene hydrocarbons constituted the main fraction (40% and 39%, respectively) from the isolated essential oils, being the 8-pinene (34%) and germacrene-D (12%), respectively, the major components of each fraction. Leaf and root ethanol extracts were prepared and their anti- *P. cinnamomi* activities was tested *in vitro*. The most efficient extract was isolated from the roots and the maximum mycelial growth inhibition was 78% at 1mg/ml.

**Keywords:** Purple phlomis, cork oak, *Phytophthora cinnamomi*, Control, GC-MS

## Introdução

O declínio do sobreiro e a morte massiva de árvores está a colocar em risco o sistema agro-silvo-pastoril denominado montado. Portugal é o maior produtor e exportador de cortiça (Gil, 1998, 2005). Foi demonstrado que *Phytophthora cinnamomi* está fortemente associado ao declínio do sobreiro e azinheira e que este agente patogénico infecta estas espécies (Brasier, 1992; Brasier et al., 1993; Tuset et al., 1996; Galego et al., 1999; Luque, 2000; Sánchez et al., 2002, 2003, 2005; Moreira, 2002; Rodríguez-Molina et al., 2002, 2005; Moreira et al., 2006; Caetano, 2007). Estudos epidemiológicos revelaram que *P. cinnamomi* está distribuído por todo o País sendo que o Algarve revelou a maior incidência (Moreira, 2002; Moreira et al., 2005). O controlo deste agente patogénico é muito difícil devido aos longos períodos de sobrevivência no solo sob a forma de clamidósporos (estruturas de resistência) e à vasta gama de hospedeiros. Nos últimos anos têm-se tornado evidente, como resultado de políticas ambientais e sensibilização pública, que são necessárias alternativas aos pesticidas sintéticos. Várias espécies de plantas arbustivas e subarbustivas típicas da flora mediterrânea estão presentes nos montados, sendo a maioria hospedeiras de *P. cinnamomi*. Contudo, existem plantas de onde não foi possível isolar este oomiceta, como é o caso de *Phlomis purpurea* (Moreira-Marcelino, 2001; Moreira & Martins, 2005).

Foram objectivos do presente estudo a identificação da composição química do óleo essencial isolado de *P. purpurea* e a avaliação da acção anti-*P. cinnamomi* dos extractos alcoólicos de raízes e folhas desta planta, com vista à sua potencial utilidade no controlo do patógeno.

## Material e Métodos

### Material Vegetal

O material vegetal utilizado nos ensaios foi colhido no habitat natural em Moncarapacho, Algarve.

### Extracção dos óleos essenciais

Os óleos essenciais foram obtidos por hidrodestilação de folhas e flores de

*P. purpurea*, durante 4h, num aparelho do tipo Clevenger (Anónimo, 1996). As amostras de óleo foram conservadas a 4°C até à realização das análises.

#### **Análises dos óleos essenciais**

**Cromatografia Gás-Líquido:** As análises de Cromatografia Gás-Líquido (CGL) foram efectuadas num cromatógrafo Perkin Elmer 8700 equipado com dois Detectores de Ionização de Chama (DIC), um sistema de tratamento de dados e um injector, no qual foram instaladas duas colunas de polaridade diferente: DB-1 de sílica fundida, de fase imobilizada de metilsilicone, (30mx0,25mm d.i., espessura de filme 0,258m; J & W Scientific Inc.) e DB-17HT de sílica fundida (30mx0,25mm d.i., espessura de filme 0,258m; J & W Scientific Inc.). A temperatura do forno foi programada de 45°C a 175°C, com incrementos de 3°C/min, e subsequentemente a 15°C/min até 300°C. Atingidos os 300°C a temperatura foi mantida isotérmica durante 10min. Temperatura do injector e dos detectores, 290°C e 280°C, respectivamente. O gás de arrastamento (H<sub>2</sub>) foi ajustado para uma velocidade linear de 30cm/s. A relação de repartição de fluxo foi de 1:50. A composição percentual dos óleos foi determinada pela integração das áreas dos picos sem utilização de factores de correcção. Os valores apresentados correspondem ao valor médio de duas injeções.

