



## **UNIVERSIDADE PARANAENSE – UNIPAR**

Recredenciada pela Portaria – MEC n.º 747, de 10/09/2020 – D.O.U. 11/09/2020

**Mantenedora: UNIPAR – SOCIEDADE EMPRESARIAL LTDA.**

**Coordenação de Pós-Graduação *Stricto Sensu* e Pesquisa**

**Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura**

**Heris Lorenzi dos Santos Perfeito**

**Elicitação de Metabólitos Secundários em *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don:**

**O Papel do Ácido Salicílico e da Melatonina**

**Umuarama  
2026**

**Heris Lorenzi dos Santos Perfeito**

**Elicitação de Metabólitos Secundários em *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don:**

O Papel do Ácido Salicílico e da Melatonina

Tese apresentada como parte das exigências para a obtenção do grau de doutor em Biotecnologia Aplicada à Agricultura pela Universidade Paranaense - UNIPAR.

Orientadora: Dra. Maiara Kawana  
Aparecida Rezende

Umuarama  
2026

### Ficha Catalográfica

P438e Perfeito, Heris Lorenzi dos Santos.

Elicitação de metabólitos secundários em *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don: o papel do ácido salicílico e da melatonina / Heris Lorenzi dos Santos Perfeito. – Umuarama : Universidade Paranaense - UNIPAR, 2026.  
52 f.

Orientadora: Dr<sup>a</sup>. Maiara Kawana Aparecida Rezende.  
Tese (Doutorado) – Universidade Paranaense - UNIPAR.

1. Reguladores vegetais. 2. Antioxidantes. 3. Óleo essencial.  
4. Biofortificação. 5. Sempre-viva. I. Universidade Paranaense - UNIPAR. II. Título.

(21 ed.) CDD: 583.99

Bibliotecária Responsável Regiane Luiza Campaneli CRB 9/2194

**Elicitação de Metabólitos Secundário em *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don:**

O Papel do Ácido Salicílico e da Melatonina

Tese aprovada como requisito obrigatório para obtenção do Grau de Doutor no Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura da Universidade Paranaense – UNIPAR, pela seguinte banca examinadora:

---

Dra. Maiara Kawana Aparecida Rezende  
Universidade Paranaense - UNIPAR

---

Dra. Suelen Pereira Ruiz Herrig  
Universidade Paranaense - UNIPAR

---

Dr. Odair Alberton  
Universidade Paranaense - UNIPAR

---

Dr. Marcelo Zolin Lorenzoni  
Universidade Estadual de Maringá - UEM

---

Dr. Murilo Fuentes Pelloso

Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul - UEMS

---

Dr. Silvia Graciele Hulse de Souza

Universidade Federal do Paraná - UFPR

Universidade Paranaense – UNIPAR

Umuarama, 2026

## AGRADECIMENTOS

A conclusão deste doutorado representa não apenas a realização de um projeto científico, mas também a materialização de um sonho construído com esforço, dedicação e, acima de tudo, com o apoio de pessoas que foram essenciais ao longo dessa jornada.

Agradeço primeiramente a Deus, por me conceder força, sabedoria e perseverança ao longo dessa caminhada.

Aos meus pais, Sandra e David, agradeço pelo amor incondicional, pelos valores transmitidos e pelo apoio constante em todos os momentos da minha vida acadêmica e pessoal.

Aos meus filhos, Anna Julia e Arthur, minha maior inspiração, agradeço pela doçura, carinho e compreensão diante das ausências impostas pelas exigências deste percurso.

Ao meu esposo, Rodrigo, registro meu sincero reconhecimento pela paciência, compreensão e parceria inabalável, fundamentais para a concretização deste trabalho.

À minha orientadora, Professora Maiara Kawana, sou profundamente grata pela orientação dedicada, pelo incentivo constante e pela confiança depositada em meu trabalho.

Por fim, deixo meu sincero agradecimento a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho. Cada gesto, cada palavra e cada ensinamento deixaram marcas profundas e valiosas em minha trajetória.

## SUMÁRIO

|                                                                                      |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| AGRADECIMENTOS .....                                                                 | 6         |
| RESUMO.....                                                                          | 9         |
| ABSTRACT .....                                                                       | 10        |
| <b>CAPÍTULO I - <i>Helichrysum italicum</i>: uma jornada botânica e metabólica -</b> |           |
| explorando elicitores e potencial em diferentes indústrias .....                     | 11        |
| Resumo. ....                                                                         | 11        |
| 1. Introdução. ....                                                                  | 12        |
| 2. Metodologia. ....                                                                 | 13        |
| 3. Desenvolvimento. ....                                                             | 14        |
| 3.1 <i>Helichrysum italicum</i> : taxonomia, descrição e usos tradicionais.....      | 14        |
| 3.2 Cultivo e domesticação da espécie.....                                           | 16        |
| 3.3 Metabólitos secundários.....                                                     | 18        |
| 3.4 Biossíntese de compostos fenólicos e terpenoides .....                           | 19        |
| 3.5 A fração volátil: O óleo essencial .....                                         | 21        |
| 3.6 A fração não volátil: O papel central do arzonol .....                           | 22        |
| 3.7 Otimização da produção de metabólitos via elicitação. ....                       | 23        |
| 3.8 Atividades farmacológicas .....                                                  | 24        |
| 3.9 Atividade antimicrobiana. ....                                                   | 25        |
| 3.10 Atividade inseticida.....                                                       | 26        |
| 3.11 Atividades inflamatórias .....                                                  | 26        |
| 3.12 Elicitores e aplicação no gênero <i>Helichrysum</i> .....                       | 27        |
| 4. Conclusão.....                                                                    | 28        |
| 5. Referências.....                                                                  | 30        |
| <b>CAPÍTULO II – Elicitores no crescimento e metabolismo secundários de</b>          |           |
| <b>osmarim (<i>Helichrysum italicum</i> G Don f.).....</b>                           | <b>34</b> |
| <b>Resumo.....</b>                                                                   | <b>34</b> |
| 1. Introdução. ....                                                                  | 35        |
| 2. Material e Métodos .....                                                          | 37        |
| 2.1 Material Vegetal .....                                                           | 37        |
| 2.2 Análises de Crescimento. ....                                                    | 38        |

|                                                       |           |
|-------------------------------------------------------|-----------|
| 2.3 Dano à Membrana Plasmática.....                   | 38        |
| 2.4 Teor Relativo de Água.....                        | 39        |
| 2.5 Avaliação morfológica condutância estomática..... | 39        |
| 2.6 Compostos Fenólicos Totais .....                  | 40        |
| <b>2.7 DPPH .....</b>                                 | <b>40</b> |
| 2.8 Extração do óleo essencial.....                   | 41        |
| 2.9 Análise estatística .....                         | 41        |
| 3. Resultados e Discussão. ....                       | 41        |
| 4. Conclusão.....                                     | 46        |
| 5. Referências.....                                   | 48        |
| AGRADECIMENTOS .....                                  | 53        |



## **Elicitação de Metabólitos Secundários em *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don:**

### **O Papel do Ácido Salicílico e da Melatonina**

#### **RESUMO**

O presente estudo investigou os efeitos fisiológicos, morfológicos e bioquímicos da aplicação exógena de ácido salicílico (AS) e melatonina (ME), isoladamente ou em combinação, em plantas de *Helichrysum italicum* cultivadas sob condições controladas. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, composto por quatro tratamentos (controle, AS, ME e AS+ME), com oito repetições biológicas, sendo os tratamentos aplicados via pulverização foliar. As plantas tratadas com AS receberam solução contendo 100 mg mL<sup>-1</sup> de ácido salicílico, enquanto o tratamento com ME recebeu 100 mg mL<sup>-1</sup> de melatonina. O tratamento combinado (AS+ME) consistiu na aplicação simultânea de 100 mg mL<sup>-1</sup> de cada composto. Os parâmetros avaliados incluíram crescimento, morfometria estomática, teor relativo de água (TRA), dano à membrana plasmática (DM), índice de clorofila, conteúdo de compostos fenólicos,  $\beta$ -caroteno, atividade antioxidante (DPPH) e rendimento do óleo essencial. O AS promoveu aumento significativo da biomassa da parte aérea, porém resultou em redução do crescimento radicular e elevação do estresse oxidativo. Por outro lado, a ME demonstrou efeito protetor sobre a integridade celular, mantendo níveis adequados de hidratação e promovendo o acúmulo de  $\beta$ -caroteno. A combinação de AS+ME apresentou efeito sinérgico na atividade antioxidante, mas comprometeu significativamente o rendimento do óleo essencial, sugerindo redirecionamento metabólico em favor de vias de defesa. Os resultados indicam que a escolha do regulador vegetal deve ser orientada conforme os objetivos produtivos, destacando o potencial estratégico do uso de AS e ME na modulação fisiológica e fitoquímica de plantas aromáticas de interesse comercial.

**Palavras-chave:** reguladores vegetais, antioxidantes, óleo essencial, biofortificação, sempre-viva.

## **Elicitation of Secondary Metabolites in *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don: The Role of Salicylic Acid and Melatonin**

### **ABSTRACT**

The present study investigated the physiological, morphological, and biochemical effects of the exogenous application of salicylic acid (SA) and melatonin (MT), applied individually or in combination, in *Helichrysum italicum* plants cultivated under controlled conditions. The experiment was conducted using a completely randomized design consisting of four treatments (control, SA, MT, and SA+MT), with eight biological replicates, and treatments were applied via foliar spraying. Plants treated with SA received a solution containing 100 mg mL<sup>-1</sup> salicylic acid, whereas the MT treatment received 100 mg mL<sup>-1</sup> melatonin. The combined treatment (SA+MT) consisted of the simultaneous application of 100 mg mL<sup>-1</sup> of each compound. The evaluated parameters included plant growth, stomatal morphometry, relative water content (RWC), plasma membrane damage (MD), chlorophyll index, phenolic compound content,  $\beta$ -carotene accumulation, antioxidant activity (DPPH), and essential oil yield. SA significantly increased shoot biomass; however, it also reduced root growth and intensified oxidative stress. In contrast, MT exhibited a protective effect on cellular integrity, maintaining adequate hydration levels and promoting  $\beta$ -carotene accumulation. The SA+MT combination showed a synergistic effect on antioxidant activity but significantly reduced essential oil yield, suggesting metabolic redirection toward defense-related pathways. These findings indicate that the choice of plant regulator should be guided according to the intended production goals, highlighting the strategic potential of SA and MT in the physiological and phytochemical modulation of aromatic plants with commercial relevance.