**Cromatografia Gás-Líquido-Espectrometria de Massa:** Nas análises de Cromatografia Gás-Líquido/Espectrometria de Massa (CGL/EM) utilizou-se um Autosystem XL equipado com uma coluna de sílica fundida DB-1 (30mx0,25mm d.i., espessura de filme 0,258m; J & W Scientific Inc.) ligado a um Perkin-Elmer Turbomass (versão de programa 4.1). A temperatura do forno foi programada de 45 a 175 °C, com incrementos de 3 °C/min, e subsequentemente a 15 °C/min até 300 °C. Atingidos os 300 °C a temperatura foi mantida isotérmica durante 10 min; temperatura da linha de transferência, 280 °C; temperatura da câmara de ionização, 220 °C; gás de arrastamento, hélio, ajustado para uma velocidade linear de 30cm/s; relação de repartição de fluxo, 1:40; energia de ionização, 70eV; corrente de ionização, 60µA; gama de massas, 40-300u; tempo de varrimento, 1s. A identidade dos compostos foi determinada por comparação dos seus índices de retenção, em relação aos dos *n*-alcanos C<sub>8</sub>-C<sub>24</sub> e espectros de massa, com os de padrões comerciais e compostos de referência presentes em óleos existentes no laboratório e por comparação com uma biblioteca de espectros de massa desenvolvida no laboratório.

#### **Extracção dos constituintes totais (extractos alcoólicos)**

Para este estudo foram utilizadas raízes, folhas e flores de *P. purpurea*. O protocolo de extracção foi adaptado de Carini et al. (2001). Raízes, por um lado, e folhas e flores, por outro, foram trituradas num triturador (Moulinex® 1,2,3). A 50g de folhas e flores trituradas foram adicionados 350ml de etanol a 70%, contendo 0,1% de ácido ascórbico para prevenir a oxidação. A suspensão foi agitada por 72h (Güllüce et al., 2004). O mesmo procedimento foi efectuado para as raízes, variando o tempo de agitação para 7 dias (Molina-Torres et al., 2004). O etanol foi separado por evaporação utilizando um evaporador rotativo com banho de água a 35°C. O extracto aquoso foi concentrado sob vácuo (Speed-vac) e pesado até atingir um peso constante. O extracto foi dissolvido em água e filtrado com um filtro de 0,45µm de nitrocelulose (Millipore®).

#### **Actividade anti-*Phytophthora cinnamomi* do extracto alcoólico de *Phlomis purpurea***

Na avaliação da actividade anti-*P. cinnamomi* foram utilizados dois isolamentos

de *P. cinnamomi* PA37 e PA45, isolados ambos da rizosfera de *Q. suber*, proveniente de Lagos em Maio de 1995 e S. Brás de Alportel em Maio de 2000, respectivamente. Os extractos da planta foram incorporados em meio de cultura “Potato dextrose agar” (PDA). Foi retirado um disco de micélio (5mm de diâmetro) de cada isolamento de uma colónia em crescimento activo e inoculado no centro da placa contendo PDA suplementado com o extracto de folhas e extracto de raízes nas concentrações de 1,0; 5,0; 10,0 e 1,0; 5,0mg/ml, respectivamente. As placas controlo receberam a mesma quantidade de PDA e a quantidade correspondente de solvente (água). As placas foram seladas com “Parafilm®”, colocadas em sacos de plástico e incubadas no escuro a 24°C. O comprimento e largura das colónias foram medidos diariamente até as colónias atingirem o bordo da placa (cerca de 10 dias). Os ensaios foram realizados em triplicado e repetidos 3 vezes. A percentagem de inibição de cada extracto foi calculada subtraindo o tamanho do disco de micélio inoculado (5 mm) ao diâmetro da colónia, através da equação: % inibição = 100 [(Ut-Tr)/Ut], onde, Ut = média do controlo e Tr = média do meio suplementado com os extractos (Mekuria, 2005).