**Keywords:** plant regulators, antioxidants, essential oil, biofortification, everlasting.

## CAPÍTULO I

### ***Helichrysum italicum*: uma jornada botânica e metabólica - explorando elicitores e potencial em diferentes indústrias**

#### **RESUMO:**

*Helichrysum italicum* é uma planta da família *Asteraceae*, nativa da região do Mediterrâneo, caracterizada por possuir folhas estreitas e cinza-prateadas e flores amarelas. A espécie é considerada medicinalmente promissora cujas propriedades terapêuticas são impulsionadas por uma rica composição de metabólitos secundários como flavonoides, terpenoides e lactonas sesquiterpênicas. Além disso, a planta exibe propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes, antimicrobianas e cicatrizantes, tornando-a útil em diversas aplicações terapêuticas. Recentemente, o uso de elicitores para induzir a produção de metabólitos secundários em *H. italicum* tem ganhado destaque. Elicitores abióticos, como estresse salino e radiação UV, e elicitores bióticos, derivados de microrganismos, podem aumentar a síntese de compostos bioativos na planta. Essa abordagem pode otimizar a produção de metabólitos secundários, ampliando as possibilidades de aplicação da planta na medicina e na indústria farmacêutica. A utilização de elicitores emerge como uma estratégia eficaz para potencializar a produção desses compostos, abrindo caminho para o desenvolvimento de novos tratamentos e produtos farmacêuticos baseados nesta planta. Portanto, esta revisão se propõe a compilar dados fundamentais sobre a *H. italicum*, proporcionando uma perspectiva detalhada de sua botânica, taxonomia, usos e processos metabólicos. Ao enfatizar a importância dos elicitores, que são agentes capazes de estimular ou intensificar a biossíntese de metabólitos secundários em doses reduzidas, levando a um acréscimo na concentração de compostos bioativos ou ao surgimento de novos metabólitos, buscamos aprofundar o entendimento desta planta adaptável e explorar seu potencial em variados setores.

**Palavras-chaves:** Otimização de produção, Metabólitos secundários, Propriedades terapêuticas, Perpétua-das-areias, Elicitores bióticos, Elicitores abióticos.

## 1. INTRODUÇÃO

O interesse por plantas medicinais tem crescido de forma significativa, impulsionado pela busca por compostos naturais aplicáveis às indústrias farmacêutica, cosmética e alimentícia. Entre esses compostos, as moléculas bioativas naturalmente presentes em diferentes espécies vegetais vêm se destacando por suas propriedades terapêuticas, nutracêuticas e pelo potencial de uso no desenvolvimento de alimentos funcionais e medicamentos (Isah, 2019; Thakur et al., 2019).

Nesse cenário, *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don, conhecida popularmente como sempre-viva, immortelle, osmarim ou perpétua-das-areias, tem atraído especial atenção. Segundo o *Plants of the World Online* (2024), a espécie é aceita taxonomicamente e apresenta diversas subespécies reconhecidas (*H. italicum* subsp. *italicum*, subsp. *microphyllum*, subsp. *pseudolitoreum*, subsp. *siculum*), o que explica variações morfológicas e fitoquímicas observadas em diferentes regiões. Trata-se de um subarbusto aromático da família Asteraceae, típico de ambientes áridos e solos arenosos do Mediterrâneo, que historicamente é utilizado na medicina tradicional de países como Itália, Espanha e Portugal para o tratamento de problemas respiratórios, digestivos, afecções cutâneas e cicatrização de feridas (Cornara et al., 2009; Benítez Gonzáles-Tejero; Molero-Mesa, 2010; Viegas et al., 2014).

As atividades farmacológicas da espécie estão relacionadas à sua complexa composição química, que inclui óleos essenciais ricos em monoterpenos e sesquiterpenos (como acetato de nerila,  $\alpha$ -pineno e  $\gamma$ -curcumeno), além de compostos não voláteis como flavonoides, acetofenonas e floroglucinóis (Akaberi; Sahebkar; Azizi, 2019; Ninčević et al., 2019). Entre estes, destaca-se o arzonol, um *floroglucinol- $\alpha$ -pirona heterodimérico prenilado* com comprovada atividade anti-inflamatória, antioxidante e antiviral, atuando por meio da inibição de NF- $\kappa$ B, mPGES-1 e mediadores pró-inflamatórios como TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  (Bauer et al., 2011; Kramberger et al., 2020; Tadić et al., 2023). Essa diversidade fitoquímica explica o amplo uso comercial da espécie em produtos farmacêuticos, cosméticos antienvhecimento e até na gastronomia mediterrânea.

Diante da crescente demanda por compostos bioativos, estratégias biotecnológicas de elicitação têm se mostrado promissoras para aumentar a produtividade

e a qualidade funcional de plantas medicinais. A elicitação consiste na aplicação de estímulos bióticos ou abióticos que desencadeiam respostas fisiológicas e bioquímicas, levando ao acúmulo de metabólitos secundários de interesse (Ramírez-Estrada et al., 2016; Thakur et al., 2019). Entre os elicitores mais estudados estão o ácido salicílico (AS), um fitormônio fenólico associado à indução de proteínas relacionadas à patogênese e tolerância a estresses ambientais, e a melatonina (ME), reconhecida por modular o crescimento, a fotossíntese e a atividade antioxidante em plantas (Arnao; Hernández-Ruiz, 2015; Aghdam et al., 2020).

Assim, esta revisão bibliográfica busca consolidar informações sobre a botânica, composição química, usos etnofarmacológicos e potencial biotecnológico de *H. italicum*, com ênfase no papel do AS e da ME como elicitores capazes de ampliar a síntese de metabólitos secundários de interesse terapêutico e industrial.

## 2. METODOLOGIA

Este trabalho consiste em uma revisão narrativa da literatura, realizada com o objetivo de consolidar o conhecimento científico sobre a espécie *Helichrysum italicum*. Para o levantamento bibliográfico, foram consultadas as bases de dados científicas PubMed, Scopus, Web of Science e Google Scholar. A busca foi realizada utilizando os seguintes descritores e suas combinações em inglês e português: *Helichrysum italicum*, *immortelle*, *elicitation*, *secondary metabolites*, *salicylic acid*, *melatonin*, *oxidative stress*, *essential oil*, *arzanol*, composição química, atividade anti-inflamatória, usos etnofarmacológicos e elicitores.

Foram adotados como critérios de exclusão: trabalhos duplicados, publicações sem revisão por pares, literatura cinzenta (resumos de congresso, monografias não indexadas) e artigos que não abordassem diretamente metabolismo secundário, elicitação ou aplicações farmacológicas da espécie. Foram selecionados artigos originais, artigos de revisão, dissertações e capítulos de livros, com prioridade para publicações dos últimos dez anos, a fim de garantir a atualidade das informações. O material selecionado foi analisado criticamente para sintetizar os dados sobre a taxonomia, composição fitoquímica, atividades farmacológicas e potencial biotecnológico da planta.

### 3. DESENVOLVIMENTO

#### 3.1 *Helichrysum italicum*: Taxonomia, descrição e usos tradicionais

*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don é o nome científico para a espécie pertencente ao gênero *Helichrysum* e à família *Asteraceae*. Investigações taxonômicas, como as disponíveis na base de dados Plants of the World Online (POWO), mantida pelo Royal Botanic Gardens, Kew, indicam que a espécie possui diversas sinonímias, reflexo de sua ampla distribuição e de classificações históricas. Entre os sinônimos notáveis estão *Gnaphalium italicum* Roth e *Helichrysum angustifolium* (Lam.) DC. (POWO, 2024). O nome do gênero, *Helichrysum*, deriva das palavras gregas *helios* (sol) e *chrysos* (ouro), uma alusão direta à cor dourada de suas inflorescências (Viegas et al., 2014).

Botanicamente, a planta é descrita como um subarbusto perene e aromático, que atinge entre 30 e 70 cm de altura. Apresenta folhas lineares e acinzentadas, adaptadas para minimizar a perda de água, e inflorescências em capítulos de um amarelo intenso, que mantêm a cor mesmo após a secagem, originando o nome popular *immortelle* (eterna) (Figura 1). A planta é nativa da bacia do Mediterrâneo, sendo encontrada predominantemente em solos rochosos, arenosos e com boa drenagem, desde o nível do mar até altitudes de aproximadamente 1.700 metros (Ninčević et al., 2019).



**Figura 1.** *Helichrysum italicum*. **Fonte:** imagem produzida pela autora (2026)

O uso de *Helichrysum italicum* na medicina popular é vasto e profundamente enraizado na cultura de países como Itália, Espanha, Portugal e Bósnia e Herzegovina. Os registros etnofarmacológicos documentam sua aplicação para uma ampla gama de

finalidades terapêuticas, principalmente por meio de infusões e decocções, às quais são atribuídas propriedades antimicrobianas, cicatrizantes e antialérgicas. Seus usos abrangem desde o tratamento de problemas de pele, como queimaduras e psoríase, até condições respiratórias, como tosse e bronquite, e distúrbios digestivos (Cornara et al., 2009; Akaberi; Sahebkar; Azizi, 2019). A Tabela 1 detalha os principais usos documentados em diferentes regiões da Europa.