### **Análise dos resultados**

A análise dos resultados obtidos foi efectuada utilizando-se o *software* “Statistix for windows, version 7”. A variável dependente foi a inibição máxima de crescimento. As variáveis independentes foram os isolamentos, extractos, concentrações e replicados. A comparação de médias foram realizadas utilizando o teste LSD de Fisher (“Fisher’s protected least significant difference”) (Steel & Torrie, 1985).

## **Resultados**

### **Rendimento e composição do óleo essencial**

O óleo essencial de *P. purpurea* apresenta uma coloração amarelada e foi isolado com rendimentos muito baixos (0.0004%, v/p.f.). Neste óleo essencial foram identificados 47 componentes, totalizando uma percentagem de 90%, Quadro 1. Os componentes identificados, bem como as suas percentagens relativas, encontram-se listados no Quadro 1, por ordem de eluição numa coluna DB-1.

Os hidrocarbonetos monoterpénicos e sesquiterpénicos constituíram, em concentrações relativas aproximadas (40% e 39%, respectivamente), as fracções dominantes dos óleos essenciais isolados. O  $\alpha$ -pineno (34%) e o germacreno-D (12%) foram os constituintes maioritários de cada uma destas fracções e também os componentes dominantes deste óleo.

### **Actividade anti-*Phytophthora cinnamomi* do extracto alcoólico de *Phlomis purpurea***

A comparação da actividade anti-*P. cinnamomi* dos extractos etanólicos de raízes e de folhas de *P. purpurea* está contemplada na Figura 1. Os extractos das raízes de

*P. purpurea* apresentaram uma inibição deste agente fitopatogénico significativamente superior ao extracto de folhas, Quadro 2. Os extractos etanólicos de raízes de *P. purpurea* provocaram uma inibição máxima de crescimento de micélio de *P. cinnamomi* a 1 e 5mg/ml de 78,3% e 93,1%, respectivamente, Quadro 3. Os isolamentos PA37 e PA45 apresentaram uma susceptibilidade significativamente diferente em relação ao extracto de raízes *P. purpurea*, Quadro 3. O isolamento PA45 revelou maior susceptibilidade que o PA37.

## Discussão

Tanto quanto nos é dado saber, este é o primeiro estudo sobre o óleo essencial de *Phlomis purpurea*, sendo o óleo dominado por  $\alpha$ -pineno (34%) e germacreno-D (12%). Os estudos existentes sobre a composição do óleo essencial de outras espécies do género *Phlomis* mostraram alguma variabilidade química (Couladis et al., 2000; Ristić et al., 2000; Tsitsimi et al., 2000; Demirci et al., 2003; Morteza-Semnani et al., 2004; Celik et al., 2005; Sarkhail et al., 2005; Khalilzadeh et al., 2005; Sarkhail et al., 2006). Tal como no presente estudo, *P. anisodonta*, *P. bruguieri* e *P. lanceolata* (Sarkhail et al. 2005), *P. fruticosa* (Tsitsimi et al. 2000), *P. grandiflora* (Celik et al. 2005), *P. herba-venti* (Morteza-Semnani et al., 2004), *P. linearis* (Demirci et al. 2003), *P. olivieri* (Mirza & Nick, 2003, Khalilzadeh et al. 2005, Sarkhail et al. 2006) e *P. persica* (Khalilzadeh et al. 2005) mostraram também germacreno-D (26-66%) como componente dominante ( $\geq 10\%$ ) dos seus óleos essenciais. O 8-pineno ocorreu nos óleos destas espécies em concentrações relativas muito variáveis, desde não detectado em *P. linearis* (Demirci et al. 2003), vestigial em *P. bruguieri* (Sarkhail et al. 2005) a 57% em *P. fruticosa* (Ristić et al., 2000). O estudo do óleo essencial de *P. lychnitis*, comercializado em Portugal como “salva-brava”, mostrou óleos de coloração alaranjada, isolados com rendimentos entre 0,007% e 0,16% (v/p.s.), e tendo como componente dominante o  $\alpha$ -pineno, numa concentração relativa de 16-32%, dependendo do período de destilação (Simões, 2006). O baixo rendimento em óleo, que é, em regra, característico das espécies deste género, não permitiu a avaliação da actividade anti-*P. cinnamomi*, do óleo essencial de *P. purpurea*.

No meio de cultura suplementado com os extractos etanólicos de *P. purpurea* verificou-se uma redução no diâmetro da colónia devido provavelmente ao efeito tóxico do extracto sobre *P. cinnamomi*. Este método, embora seja o mais utilizado, pode não ser o mais adequado, pois não tem em conta a densidade da colónia. Um método alternativo poderá ser a cultura em meio líquido seguida da determinação do peso seco do micélio. Esta planta é muito rica em saponinas que são compostos glicosídicos caracterizados pela sua propriedade detergente. Muitas saponinas são reconhecidas pela sua capacidade para hemolisar os eritrócitos (Hostettmann et al., 1991). A função das saponinas nas plantas é considerada como idêntica à das fitoanticipinas, um grupo de compostos com propriedades de defesa constitutiva ou pré-infeccional, ou à das fitoalexinas, um grupo de compostos com propriedades de defesa pós-infeccional (Hammerschmidt, 1999). As saponinas presentes nas raízes de *Avena sativa* (aveia) são responsáveis pela sua resistência ao fungo *Gaeumannomyces graminis* (Hostettmann et al., 1991). No entanto, as folhas de *P. purpurea* que também são ricas em saponinas não apresentaram actividade anti-*P. cinnamomi*, o que leva a crer que outros compostos podem estar na origem na inibição do micélio, por parte das raízes. Este oomiceta contém poucos esteróis na membrana (Kamoun, 1999), que são o alvo das saponinas (Osbourn, 1996). Kamoun (1999) mostrou que os oomicetas não são afectados pelas saponinas. Está em curso a análise por cromatografia líquida - espectrometria de massa do extracto de *P. purpurea* com vista a determinar qual o composto responsável pela actividade anti-*P. cinnamomi*.

## Referências

- Anónimo 1996. European Pharmacopea, 3<sup>rd</sup> edn. Strasbourg, Council of Europe, pp.121-122.
- Brasier, C. 1992. Oak tree mortality in Ibéria. Nature 360, 539.