**Tabela 1** - Estudos etnofarmacológicos de *H. italicum* em diferentes regiões da Europa, com indicação de seus usos medicinais, partes da planta utilizadas e tipo de preparação.

| Região (País)        | Uso Medicinal Tradicional                             | Parte da Planta Utilizada | Forma de Preparo           | Referência             |
|----------------------|-------------------------------------------------------|---------------------------|----------------------------|------------------------|
| Ligúria (Itália)     | Tosse, Bronquite, Dores de cabeça, Problemas de pele. | Inflorescências e folhas  | Infusão, decocção, vapor   | Cornara et al. (2009)  |
| Granada (Espanha)    | Distúrbios digestivos, Problemas hepáticos, Tosse.    | Inflorescências           | Infusão                    | Benítez et al. (2010)  |
| Sardenha (Itália)    | Psoríase, Queimaduras solares, Reumatismo.            | Partes aéreas             | Decocção (uso tópico)      | Atzei (2003)           |
| Bósnia e Herzegovina | Problemas de vesícula biliar, Estimulante do apetite. | Inflorescências           | Infusão                    | Redžić (2007)          |
| Portugal             | Analgésico, Distúrbios da vesícula, Cicatrização.     | Partes aéreas             | Infusão, óleo essencial    | Viegas et al. (2014)   |
| Croácia              | Anti-inflamatório, Tratamento de hematomas e feridas. | Flores e folhas           | Infusão, maceração em óleo | Ninčević et al. (2019) |

**Fonte:** Elaborado pela autora (2026).

### 3.2 Cultivo e domesticação da espécie

O cultivo de *Helichrysum italicum* tem despertado crescente interesse econômico, agrônomo e científico em razão da elevada demanda da indústria farmacêutica, cosmética, alimentícia e de fragrâncias pelos seus óleos essenciais e compostos bioativos. Tradicionalmente distribuída de forma espontânea em regiões mediterrâneas, especialmente em ambientes costeiros secos, pedregosos e submetidos a intensa radiação solar, a espécie vem sendo progressivamente incorporada a sistemas de cultivo comercial, impulsionando processos de domesticação, seleção genética e desenvolvimento de protocolos agrônômicos voltados à produção padronizada de biomassa e metabólitos secundários (Ninčević et al., 2019).

A espécie apresenta elevada plasticidade ecológica e notável adaptação a condições edafoclimáticas adversas, sendo amplamente reconhecida por sua tolerância à seca, à intensa radiação solar e à baixa fertilidade dos solos característicos da região mediterrânea. Essas características estão associadas a adaptações morfoanatômicas típicas de plantas xeromórficas, incluindo folhas estreitas e linear-lanceoladas, cutícula espessa, presença abundante de tricomas tectores e glandulares e elevada capacidade de síntese e armazenamento de metabólitos secundários voláteis. Tais adaptações contribuem para a redução da perda de água por transpiração, proteção contra danos fotooxidativos e térmicos, além de desempenharem importante papel nos mecanismos de defesa química da planta contra herbívoros, patógenos e outros fatores de estresse ambiental (Viegas et al., 2014; Ninčević et al., 2019).

*Helichrysum italicum* ocorre predominantemente em habitats secos, rochosos e arenosos da bacia do Mediterrâneo, onde está frequentemente exposta a condições de déficit hídrico e elevada irradiância. Nessas condições, a espécie desenvolve respostas fisiológicas e metabólicas que favorecem sua sobrevivência, incluindo o acúmulo de compostos fenólicos, flavonoides, terpenoides e constituintes do óleo essencial com reconhecida atividade antioxidante. Estudos demonstram que fatores ambientais, especialmente disponibilidade hídrica, intensidade luminosa e temperatura, podem influenciar significativamente a composição química e o rendimento dos metabólitos secundários produzidos pela espécie, afetando diretamente seu potencial biológico e valor comercial (Ninčević et al., 2019; Glumac et al., 2023).



Do ponto de vista agrônomo, *Helichrysum italicum* é cultivada preferencialmente em solos arenosos ou pedregosos, bem drenados, com pH neutro a levemente alcalino e baixa retenção de água, condições consideradas favoráveis ao desenvolvimento radicular e à produção de óleo essencial. A espécie apresenta elevada adaptação a ambientes mediterrâneos caracterizados por baixa disponibilidade hídrica e alta incidência luminosa, fatores que influenciam diretamente seu metabolismo secundário e a composição fitoquímica dos tecidos vegetais (Viegas et al., 2014; Ninčević et al., 2019).

Estudos indicam que condições moderadas de estresse hídrico podem atuar como estímulos fisiológicos capazes de induzir o acúmulo de metabólitos secundários, especialmente compostos fenólicos, monoterpenos e sesquiterpenos, promovendo alterações quantitativas e qualitativas no perfil químico da espécie. Dessa forma, práticas de manejo relacionadas à irrigação, luminosidade e disponibilidade nutricional vêm sendo exploradas como estratégias para otimizar simultaneamente a produtividade vegetal e a qualidade fitoquímica do óleo essencial e de outros compostos bioativos de interesse comercial e farmacológico (Ninčević et al., 2019; Glumac et al., 2023).

A propagação de *H. italicum* pode ocorrer por sementes, estaquia ou técnicas de micropropagação in vitro. Entretanto, a propagação vegetativa por estacas é frequentemente preferida em cultivos comerciais devido à maior uniformidade genética, morfológica e fitoquímica das plantas produzidas. Essa estratégia é particularmente importante em programas destinados à produção padronizada de óleo essencial, uma vez que reduz a variabilidade associada à reprodução sexuada e contribui para a manutenção de características agrônomicas desejáveis (Ninčević et al., 2019). Além disso, protocolos de cultura de tecidos têm sido investigados como alternativa para a produção clonal em larga escala, conservação de recursos genéticos e obtenção de material propagativo livre de patógenos, contribuindo para a sustentabilidade dos sistemas de cultivo e para a preservação da variabilidade genética da espécie.

Outro aspecto relevante no processo de domesticação da espécie refere-se à seleção de quimiotipos específicos, caracterizados pela predominância de determinados compostos bioativos no óleo essencial. Variações genéticas e ambientais contribuem para a formação de diferentes perfis químicos, com destaque para quimiotipos ricos em acetato de nerila,  $\alpha$ -pineno,  $\gamma$ -curcumeno e italidionas, compostos associados às propriedades anti-inflamatórias, cicatrizantes e antimicrobianas da espécie (Djihane; Wafa; Oliveira,

2017; Tadić et al., 2023). A identificação e estabilização desses quimiotipos são fundamentais para aplicações farmacêuticas e cosméticas, uma vez que influenciam diretamente a eficácia biológica e o valor comercial dos extratos vegetais.

Além dos fatores genéticos, variáveis ambientais como altitude, temperatura, disponibilidade hídrica, radiação UV, sazonalidade e composição mineral do solo exercem influência significativa sobre o crescimento vegetativo e a biossíntese de metabólitos secundários em *H. italicum*. Estudos fitoquímicos demonstram que alterações nas condições de cultivo podem modificar expressivamente tanto o rendimento quanto a composição química do óleo essencial, impactando suas propriedades terapêuticas e sensoriais (Viegas et al., 2014; Furlan; Bren, 2023). Nesse contexto, o desenvolvimento de sistemas sustentáveis de cultivo e domesticação torna-se essencial não apenas para garantir a padronização fitoquímica e a rastreabilidade da produção, mas também para reduzir a pressão extrativista sobre populações naturais da espécie, contribuindo para sua conservação e uso racional.

### 3.3 Metabólitos secundários

Metabólitos secundários, também conhecidos como compostos bioativos, não desempenham um papel essencial no desenvolvimento e nos processos vitais das plantas. No entanto, são cruciais para a interação das plantas com o ambiente, atuando como agentes químicos de defesa contra insetos, herbívoros e fitopatógenos, além de contribuírem para a adaptação a condições ambientais adversas (Ninčević et al., 2019; Isah, 2019). As plantas produzem uma ampla variedade de fitoquímicos, incluindo alcaloides, flavonoides, quinonas, lignanos, esteroides e terpenoides. Esses compostos possuem diversas aplicações, sendo utilizados na produção de fármacos, agroquímicos, aromas, fragrâncias, corantes, biopesticidas e aditivos alimentares. Além disso, muitos medicamentos são derivados direta ou indiretamente de espécies vegetais. Apesar de sua importância, a produção de metabólitos secundários geralmente representa menos de 1% do peso seco da planta. Essa produção está diretamente relacionada ao estado fisiológico e ao estágio de desenvolvimento vegetal (Morales; Yáñez; Gonzáles, 2021). Em *H. italicum*, a diversidade e a concentração desses compostos são responsáveis por suas

propriedades farmacológicas e por seu valor comercial. A composição fitoquímica desta espécie pode ser dividida em duas frações principais: a fração volátil, correspondente ao óleo essencial e a não volátil.

### 3.4 Biossíntese de compostos fenólicos e terpenoides

A biossíntese dos metabólitos secundários em *Helichrysum italicum* envolve uma complexa rede de rotas metabólicas altamente reguladas, responsáveis pela formação de compostos fenólicos e terpenoides, considerados as principais classes químicas associadas às propriedades biológicas, ecológicas e farmacológicas da espécie. Esses metabólitos desempenham funções fundamentais na adaptação vegetal, atuando nos mecanismos de defesa contra estresses bióticos e abióticos, proteção antioxidante, comunicação química, interação planta-microrganismo e atração de polinizadores (Isah, 2019). Além disso, sua produção está intimamente relacionada ao metabolismo primário da planta, sendo fortemente influenciada por fatores fisiológicos, genéticos e ambientais.

Os compostos fenólicos são sintetizados principalmente pela via dos fenilpropanoides, derivada do metabolismo do ácido chiquímico, uma importante rota biossintética responsável pela formação de aminoácidos aromáticos em plantas. Nessa via, a enzima fenilalanina amônia-liase (PAL) catalisa a desaminação da fenilalanina em ácido cinâmico, constituindo a etapa inicial e regulatória da biossíntese fenólica. A partir desse precursor, ocorre a formação de uma ampla diversidade de metabólitos secundários, incluindo flavonoides, ácidos fenólicos, cumarinas e floroglucinóis (Ramírez-Estrada et al., 2016).

Em *H. italicum*, essa rota possui elevada relevância metabólica devido à intensa produção de compostos fenólicos bioativos associados às propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e antimicrobianas da espécie. Entre esses compostos destacam-se flavonoides e o arzanol, um floroglucinol prenilado considerado um dos principais marcadores farmacológicos da planta. A biossíntese desses compostos envolve a ativação coordenada de diferentes enzimas, incluindo chalcona sintase (CHS), chalcona isomerase (CHI) e outras oxidoredutases envolvidas na modulação estrutural dos fenólicos. Esses metabólitos exercem importante papel na neutralização de espécies reativas de oxigênio

(EROs), contribuindo para a manutenção da homeostase celular e proteção contra danos oxidativos induzidos por estresses ambientais (Isah, 2019; Ramírez-Estrada et al., 2016).

Os terpenoides, por sua vez, constituem os principais componentes do óleo essencial de *H. italicum* e são biossintetizados a partir de duas vias metabólicas independentes, porém interconectadas: a via do ácido mevalônico (MVA), localizada no citosol, e a via do metileritritol fosfato (MEP), presente nos plastídios. Ambas as rotas levam à formação das unidades básicas de isopreno, isopentenil difosfato (IPP) e dimetilalil difosfato (DMAPP), que atuam como precursores universais da biossíntese terpênica (Ninčević et al., 2019).

A via MVA está relacionada principalmente à biossíntese de sesquiterpenos e triterpenos, enquanto a via MEP participa predominantemente da formação de monoterpenos, diterpenos e tetraterpenos. Em *H. italicum*, essas rotas são responsáveis pela síntese de compostos voláteis de elevada importância biológica e comercial, incluindo  $\alpha$ -pineno,  $\gamma$ -curcumeno, limoneno, acetato de nerila e italdionas, metabólitos diretamente associados às propriedades anti-inflamatórias, cicatrizantes, antimicrobianas e aromáticas da espécie (Djihane et al., 2017; Ninčević et al., 2019). A atividade de enzimas terpene sintases (TPS) desempenha papel central na diversificação estrutural desses compostos, determinando a composição química característica dos diferentes quimiotipos da planta.

A regulação da biossíntese de compostos fenólicos e terpenoides está diretamente relacionada às condições fisiológicas e ambientais às quais a planta está submetida. Fatores como disponibilidade hídrica, intensidade luminosa, radiação UV, temperatura, salinidade, nutrientes minerais e ataques por patógenos podem modular a expressão gênica de enzimas-chave envolvidas nessas rotas metabólicas, alterando significativamente o perfil fitoquímico da espécie (Halder; Sarkar; Jha, 2019). Em muitos casos, condições moderadas de estresse ambiental promovem o aumento da produção de metabólitos secundários como mecanismo adaptativo de defesa vegetal.

Nesse contexto, a elicitação surge como uma importante ferramenta biotecnológica para a modulação do metabolismo secundário em *H. italicum*. A aplicação de elicitores bióticos e abióticos, como ácido salicílico, ácido jasmônico e melatonina, pode ativar vias de sinalização celular relacionadas ao estresse, induzindo a expressão de genes associados

à biossíntese de compostos fenólicos e terpênicos. Consequentemente, observa-se aumento quantitativo e qualitativo na produção de metabólitos bioativos de interesse farmacológico e industrial, tornando a elicitação uma estratégia promissora para otimização da qualidade fitoquímica e valorização biotecnológica da espécie (Ramírez-Estrada et al., 2016; Halder; Sarkar; Jha, 2019).

### 3.5 A fração volátil: O óleo essencial

O óleo essencial é o produto mais conhecido e estudado de *H. italicum*.. Trata-se de uma mistura complexa de compostos voláteis, predominantemente monoterpenos e sesquiterpenos. A composição exata do óleo varia drasticamente dependendo de fatores como a origem geográfica (quimiotipo), as condições do solo, o clima e a época de colheita (Ninčević et al., 2019). Estudos de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) revelaram os principais constituintes:

- Acetato de nerila: Frequentemente o éster mais abundante, podendo representar aproximadamente 20% a 50% da composição total do óleo essencial, sendo considerado um importante marcador de qualidade para aplicações terapêuticas (Djihane; Wafa; Oliveira, 2017; Ninčević et al., 2019).
- $\alpha$ -Pineno: Monoterpeno presente em proporções variáveis, geralmente entre 5% e 25%, associado a propriedades anti-inflamatórias e antimicrobianas (Djihane; Wafa; Oliveira, 2017; Dzamic et al., 2019).
- $\gamma$ -Curcumeno: Sesquiterpeno que pode ocorrer em concentrações entre 5% e 20%, contribuindo significativamente para a atividade anti-inflamatória do óleo (Ninčević et al., 2019; Tadić et al., 2023).
- Italdionas: grupo de sesquiterpenos oxigenados característicos de *H. italicum*, considerados importantes marcadores químicos da espécie e relacionados às propriedades anti-inflamatórias, regenerativas e cicatrizantes atribuídas ao óleo essencial (Ninčević et al., 2019; Tadić et al., 2023).

A variabilidade química permite a classificação de diferentes quimiotipos. Por

exemplo, óleos da Córsega (França) são tipicamente ricos em acetato de nerila e  $\gamma$ -curcumeno, enquanto óleos dos Bálcãs podem ter uma maior concentração de  $\alpha$ -pineno (Tadić et al., 2023). Essa variação é fundamental para a padronização de extratos para aplicações farmacêuticas e cosméticas.

### 3.6 A fração não volátil: O papel central do arzonol

Embora menos estudada que o óleo essencial, a fração não volátil de *H. italicum* contém compostos de alta potência farmacológica. O principal expoente desta fração é o arzonol, um polifenol complexo classificado como um floroglucinol  $\alpha$ -pirona heterodimérico prenilado. Esta estrutura química única é responsável por suas notáveis atividades biológicas (Appendino et al., 2007).

O arzonol se destaca por sua potente ação anti-inflamatória e antiviral. Seus mecanismos de ação são multifacetados:

- Inibição da Via do NF- $\kappa$ B: O arzonol bloqueia a ativação do fator de transcrição nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B), um regulador mestre da resposta inflamatória. Ao inibir o NF- $\kappa$ B, ele impede a expressão de genes que codificam citocinas pró-inflamatórias como TNF- $\alpha$  e IL-6 (Bauer et al., 2011).
- Inibição da Biossíntese de Eicosanoides: Ele inibe seletivamente a enzima microssomal prostaglandina E2 sintase-1 (mPGES-1), bloqueando a produção de prostaglandina E2 (PGE2), um mediador chave da dor e da inflamação. Este mecanismo é mais seletivo que o de muitos anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), o que sugere um perfil de segurança mais favorável (Kothavade; Nagmoti; Bulani, 2013).
- Atividade Antiviral: O arzonol demonstrou inibir a replicação do vírus da imunodeficiência humana (HIV-1) em células T, atuando como um inibidor da transcriptase reversa (Appendino et al., 2007).

A presença e a concentração de arzonol nos extratos de *H. italicum* são, portanto, cruciais para o potencial terapêutico da planta, especialmente em aplicações anti-inflamatórias. Embora presente em menores quantidades quando comparado aos

compostos voláteis, o arzanol ocorre tipicamente em concentrações que variam de aproximadamente 0,1 a 1 mg/g de extrato, podendo corresponder a cerca de 0,01% a 0,1% do material vegetal seco, dependendo das condições de extração e da origem da planta (Appendino et al., 2007; Bauer et al., 2011; Ninčević et al., 2019).

### 3.7 Otimização da produção de metabólitos via elicitação

A elicitação constitui uma abordagem biotecnológica eficaz na modulação do metabolismo secundário vegetal, consistindo na aplicação de substâncias (elicitores) em plantas ou culturas de células com o objetivo de induzir ou aumentar a produção de metabólitos secundários de interesse. Este processo simula uma resposta de defesa natural da planta frente a estresses bióticos ou abióticos, induzindo a ativação de vias metabólicas associadas à biossíntese de compostos secundários (Halder; Sarkar; Jha, 2019). Para uma planta como *H. italicum*, cujo valor reside em sua composição fitoquímica, a elicitação representa uma estratégia biotecnológica eficaz na potencialização de seu perfil terapêutico.

Embora estudos específicos aplicando elicitores em *H. italicum* ainda sejam escassos, o conhecimento sobre as vias biossintéticas de seus compostos permite inferir o potencial de certos elicitores:

- **Ácido Salicílico (AS):** Este fitormônio é um conhecido elicitor abiótico que ativa a via do fenilpropanoide, precursora da síntese de compostos fenólicos como os flavonoides e floroglucínóis (incluindo o arzonol). A aplicação exógena de AS poderia, teoricamente, aumentar a produção de arzonol ao estimular as enzimas-chave dessa rota metabólica, como a fenilalanina amônio-liase (PAL) (Ramírez-Estrada et al., 2016). Além disso, o AS regula a expressão de genes de defesa, o que pode levar a um acúmulo geral de compostos protetores.
- **Melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina):** Reconhecida por seu papel como um potente antioxidante e regulador de crescimento, a melatonina também atua como um bioestimulante em plantas sob estresse. Ela pode proteger o aparato fotossintético e ativar mecanismos de defesa, levando a um aumento na produção de metabólitos secundários.

Sua aplicação poderia não apenas aumentar a biomassa da planta, mas também modular positivamente a produção de terpenoides (componentes do óleo essencial) e compostos fenólicos, conferindo à planta um perfil fitoquímico mais complexo e funcional (Aghdam et al., 2020; Arnao; Hernández-Ruiz, 2015).

A aplicação controlada desses elicitores em cultivos de *H. italicum* poderia, portanto, ser uma estratégia eficaz para produzir extratos padronizados com altas concentrações de compostos desejados, como o arzonol e o acetato de nerila, maximizando o potencial industrial e farmacêutico da planta.