- Brasier, C., Robredo, F. & Ferraz, J. 1993. Evidence for *Phytophthora cinnamomi* involvement in Iberian oak decline. *Plant Path.* 42, 140-145.
- Caetano, P. 2007. Envolvimento de *Phytophthora cinnamomi* no declínio de *Quercus suber* e *Q. rotundifolia*: Estudo da influencia de factores bióticos e abióticos na progressão da doença. Possibilidades de controlo químico do declínio. Tese de doutoramento. Universidade do Algarve.
- Carini, M., Aldini, G., Furlanetto, S., Stefani, R. & Facino, R. 2001. LC coupled to ion-trap MS for the rapid screening and detection of polyphenol antioxidants from *Helichrysum stoechas*. *J. Pharm. Biom. Anal.* 24, 517-526.
- Celik, S., Gokturk, R. S., Flamini, G., Cioni, P. L., Morelli, I. 2005. Essential oils of *Phlomis leucophracta*, *Phlomis chimerae* and *Phlomis grandiflora* var. *grandiflora* from Turkey, *Biochemical Systematics and Ecology* 33, 617-623.
- Couladis M., Tanimanidis, A., Tzakou, O., Chinou, I. B., Harvala, C. 2000. Essential oil of *Phlomis lanata* growing in Greece: chemical composition and antimicrobial activity, *Planta med.* 66, 670-672.
- Demirci, B., Ddandi, M. Y., Paper, D. H., Franz, G., Baser, K. H. C. 2003. Chemical composition of the essential oil of *Phlomis linearis* Boiss. & Bal., and biological effects on the CAM-Assay: a safety evaluation, *Z. Naturforsch.* 58c, 826-829.
- Galego, F., Perez-de-Algaba, A. & Fernandez-Escobar, R. 1999. Etiology of oak decline in Spain. *Eur. J. Forest Path.* 29, 17-27.
- Gil, L. 1998. Cortiça: Produção, Tecnologia e Aplicação. INETI. Lisboa, Portugal
- Gil, L. 2005. Cortiça: da produção à aplicação. Câmara Municipal do Seixal. Seixal, Portugal
- Güllüce, M., Adiguzel, A., Ogutcu, H., Sengul, M., Karaman, I. & Sahin, F. 2004. Antimicrobial effects of *Quercus ilex* L. extract. *Phytoth. Res.* 18, 208-211.
- Hammerschmidt, R. 1999. Phytoalexins: What have you learned after 60 years? *Ann. Rev. Phytopath.* 37, 285-306.
- Hostettman, K., Hostettman, M. & Marston, A. 1991. Saponins. In: Dey, P., Harborne, J. & Banthorpe, D. (eds.), *Methods in plant biochemistry*. Academic press. London. pp. 435-471.
- Khalilzadeh, M. A., Rustaiyan A., Masoudi, S., Tajbakhsh, M. 2005. Essential oils of *Phlomis persica* Boiss. and *Phlomis olivieri* Benth. from Iran, *J. Essent. Oil Res.* 17: 624-625.
- Kamoun, S., Huitema, E. & Vleeshouwers, V. 1999. Resistance to oomycetes: a general role for the hypersensitive response? *Trends Plant Sci.* 4, 196-200.
- Luque, J., Parladé, J. & Pera, J. 2000. Pathogenicity of fungi isolated from *Quercus suber* in Catalonia (NE Spain). *Forest Path.* 30, 247-263.
- Mekuria, T., Steiner, U., Hindorf, H., Frahm, J.-P. & Dehne, H.-W. 2005. Bioactivity of bryophyte extracts against *Botrytis cinera*, *Alternaria solani* and *Phytophthora infestans*. *J. Applied Botany Food Qual.* 79, 89-93.
- Mirza, M. & Nik, Z. 2003. Volatile constituents of *Phlomis olivieri* Benth. from Iran. *Volatile Oils of Phlomis olivieri*. *Flavour and Fragr. J.* 18, 131-132.
- Molina-Torres, J., Salazar-Cabrera, C.J., Armenta-Salinas, C. & Ramírez-Chávez, E. 2004. Fungistatic and bacteriostatic activities of alkamides from *Heliopsis longipes* roots: Affinin and reduced amides. *J. Agric. Food Chem.* 52, 4700-4704.
- Moreira-Marcelino, A. 2001. Aspectos da interacção entre *Phytophthora cinnamomi* e a doença do declínio em *Quercus suber* e *Q. rotundifolia*. Tese de doutoramento. Universidade do Algarve.
- Moreira, A. 2002. Distribution of *Phytophthora cinnamomi* in cork oak stands in