### 3.8 Atividades farmacológicas

Estudos *in vitro* identificaram *H. italicum* como um agente antimicrobiano e anti-inflamatório, com seus flavonoides e terpenos mostrando eficácia contra bactérias como *Staphylococcus aureus*. Suas acetofenonas, floroglucinóis e terpenoides também exibiram propriedades antifúngicas, agindo contra *Candida albicans*. Além disso, seus flavonoides e floroglucinóis inibiram HSV e HIV, respectivamente (Les et al., 2017).

Acetofenonas, flavonoides e floroglucinóis de *H. italicum* mostraram atividade inibitória em várias vias do metabolismo do ácido araquidônico e outros mediadores pró-inflamatórios. Quando avaliadas as atividades de *H. italicum in vivo*, destacam-se suas propriedades antieritematosas e fotoprotetoras demonstradas por seus flavonoides, tanto em animais quanto em humanos, e suas propriedades anti-inflamatórias exibidas por flavonoides, acetofenonas e floroglucinóis, conforme observado em modelos animais (Les et al., 2017).

Quanto à segurança e aos efeitos adversos, embora *H. italicum* não apresente níveis significativos de citotoxicidade ou genotoxicidade, é importante notar que um de seus flavonoides inibiu algumas isoformas do CYP e foi relatado um caso de reação alérgica aos seus extratos (Viegas et al., 2014).



### 3.9 Atividade antimicrobiana

Diversos extratos derivados de *H. italicum* mostraram propriedades inibitórias no desenvolvimento de bactérias do tipo Gram-positivas e em seus fatores de virulência, enquanto sua ação contra bactérias Gram-negativas não foi tão pronunciada. Foi constatado que tanto o extrato de éter dietílico quanto o óleo essencial de *H. italicum* possuem a habilidade de restringir o crescimento de *S. aureus* de forma proporcional à concentração utilizada, sem apresentar diferenças na eficácia entre as cepas de *S. aureus* resistentes ou sensíveis à metilicina (Maksimovic; Tadic; Skala, 2017). Adicionalmente, observou-se que o extrato de éter dietílico, em concentrações subinibitórias, diminuiu a atividade de enzimas específicas de *S. aureus*, como DNase, lipase, termonuclease e coagulase (Nostro et al., 2001). Essas concentrações mais baixas do extrato também comprometeram a capacidade dessa espécie de produzir as enterotoxinas B e C (Dzamic et al., 2019).

Existe um debate em relação aos componentes específicos dos extratos responsáveis pela ação antibacteriana de *H. italicum* contra *S. aureus*. Alguns estudos enfatizam a importância da fração terpenoide (Mastelic et al., 2005), enquanto outros indicam que a atividade pode ser atribuída tanto aos terpenos quanto aos flavonoides (Djihane; Wafa; Oliveira, 2017). A capacidade dessas substâncias de interagir com a membrana citoplasmática dessa espécie e provocar alterações estruturais e funcionais ressalta sua relevância na atividade antibacteriana observada em *H. italicum* (Les et al., 2017).

Por outro lado, o extrato etanólico de *H. italicum* demonstrou inibir o crescimento e afetar os efeitos cariogênicos de *Streptococcus mutans*, um dos principais agentes responsáveis pela formação de cáries dentárias. Concentrações subinibitórias do extrato etanólico diminuíram a hidrofobicidade da superfície celular, a agregação e a aderência de *S. mutans* (Dzamic et al., 2019). Os pesquisadores sugerem que esses efeitos positivos na prevenção da ação cariogênica de *S. mutans* podem estar relacionado ao conteúdo de flavonoides no extrato etanólico de *H. italicum*, uma vez que vários compostos dessa classe demonstraram atividades anticariogênicas contra esse microrganismo (Ferrazzano et al., 2011).

### 3.10 Atividade inseticida

O óleo essencial de *H. italicum* também apresentou atividade inseticida e larvicida contra as larvas de *Aedes albopictus*. Os resultados indicam que o óleo essencial é altamente tóxico para as larvas, com uma taxa de mortalidade de 100% quando testado em uma concentração de 300 ppm. Além disso, sua capacidade repelente contra *Aedes aegypti* foi observada independentemente da concentração testada, resultando em uma repelência de cerca de 30% dos mosquitos. Os pesquisadores sugeriram que o óleo essencial de *H. italicum* pode ser uma adição útil em formulações repelentes de mosquitos, em combinação com outros compostos ativos (Viegas *et al.*, 2014).

### 3.11 Atividades anti-inflamatórias

Ao abordar o efeito anti-inflamatório de *H. italicum*, é essencial destacar o papel do arzanol. Este composto, um floroglucinol  $\alpha$ -pirona heterodimérico prenilado, foi identificado inicialmente em *H. italicum* ssp. *microphyllum* e reconhecido como um dos principais agentes anti-inflamatórios da espécie (Kramberger *et al.*, 2020).

Appendino *et al.* (2007) desenvolveram uma técnica para extrair e isolar o arzanol a partir do extrato acetônico das partes aéreas de *H. italicum* ssp. *microphyllum*, possibilitando a investigação detalhada de suas propriedades biológicas. O arzanol demonstrou uma forte capacidade de inibição do NF- $\kappa$ B, com um IC<sub>50</sub> de 5  $\mu$ g mL<sup>-1</sup>. Esse fator de transcrição atua como regulador central de genes envolvidos na resposta imunológica e inflamatória, influenciando a expressão de citocinas, quimiocinas, moléculas de adesão, proteínas de fase aguda e enzimas efetoras induzíveis, todos associados a processos inflamatórios.

Além disso, estudos demonstraram que o arzanol é capaz de inibir a biossíntese de mediadores pró-inflamatórios, incluindo prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), tromboxano B<sub>2</sub> (TXB<sub>2</sub>) e leucotrienos (LTs), reforçando seu potencial como agente anti-inflamatório (Bauer *et al.*, 2011).

### 3.12 Elicitores e aplicação no gênero *Helichrysum*

Existem diversas estratégias biotecnológicas para incrementar a produção de metabólitos secundários. Dentre elas, a elicitação constitui uma das abordagens mais eficazes e amplamente empregadas, tanto para induzir a formação de novos compostos bioativos quanto para potencializar a biossíntese e a acumulação de fitoquímicos em plantas, bem como em cultivos *in vitro* de células, tecidos, órgãos e plantas inteiras. Nesse contexto, células e tecidos vegetais respondem a elicitores, fatores bióticos ou abióticos por meio de alterações fisiológicas, bioquímicas e morfológicas. Um elicitor pode ser definido como uma substância que, mesmo em baixas concentrações, induz ou intensifica a biossíntese de compostos específicos associados à adaptação das plantas a condições de estresse (Halder; Sarkar; Jha, 2019).

Os elicitores atuam como sinais que, ao serem reconhecidos por receptores na membrana celular, desencadeiam cascatas de transdução de sinal, resultando na modulação da expressão gênica, especialmente de fatores de transcrição e enzimas envolvidas em rotas biossintéticas. Como consequência, ocorre o aumento da síntese e do acúmulo de metabólitos secundários. Esses agentes podem ser classificados quanto à sua natureza (biótica ou abiótica) e origem (exógena ou endógena). Elicitores abióticos incluem fatores físicos e químicos, como radiação UV, variações de temperatura, estresse osmótico e moléculas sinalizadoras como ácido jasmônico e ácido salicílico. Já os elicitores bióticos derivam de microrganismos ou da própria planta, podendo apresentar composição definida, como polissacarídeos e glicoproteínas, ou complexa, como extratos de levedura (Halder; Sarkar; Jha, 2019).

Assim, a elicitação representa um processo estratégico para a amplificação da biossíntese de metabólitos secundários, promovendo não apenas o aumento quantitativo desses compostos, mas também a indução de novos perfis metabólicos. Esse mecanismo é fundamental para a adaptação das plantas a ambientes adversos, contribuindo para sua sobrevivência e plasticidade metabólica (Ramírez-Estrada et al., 2016).

Dentre os elicitores abióticos, o ácido salicílico (AS) destaca-se como um importante fitormônio envolvido na regulação de respostas de defesa vegetal. Sua aplicação exógena pode ativar vias metabólicas associadas à produção de compostos

fenólicos, flavonoides e outros metabólitos secundários, além de modular a expressão de genes relacionados à resistência sistêmica adquirida e à tolerância a estresses ambientais (Aghdam et al., 2020).

Outro composto de destaque é a melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina), que atua como molécula sinalizadora multifuncional, regulando processos fisiológicos e respostas ao estresse em plantas. Sua aplicação exógena tem sido associada ao aumento da biomassa, estímulo ao desenvolvimento radicular, proteção do aparato fotossintético e modulação positiva da produção de metabólitos secundários, incluindo terpenoides e compostos fenólicos (Arnao; Hernández-Ruiz, 2015; Aghdam et al., 2020).

Apesar do avanço significativo no entendimento dos mecanismos de elicitação em diversas espécies vegetais, observa-se uma lacuna importante na literatura científica no que se refere à aplicação dessas estratégias no gênero *Helichrysum*. Considerando o elevado valor farmacológico e fitoquímico de espécies como *H. italicum*, caracterizadas pela produção de compostos bioativos como flavonoides, terpenoides e floroglucínóis, a exploração do uso de elicitores representa uma abordagem promissora para a modulação e potencialização desses metabólitos.

Dessa forma, a aplicação de elicitores no gênero *Helichrysum* configura-se como um campo emergente de investigação, com potencial para contribuir tanto para o aumento da produtividade de compostos de interesse quanto para o desenvolvimento de aplicações farmacêuticas, cosméticas e agrícolas mais sustentáveis.

## 4 CONCLUSÃO

Esta revisão da literatura consolida *Helichrysum italicum* como uma planta medicinal de alto potencial farmacológico, cujo valor transcende seus usos tradicionais e se fundamenta em evidências científicas disponíveis. A análise de sua composição fitoquímica evidencia um perfil altamente complexo e quimicamente diversificado, marcado pela presença de múltiplas classes de metabólitos secundários biologicamente ativos. Destaca-se a fração volátil, rica em terpenoides como o acetato de nerila e o  $\alpha$ -pineno, amplamente associados a propriedades bioativas relevantes. Em paralelo, a fração

não volátil abriga compostos de elevada importância farmacológica, dentre os quais o arzanol, um floroglucinol  $\alpha$ -pirona, se destaca por seu potente perfil anti-inflamatório e antiviral, com mecanismos de ação bem estabelecidos na literatura científica.

A elucidação dos mecanismos de ação do arzanol, como a inibição seletiva da via do NF- $\kappa$ B e da enzima mPGES-1, não apenas valida seu uso terapêutico, mas também o posiciona como um candidato promissor para o desenvolvimento de novos fármacos com um perfil de segurança potencialmente superior aos AINEs convencionais.

Além disso, este trabalho destaca uma lacuna e, ao mesmo tempo, uma oportunidade significativa na pesquisa com *H. italicum*: a aplicação de estratégias biotecnológicas para a otimização de seus metabólitos. A elicitação, por meio de indutores como o ácido salicílico e a melatonina, apresenta-se como uma abordagem promissora e ainda pouco explorada para aumentar a produção de compostos de alto valor, como o arzanol. A implementação dessas técnicas em cultivos controlados pode viabilizar a produção de matéria-prima padronizada e de alta qualidade, superando a variabilidade química natural e maximizando o potencial terapêutico e industrial desta planta.

Em suma, *H. italicum* representa um campo fértil para a pesquisa e inovação, abrindo caminhos para novas aplicações nas indústrias farmacêutica, cosmética e de alimentos funcionais. Estudos futuros focados na elicitação e em ensaios clínicos são essenciais para traduzir todo o seu potencial bioquímico em benefícios tangíveis para a saúde humana.

## 5 REFERÊNCIAS

AGHDAM, Morteza Soleimani; LUO, Zisheng; LI, Li; JANNATIZADEH, Abbasali; FARD, Javad Rezapour; PIRZAD, Farhad. Melatonin treatment maintains nutraceutical properties of pomegranate fruits during cold storage. **Food Chemistry**, v. 303, p. 125385, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125385>.

AKABERI, M.; SAHEBKAR, A.; AZIZI, N. Everlasting flowers: Phytochemistry and pharmacology of the genus *Helichrysum*. **Industrial Crops and Products**, v. 138, p. 111471, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.05.068>.

APPENDINO, Giovanni; OTTINO, Michela; MARQUEZ, Nieves; BIANCHI, Federica; GIANA, Anna; BALLERO, Mauro; STERNER, Olov; FIEBICH, Bernd L.; MUNOZ, Eduardo. Arzanol, an anti-inflammatory and anti-HIV-1 phloroglucinol  $\alpha$ -pyrone from *Helichrysum italicum* ssp. *microphyllum*. **Journal of Natural Products**, v. 70, n. 4, p. 608–612, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1021/np060581r>.

ARNAO, M. B.; HERNÁNDEZ-RUIZ, J. Functions of melatonin in plants: A review. **Journal of Pineal Research**, v. 59, n. 2, p. 133-150, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1111/jpi.12253>.

BAUER, Julia; KOEBERLE, Andreas; DEHM, Friederike; POLLASTRO, Federica; APPENDINO, Giovanni; NORTHOFF, Hinnak; ROSSI, Antonietta; SAUTEBIN, Lidia; WERZ, Oliver. Arzanol, a prenylated heterodimeric phloroglucinyll pyrone, inhibits eicosanoid biosynthesis and exhibits anti-inflammatory efficacy in vivo. **Biochemical Pharmacology**, v. 81, n. 2, p. 259–268, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2010.09.025>.

BENÍTEZ, G.; GONZÁLEZ-TEJERO, M. R.; MOLERO-MESA, J. Pharmaceutical ethnobotany in the western part of Granada province (southern Spain): Ethnopharmacological synthesis. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 129, n. 1, p. 87-105, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.02.006>.

CORNARA, Laura; LA ROCCA, Antonella; MARSILI, Stefania; MARIOTTI, Mauro G. Traditional uses of plants in the Eastern Riviera (Liguria, Italy). **Journal of**

**Ethnopharmacology**, v. 125, n. 1, p. 16–30, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.06.021>

DJIHANE, N.; WAFA, S.; OLIVEIRA, A. Chemical constituents of *Helichrysum italicum* essential oil and its antimicrobial activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria, filamentous fungi and *Candida albicans*. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 25, n. 5, p. 780-787, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2017.04.020>.

DZAMIC, Ana M.; MILESKI, Ksenija S.; CIRIC, Ana D.; RISTIC, Mihailo S.; SOKOVIC, Marina D.; MARIN, Petar D. Essential oil composition, antioxidant and antimicrobial properties of essential oil and deodorized extracts of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 22, n. 2, p. 493–503, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1080/0972060X.2019.1611487>.

FERRAZZANO, Gianrico Francesco; AMATO, Ida; INGENITO, Antonella; DE NATALE, Alfonso; POLLASTRO, Federica; FRANCIOSO, Rosanna; CANTILE, Tiziana; CUTILLO, Luigi; LEONE, Antonella; LANZOTTI, Virginia. Anti-caries effects of a flavonoid-rich extract from *Helichrysum italicum*. **BioFactors**, v. 37, n. 6, p. 449–456, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1002/biof.178>.

FURLAN, Veronika; BREN, Urban. *Helichrysum italicum*: from extraction, distillation, and encapsulation techniques to beneficial health effects. **Foods**, v. 12, n. 4, p. 802, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods12040802>.

GLUMAC, Mateo; JAŽO, Zvonimir; PAŠTAR, Vlatka; GOLEMAC, Anja; ČIKEŠ ČULIĆ, Vedrana; BEKTIĆ, Sanida; RADAN, Mila; CAREV, Ivana. Chemical profiling and bioactivity assessment of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don. essential oil: exploring pure compounds and synergistic combinations. **Molecules**, v. 28, n. 14, p. 5299, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules28145299>

HALDER, M.; SARKAR, S.; JHA, S. Elicitation: A biotechnological tool for enhanced production of secondary metabolites in hairy root cultures. **Engineering in Life Sciences**, v. 19, n. 12, p. 880-895, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1002/elsc.201900057>.

ISAH, T. Stress and defense responses in plant secondary metabolites production.

**Biological Research**, v. 52, n. 1, p. 39, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40659-019-0246-3>.

KOTHAVADE, P. S.; NAGMOTI, D. M.; BULANI, V. D. Arzanol, a potent mPGES-1 inhibitor: Novel anti-inflammatory agent. **Science World Journal**, v. 2013, p. 1-9, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1155/2013/386813>.

KRAMBERGER, K.; BARLIČ-MAGANJA, D.; BANDELJ, D. HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS determination of bioactive compounds and antioxidant activity comparison of hydroalcoholic and water extracts from two *Helichrysum italicum* species. **Metabolites**, v. 10, n. 10, p. 403, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/metabo10100403>.

LES, Francisco; VENDITTI, Alessandro; CÁSEDAS, Guillermo; FREZZA, Claudio; GUIISO, Marcella; SCIUBBA, Fabio; SERAFINI, Mauro; BIANCO, Armandodoriano; VALERO, Marta Sofía; LÓPEZ, Víctor. *Helichrysum stoechas* as a potential source of bioactive molecules with antiproliferative, antioxidant, antidiabetic and neuroprotective properties. **Industrial Crops and Products**, v. 108, p. 295–302, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.06.043>

MAKSIMOVIC, S.; TADIC, V.; SKALA, D. Separation of phytochemicals from *Helichrysum italicum*: An analysis of different isolation techniques and biological activity of prepared extracts. **Phytochemistry**, v. 138, p. 9-28, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2017.02.018>.

MASTELIĆ, Josip; POLITEO, Olivera; JERKOVIĆ, Igor; RADOŠEVIĆ, Neda. Composition and antimicrobial activity of *Helichrysum italicum* essential oil and its terpene and terpenoid fractions. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 41, n. 1, p. 35–40, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10600-005-0069-z>.

MORALES, J. M. L.; YÁÑEZ, P. M. S.; GONZÁLEZ, J. A. M. Tópicos de Herramientas Biotecnológicas para el Desarrollo Agrícola. **Guadalajara**: CIATEJ, 2021.

NINČEVIĆ, Tonka; GRDIŠA, Mira; ŠATOVIĆ, Zlatko; JUG-DUJAKOVIĆ, Marija. *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don: Taxonomy, biological activity, biochemical and genetic diversity. **Industrial Crops and Products**, v. 138, p. 111487, 2019. DOI:



<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111487>

NOSTRO, A.; BISIGNANO, G.; CANNATELLI, M. A.; CRISAFI, G.; GERMANÒ, M. P.; ALONZO, V. Effects of *Helichrysum italicum* extract on growth and enzymatic activity of *Staphylococcus aureus*. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 17, n. 6, p. 517–520, 2001. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0924-8579\(01\)00336-3](https://doi.org/10.1016/S0924-8579(01)00336-3).

POWO – **Plants of the World Online**. Royal Botanic Gardens, Kew. Disponível em: <http://www.plantsoftheworldonline.org/>. Acesso em: 28 set. 2024.

RAMÍREZ-ESTRADA, Karla; VIDAL-LIMON, Heriberto; HIDALGO, Diego; MOYANO, Elisabeth; GOLENIOSWIKI, Marta; CUSIDÓ, Rosa M.; PALAZON, Javier. Elicitation as an effective strategy for the biotechnological production of high-value bioactive compounds in plant cell factories. **Molecules**, v. 21, n. 2, p. 182, 2016. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules21020182>

TADIĆ, Vanja M.; DŽAMIĆ, Ana M.; JEREMIĆ, Sanja; DOBRIĆ, Snežana; MILENKOVIĆ, Milan; VELIČKOVIĆ, Dušanka; RISTIĆ, Mihailo; MARKOVIĆ, Tatjana; BOJIĆ, Mirza. *Helichrysum italicum* as a source of bioactive compounds: The state of the art. **Frontiers in Plant Science**, v. 14, p. 1185329, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1185329>.