- Portugal. Int. Prot. Oak Forests 25 (5), 41-48.
- Moreira, A. & Martins, J. 2005. Influence of site factors on the impact of *Phytophthora cinnamomi* in cork oak stands in Portugal. *Forest Path.* 35, 145-162.
- Moreira, A. C., Medeira, C., Maia, I., Quartin, V., Matos, M. C. & Cravador, A. 2006. Studies on the association of the *Quercus suber* decline disease with *Phytophthora cinnamomi* in Portugal. *Bol. Inf. CIDEU* 1, 31-38.
- Morteza-Semnani, K., Azadbakht, M. & Goodarzi, A. 2004. The essential oils composition of *Phlomis herba-venti* L. leaves and flowers of Iranian origin. *Flavour Fragr. J.* 19, 29-31.
- Osbourn, A. 1996. Preformed antimicrobial compounds and plant defense against fungal attack. *The plant cell* 8, 1821-1831.
- Ristić, M., Duletić-Laušević, S., Knežević-Vukčević, J., Marin, P., Simić, D., Vukojević, J., Janačković, J. & Vajs, V. 2000. Antimicrobial activity of essential oils and ethanol extract of *Phlomis fruticosa* L. (Lamiaceae). *Phytoh. Res.* 14, 267-271.
- Rodríguez-Molina, M.C., Blanco-Santos, A., Palo-Núñez, E.J., Torres-Vila, L.M., Torres-Álvarez, E. & Suárez-De-La-Cámara, M.A. 2005. Seasonal and spatial mortality patterns of holm oak seedlings in a reforested soil infected with *Phytophthora cinnamomi*. *Forest Path.* 35, 411-422.
- Rodríguez-Molina, M.C., Torres-Vila, L.M., Blanco-Santos, A., Palo-Núñez, E.J. & Torres-Álvarez, E. 2002. Viability of holm and cork oak seedlings from acorns sown in soils naturally infected with *Phytophthora cinnamomi*. *Forest Path.* 32, 365-372.
- Sánchez, M. E., Andicoberry, S. & Trapero, A. 2005. Pathogenicity of three *Phytophthora* spp. causing late seedling rot of *Quercus ilex* ssp. *Ballota*. *Forest Path.* 35, 115-125.
- Sánchez, M. E., Caetano, P., Ferraz, J. & Trapero, A. 2002. *Phytophthora* disease of *Quercus ilex* in south-western Spain. *Forest Path.* 32, 5-18.
- Sánchez, M. E., Sánchez, J.E., Navarro, R.M., Fernández, P. & Trapero, A. 2003. Incidência de la podredumbre radical causada por *Phytophthora cinnamomi* en masas de *Quercus* en Andalucía. *Bol. San.Vegetal, Plagas* 29, 87-108.
- Sarkhail, P., Amin, G., Surmaghi, M. H. S., Shafiee, A. 2005. Composition of the volatile oils of *Phlomis lanceolata* Boiss., *Phlomis anisodonta* Boiss and *Phlomis bruguieri* Desf. from Iran, *Flavour Fragr. J.* 20, 327-329.
- Sarkhail, P., Amin, G., Shafiee, A. 2006. Composition of the essential oil of *Phlomis olivieri* Benth. from North of Iran, *DARU* 14, 71-74.
- Simões, M. F. 2006. Os óleos essenciais de amostras comerciais de camomila (*Chamaemelum mixtum* e *C. fuscatum*) e de salva-brava (*Phlomis lychnitis*): Influência do tempo de destilação no rendimento e na composição química. Relatório do 2º ano de Bolsa de Investigação AGRO 800.
- Steel, R. & Torrie, J. 1985. *Bioestadística: principios y procedimientos*. McGraw-Hill. Bogotá, Colombia.
- Tsitsimi, E., Loukis, A., Verykokidou, E. 2000. Composition of the essential oil of the flowers of *Phlomis fruticosa* L. from Greece, *J. Essent. Oil Res.* 12, 355-356.