THAKUR, Manish; BHATTACHARYA, Shovonlal; KUNDU, Raktim; CHAKRABORTY, Subhankar. Improving production of plant secondary metabolites through biotic and abiotic elicitation. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 12, p. 1–12, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2018.11.004>

VIEGAS, D. A.; NEVES, B. M.; DIAS, C.; PEREIRA, C. A.; BOAVENTURA, R.; TEIXEIRA, F. C.; AZEVEDO, M. F. *Helichrysum italicum*: From traditional use to scientific data. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 151, n. 1, p. 54–65, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.10.029>.

## CAPÍTULO II

### Elicitores no crescimento e no metabolismo secundário de *Helichrysum italicum*

#### RESUMO:

*Helichrysum italicum*, conhecida como osmarim, é uma planta medicinal de crescente interesse devido à sua rica composição em metabólitos secundários, como flavonoides, terpenoides e lactonas sesquiterpênicas, responsáveis por propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes, antimicrobianas e cicatrizantes. A otimização da produção desses compostos tem impulsionado a investigação de estratégias inovadoras de cultivo. Neste contexto, o presente estudo avaliou os efeitos fisiológicos, morfológicos e bioquímicos da aplicação de ácido salicílico (AS) e melatonina (ME), isoladamente ou em combinação, em plantas de *H. italicum*. As plantas foram cultivadas em câmara de crescimento sob condições controladas por 120 dias, sendo os tratamentos (AS 100 mg mL<sup>-1</sup>, ME 100 mg mL<sup>-1</sup>, AS+ME e controle) aplicados semanalmente a partir dos 80 dias, em delineamento inteiramente casualizado (n=8). Foram avaliados parâmetros de crescimento, integridade da membrana plasmática, teor relativo de água, índice de clorofila, morfometria estomática, atividade antioxidante (compostos fenólicos, flavonoides, DPPH e  $\beta$ -caroteno) e o rendimento e a composição do óleo essencial por CG/EM. Os resultados indicaram que o AS promoveu aumento da massa fresca da parte aérea, porém reduziu o teor relativo de água e elevou o dano à membrana plasmática. A ME apresentou efeito protetor, mantendo a integridade hídrica e celular, além de aumentar significativamente os níveis de  $\beta$ -caroteno, isoladamente ou em combinação com AS. A aplicação combinada (AS+ME) intensificou a atividade antioxidante (DPPH), mas resultou em expressiva redução no rendimento do óleo essencial (0,01% em comparação a 0,96% no controle), sugerindo redirecionamento metabólico. Conclui-se que o AS e a ME exercem efeitos distintos e complexos em *H. italicum*. Enquanto a melatonina atua na proteção contra o estresse e na indução de respostas antioxidantes, o ácido salicílico estimula o crescimento, embora com possíveis custos fisiológicos. A combinação de ambos, embora potencialize a atividade antioxidante, pode comprometer a produção de óleo essencial, evidenciando a importância de alinhar a estratégia de elicitação aos objetivos de cultivo.

Palavras-chave: Ácido salicílico; Melatonina; *Helichrysum italicum*; Metabolismo secundário; Óleo essencial.

## 1. INTRODUÇÃO

*Helichrysum italicum* (Roth) G. Don, popularmente conhecida como osmarim, é uma planta aromática e medicinal de crescente interesse científico e comercial devido à sua elevada concentração de compostos bioativos. A espécie apresenta ampla aplicação nas indústrias farmacêutica, cosmética, alimentícia e de perfumaria, além de possuir uso consolidado na medicina tradicional mediterrânea. Na literatura etnofarmacológica, a espécie é associada a propriedades coleréticas, diuréticas e expectorantes, sendo tradicionalmente empregada no tratamento de distúrbios respiratórios, inflamatórios e digestivos (Viegas et al., 2014; Ninčević et al., 2019).

Sua relevância decorre da capacidade de produzir uma ampla gama de compostos bioativos, notadamente um óleo essencial rico em monoterpenos, sesquiterpenos e compostos fenólicos, responsáveis por atividades antioxidantes, anti-inflamatórias e antimicrobianas amplamente descritas na literatura (Kovačević et al., 2021; Furlan; Bren, 2023; Glumac et al., 2023). A crescente demanda por metabólitos secundários de elevado valor comercial tem impulsionado a busca por estratégias inovadoras que otimizem a produtividade e a qualidade funcional de *H. italicum* em sistemas de cultivo.

Nesse contexto, a aplicação de reguladores de crescimento vegetal emerge como uma abordagem promissora para modular processos fisiológicos, morfológicos e bioquímicos nas plantas. Entre esses reguladores, o ácido salicílico (AS) é um sinalizador endógeno crucial, reconhecido por sua atuação na indução de respostas de defesa contra estresses bióticos e abióticos, além de regular aspectos essenciais do crescimento e desenvolvimento vegetal (Klessig et al., 2016; Dempsey; Klessig, 2017; Janda; Szalai; Pál, 2020).

Estudos recentes demonstram que a aplicação exógena de ácido salicílico (AS) pode promover efeitos benéficos em plantas medicinais, estimulando a produção de metabólitos secundários e aumentando a atividade antioxidante. Em *Achillea millefolium* L., por exemplo, a aplicação de 0,50 mM de AS resultou em maior acúmulo de massa seca de raízes, aumento na concentração de compostos fenólicos totais e maior rendimento de óleo essencial, além de elevação da atividade antioxidante (Gorni; Pacheco, 2016). De forma semelhante, em variedades de gengibre (*Zingiber officinale*

Roscoe), o AS induziu a síntese de antocianinas e flavonoides, incluindo fisetina e morina, compostos associados à atividade antioxidante e ao potencial anticancerígeno (Ghasemzadeh; Jaafar; Karimi, 2012). Esses resultados indicam que o AS pode atuar como um elicitador eficaz na valorização de plantas medicinais, promovendo o acúmulo de compostos bioativos de interesse farmacológico. Essa modulação do metabolismo secundário não apenas eleva a concentração de substâncias bioativas, aumentando o valor econômico da matéria-prima, mas também fortalece os mecanismos naturais de defesa das plantas, contribuindo para a mitigação dos efeitos de estresses ambientais e para a otimização de processos fisiológicos e metabólicos (Khan et al., 2015; Rivas-San Vicente; Plasencia, 2011).

A melatonina (ME), por sua vez, tem emergido como um regulador multifuncional em plantas, desempenhando importante papel na proteção contra estresse oxidativo, fotoproteção e modulação de diversos processos fisiológicos e metabólicos, especialmente sob condições de estresse hídrico e salino (Arnao; Hernández-Ruiz, 2019; Hardeland, 2021). Estudos demonstram que a aplicação exógena de melatonina pode melhorar a eficiência fisiológica e bioquímica em diferentes espécies vegetais, estimulando a biossíntese de antioxidantes não enzimáticos, incluindo carotenoides, além de modular mecanismos relacionados à redistribuição de fotoassimilados e à intensificação da produção de metabólitos secundários envolvidos na defesa e adaptação ao estresse (Hassan et al., 2022; Arnao; Hernández-Ruiz, 2020).

Considerando os papéis distintos e potencialmente complementares do ácido salicílico (AS) e da melatonina (ME), a aplicação isolada ou combinada desses reguladores representa uma estratégia promissora para melhorar o desempenho fisiológico e a qualidade dos metabólitos em *H. italicum*. No entanto, apesar do crescente número de estudos envolvendo esses elicitores em diferentes espécies vegetais, ainda existe uma lacuna significativa quanto à compreensão dos efeitos sinérgicos ou antagônicos decorrentes da aplicação combinada desses compostos, especialmente em *H. italicum*. Além disso, são escassos os estudos que avaliam, de forma integrada, os impactos desses reguladores sobre o crescimento, a produtividade e a modulação do perfil fitoquímico da espécie. Essa lacuna é relevante, pois *H. italicum* apresenta importância econômica e farmacológica, demandando abordagens que conciliem rendimento, qualidade e sustentabilidade. Nesse contexto, investigações voltadas à modulação

fisiológica da espécie por meio da elicitación apresentam caráter inovador e relevante.

Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos fisiológicos, morfológicos e bioquímicos da aplicação de ácido salicílico e melatonina, isoladamente ou em combinação, em plantas de *H. italicum*. Busca-se, com esta pesquisa, compreender suas respostas integradas e elucidar o potencial uso desses reguladores em sistemas de cultivo funcional, contribuindo para a maximização da qualidade e produtividade dos compostos bioativos dessa importante espécie.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Material vegetal

O experimento foi conduzido com sementes de *H. italicum* da marca ISLA®. As sementes foram semeadas em bandejas de polipropileno com 96 células e mantidas sob rega diária. Após 30 dias, as plântulas foram transplantadas para vasos de polipropileno com capacidade de 1 L, contendo substrato comercial Carolina Soil® (composto por turfa canadense e/ou europeia, perlita expandida, vermiculita expandida e casca de arroz carbonizada). As plantas foram mantidas em câmara de crescimento sob temperatura de  $25 \pm 2$  °C, intensidade luminosa de  $200 \mu\text{mol m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , umidade relativa de  $60 \pm 5\%$  e fotoperíodo de 16 horas, durante 120 dias.

Os tratamentos (Tabela 1) consistiram em pulverizações semanais com 10 mL de ácido salicílico (AS), iniciadas aos 80 dias após o transplântio, na concentração de  $100 \text{ mg mL}^{-1}$ , conforme metodologia descrita por Shemi et al. (2021). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com oito repetições por tratamento. A rega foi realizada diariamente com água deionizada e, semanalmente, com solução nutritiva de Hoagland (Hoagland & Arnon, 1950). A colheita foi realizada aos 120 dias.

**Tabela 1** – Tratamentos aplicados em *H. italicum*.

| Tratamento | Descrição                                          |
|------------|----------------------------------------------------|
| T1         | Controle                                           |
| T2         | Ácido Salicílico (AS) – 100 mg mL <sup>-1</sup>    |
| T3         | Melatonina (ME) – 100 mg mL <sup>-1</sup>          |
| T4         | AS + ME – 100 mg mL <sup>-1</sup> de cada composto |

## 2.2 Análises de crescimento

As variáveis de crescimento analisadas incluíram a massa fresca (g) e o comprimento (cm) das partes aéreas e radiculares, mensurados imediatamente após o corte. A massa fresca foi determinada com o auxílio de balança analítica. O diâmetro do caule (cm) foi mensurado utilizando paquímetro digital. As análises foram realizadas com oito repetições biológicas.