## Quadros e figuras

Quadro 1. Composição percentual dos óleos essenciais isolados por hidrodestilação das partes aéreas de *Phlomis purpurea*, colhidas em fase floral em Moncarapacho, Algarve

Componentes	IR <sup>a</sup>	<i>Phlomis purpurea</i>
$\alpha$ -Tujeno	924	0,9
$\alpha$ -Pineno	930	33,7
Sabineno	958	v
1-Octen-3-ol	960	0,6
$\beta$ -Pineno	963	0,6
Pentil furano	973	0,1
3-Octanol	974	0,3
Mirceno	975	0,3
$\alpha$ -Felandreno	995	v
<i>p</i> -Cimeno	1003	0,2
Limoneno	1009	2,0
<i>cis</i> - $\beta$ -Ocimeno	1017	2,2
<i>trans</i> - $\beta$ -Ocimeno	1027	0,2
<i>n</i> -Octanol	1045	0,1
<i>n</i> -Nonanal	1073	v
Linalol	1075	2,5
$\alpha$ -Canfolenal	1088	v
<i>allo</i> -Ocimeno	1110	0,2
<i>cis</i> -Verbenol	1110	0,2
Terpinen-4-ol	1148	v
$\alpha$ -Terpineol	1159	0,7
<i>n</i> -Decanal	1180	0,1
Citronelol	1210	0,4
Geraniol	1236	1,3
$\alpha$ -Cubebeno	1345	0,6
Ciclosativeno	1363	0,6
$\alpha$ -Copaeno	1375	3,6
$\beta$ -Bourboneno	1379	1,7
$\alpha$ -Bourboneno <sup>b</sup>	1379	v
$\beta$ -Elemeno	1388	1,0
$\alpha$ -Gurjuneno	1400	1,1
$\beta$ -Cariofileno	1414	8,7
$\beta$ -Copaeno	1426	0,5
$\gamma$ -Elemeno <sup>b</sup>	1430	0,7
<i>trans</i> - $\alpha$ -Bergamoteno	1434	0,3
$\alpha$ -Humuleno	1447	1,7
<i>allo</i> -Aromadendreno	1456	v
$\gamma$ -Muuroleno	1469	v
Germacreno-D	1474	11,8
<i>ar</i> -Curcumeno	1475	2,8
Viridifloreno	1487	0,5
$\alpha$ -Muuroleno	1494	0,5
<i>trans</i> - $\gamma$ -Bisaboleno	1501	1,1
$\delta$ -Cadineno	1505	2,1
Óxido de $\beta$ -Cariofileno	1561	1,7
$\alpha$ -Muurolol	1618	1,0
$\alpha$ -Cadinol	1626	1,4

**% de Identificação** 90,0

**Componentes agrupados**

Hidrocarbonetos monoterpênicos	40,3
Monoterpenos oxigenados	5,1
Hidrocarbonetos sesquiterpênicos	39,3
Sesquiterpenos oxigenados	4,1
Outros	1,2

<sup>a</sup> IR = Índice de retenção relativo a uma série de *n*-alcanos C<sub>9</sub>-C<sub>17</sub>, numa coluna DB-1.

<sup>b</sup> Identificação baseada apenas no espectro de massa. v = vestigial (<0.05 %).

Quadro 2. Percentagem de actividade (percentagem de inibição) anti-*Phytophthora cinnamomi* do extracto alcoólico de raízes e folhas de *Phlomis purpúrea*

Parte da planta	Média (%)*
Raízes	89,3 a
Folhas	19,8 b

\*Valores seguidos de letras diferentes são significativamente diferentes.

Quadro 3. Percentagem de actividade (percentagem de inibição) anti-*Phytophthora cinnamomi* do extracto alcoólico de raízes de *Phlomis* por concentração e por isolamentos

Concentração (mg/ml)	Média (%)*	Isolamentos	Média(%)*
5mg/ml	93,1 a	PA45	89.0 a
1mg/ml	78,3 b	PA37	82.4 b

\*Valores seguidos de letras iguais não são significativamente diferentes.

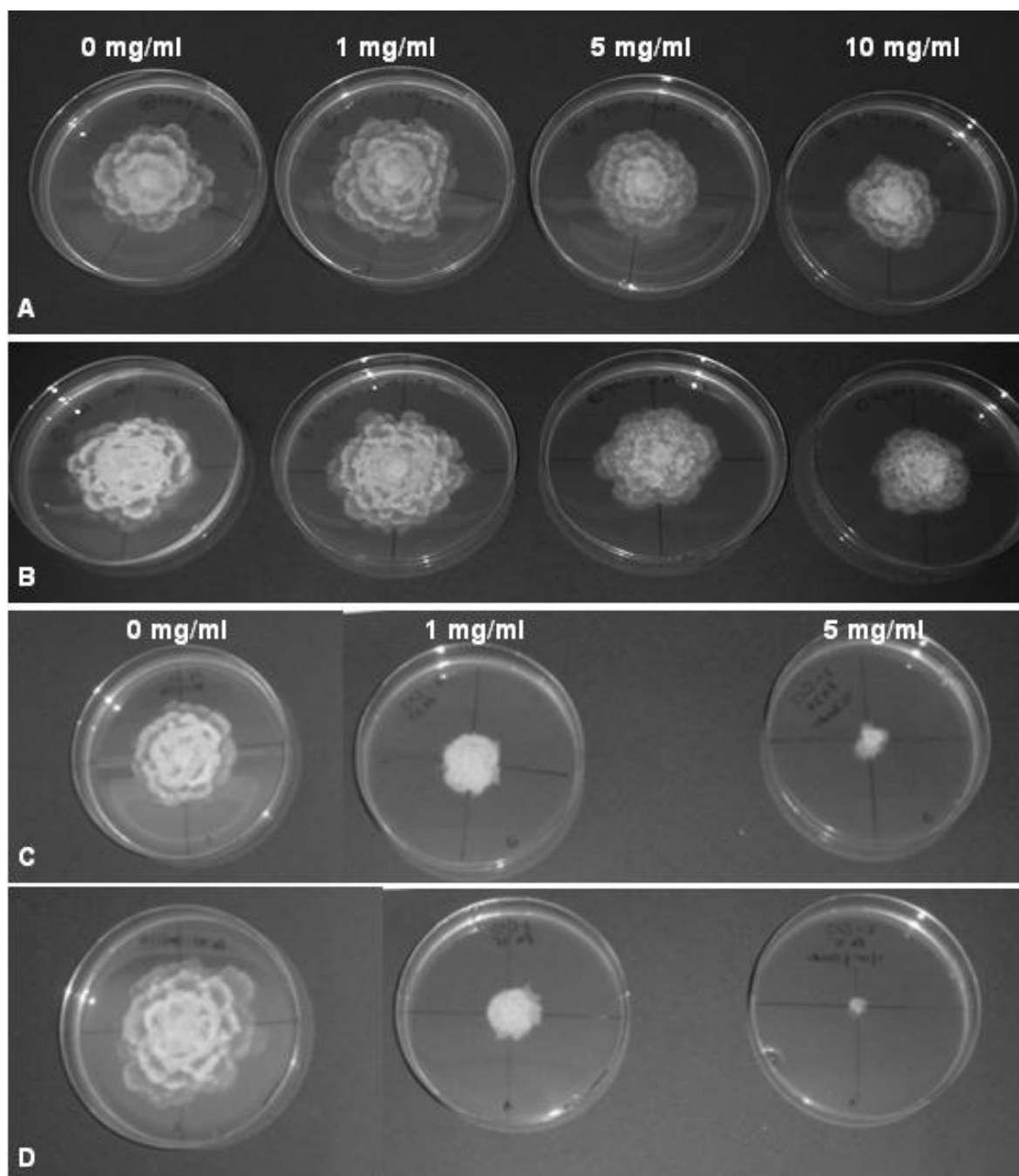


Figura 1. Crescimento de *Phytophthora cinnamomi* (A e C: isolamento PA37; B e D: isolamento PA45) em meio de cultura PDA, contendo 0-10mg/ml de extracto etanólico de folhas de *Phlomis purpurea* (A e B) e 0-5mg/ml de extracto de raízes de *P. purpurea* (C e D), depois de 5 dias.