## 2.3 Dano à membrana plasmática

O dano à membrana plasmática (DM%) foi determinado a partir de folhas frescas, utilizando um condutivímetro elétrico portátil (ITMCA 150P®, Piracicaba, Brasil), conforme metodologia descrita por Wang et al. (2005) e Silveira et al. (2001). A análise foi realizada com três repetições biológicas em triplicata, aplicando-se a equação 1:

$$DM\% = \left(\frac{L1}{L2}\right) \times 100 \quad (1)$$

onde:

L1: condutividade elétrica inicial do extrato (μS cm<sup>-1</sup>);

L2: condutividade elétrica final do extrato (μS cm<sup>-1</sup>);

## 2.4 Teor relativo de água

O teor relativo de água (TRA) foi determinado segundo Schonfeld et al. (1988), utilizando-se folhas frescas. As amostras foram pesadas para obtenção da massa fresca (MF), imersas em água destilada por 24 h para obtenção da massa após hidratação (PM), e, em seguida, secas em estufa a 65 °C até a massa constante (MS). O TRA foi calculado por meio da equação 2.

$$TRA(\%) = \frac{(MF-MS)}{(PM-MS)} \times 100 \quad (2)$$

O TRA expressa a quantidade de água presente no tecido (MF – MS) em relação à sua capacidade máxima de retenção (PM – MS). O TRA é apresentado em porcentagem (%) e indica o grau de hidratação da amostra em relação à sua capacidade máxima de retenção de água. Em que:

Onde:

TRA: Teor relativo de água (%);

MF: Massa fresca (g);

MS: Massa seca (g);

PM: Massa da amostra após hidratação (g);

## 2.5 Avaliação morfolométrica e condutância estomática

A avaliação da morfometria estomática seguiu a metodologia descrita por Segatto et al. (2004), empregando a técnica de impressão de lâmina com cianoacrilato de etila. As imagens do material vegetal foram obtidas em microscópio óptico (Olympus BX-60®, Tóquio, Japão), utilizando objetivas de 10× e 40×, e o software MoticImages Plus 2.0. As análises foram realizadas na superfície adaxial e abaxial das folhas. Foram avaliados a densidade estomática ( $n \text{ mm}^{-2}$ ), diâmetro polar ( $\mu\text{m}$ ), diâmetro equatorial ( $\mu\text{m}$ ) e área

(mm<sup>2</sup> cm<sup>-2</sup>). A contagem das células-guarda estomáticas, contidas em cada área (escala de 100 µm) do material vegetal, foi realizada em 10 áreas distintas das folhas, com três repetições biológicas, por meio do software ImageJ (National Institutes of Health).

## 2.6 Compostos Fenólicos Totais

A análise dos compostos fenólicos totais foi realizada seguindo a metodologia de Swain e Hills (1959) a partir de 500 mg de folhas frescas. As amostras foram colocadas em ambiente protegido da luminosidade durante 60 minutos e após foi realizada a leitura em espectrofotômetro 700 Plus (FEMTO®, São Paulo, Brasil) com uma absorbância de 760 nm. Para a obtenção da curva de calibração foi utilizado ácido gálico nas concentrações de 50, 100, 150, 200, 250 e 300 mg L<sup>-1</sup>, a qual foi obtida a seguinte equação ( $y = 0,0036x - 0,0995$  e  $R^2 = 0,9878$ ) onde  $y$  = concentração de ácido gálico,  $x$  é a absorbância em 769 e  $R^2$  é o coeficiente de correlação. O resultado foi expresso em g fenol g<sup>-1</sup> MF. A análise foi realizada com três repetições biológicas em triplicata.

## 2.7 DPPH

A determinação de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) foi realizada conforme metodologia de Brand-Williams et al. (1995), modificada por Sánchez-Moreno et al. (1998), a partir de 1,0 g de folhas frescas. A curva de calibração foi construída nas concentrações de 10, 20, 30, 40, 50 e 60 µM de DPPH, obtendo-se a equação ( $y = 0,0277x + 0,3935$ ;  $R^2 = 0,91$ ), em que  $y$  corresponde à concentração de DPPH e  $x$  à absorbância a 515 nm. As amostras foram lidas a 515 nm em espectrofotômetro 700 Plus (FEMTO®, São Paulo, Brasil), e os resultados foram expressos em µM de DPPH consumido por g de massa fresca (µM DPPH g<sup>-1</sup> MF). A análise foi realizada com três repetições biológicas em triplicata.



## 2.8 Extração do óleo essencial

A obtenção do OE de *H. italicum* foi realizada conforme metodologia de Ribeiro et al. (2010). O processo de extração foi realizado por hidrodestilação. Para isso, 100 g L<sup>-1</sup> de folhas frescas permaneceram por três horas em aparelho Clevenger modificado. O óleo obtido foi retirado do equipamento utilizando solvente *n*-hexano, e em seguida foi filtrado em sulfato de sódio anidro (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) mantido sob refrigeração a -4 °C até a completa evaporação do solvente (Brasil, 2010). O rendimento do óleo essencial foi calculado pela massa do óleo essencial (g) dividido pela massa das folhas secas (g) da planta e expresso em porcentagem.

## 2.9 Análise estatística

O ensaio foi conduzido em delineamento estatístico inteiramente casualizado (DIC) com quatro tratamentos e oito repetições por tratamento. Os dados obtidos a partir das análises de crescimento e atividade bioquímica foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas com teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ), utilizando o programa estatístico SISVAR versão 5.6 (Ferreira, 2011).

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 2 apresenta os efeitos dos tratamentos no crescimento de *H. italicum*. Observa-se aumento significativo da massa fresca da parte aérea com ácido salicílico (AS), atingindo 16,35 g, em comparação ao controle (11,66 g), sugerindo um estímulo ao crescimento vegetativo. Esse resultado está de acordo com observações de Klessig et al. (2016), que relatam a capacidade do AS em modular a produção de biomassa e ativar respostas hormonais associadas ao crescimento.

**Tabela 2.** Efeito da aplicação de ácido salicílico e melatonina no crescimento de *H. italicum*..

| Trat.           | Massa fresca (g) |               | Comprimento (cm) |               | Diâmetro do caule (mm) |
|-----------------|------------------|---------------|------------------|---------------|------------------------|
|                 | Parte aérea      | Raízes        | Parte aérea      | Raízes        |                        |
| <b>Controle</b> | 11,66 ± 2,20b    | 12,78 ± 1,25a | 25,12 ± 1,86a    | 26,37 ± 1,25a | 3,41 ± 0,24a           |
| <b>AS</b>       | 16,35 ± 1,78a    | 8,76 ± 0,57b  | 26,11 ± 2,01a    | 20,00 ± 1,17b | 3,33 ± 0,37a           |
| <b>ME</b>       | 14,36 ± 1,02ab   | 8,95 ± 1,47b  | 24,12 ± 2,52a    | 17,50 ± 2,41b | 3,03 ± 0,41a           |
| <b>AS+ME</b>    | 15,51 ± 0,58ab   | 5,55 ± 1,29b  | 25,37 ± 1,97a    | 18,31 ± 1,39b | 3,45 ± 0,29a           |

Os valores correspondem às médias ± desvio padrão (n=6). Médias seguidas por letras diferentes na linha, indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

O tratamento com melatonina (ME) também elevou a massa da parte aérea (14,36 g), embora sem diferença estatística significativa em relação ao controle. Estudos apontam que a ME atua como regulador de crescimento em condições não estressantes, promovendo metabolismo equilibrado e tolerância a estresses oxidativos (Arnao & Hernández-Ruiz, 2019).

No entanto, todos os tratamentos com reguladores reduziram o crescimento radicular, especialmente a combinação AS+ME (5,55 g), sugerindo uma redistribuição do metabolismo primário em favor da parte aérea. Esse redirecionamento tem sido associado à modulação da alocação de recursos fisiológicos induzida pelo ácido salicílico, caracterizada pela redistribuição de fotoassimilados para a parte aérea e pela priorização de rotas metabólicas secundárias relacionadas à defesa, em detrimento do crescimento radicular (Li et al., 2021).

Os dados de comprimento e diâmetro do caule não apresentaram diferenças significativas, indicando que os reguladores atuam mais na biomassa do que na arquitetura das plantas. Esses resultados indicam que tanto o AS quanto a melatonina podem modular o crescimento vegetativo de *H. italicum*, com ênfase no estímulo à biomassa foliar, especialmente com AS. Tal característica pode ser vantajosa em contextos produtivos que visam à extração de compostos bioativos presentes nas folhas (Klessig; Choi; Dinh, 2016; Arnao; Hernández-Ruiz, 2014).

Na Tabela 3, observa-se que o índice de clorofila foi mais elevado no controle (37,94), sendo reduzido principalmente pela combinação AS+ME (26,06). Essa redução pode estar relacionada a alterações fisiológicas induzidas pelos reguladores vegetais sobre

a dinâmica fotossintética e o metabolismo antioxidante, afetando a estabilidade dos pigmentos fotossintéticos e a funcionalidade dos cloroplastos, conforme descrito em estudos envolvendo melatonina e respostas ao estresse em plantas (ZHANG et al., 2015; ZHANG et al., 2020).

**Tabela 3.** Índice de clorofila, teor relativo de água (TRA) (%) e dano à membrana plasmática (DM) (%) de *H. italicum*.

| Tratamentos     | Clorofila      | TRA (%)       | DM (%)        |
|-----------------|----------------|---------------|---------------|
| <b>Controle</b> | 37,94 ± 1,05a  | 70,50 ± 2,94a | 41,23 ± 1,69d |
| <b>AS</b>       | 31,91 ± 2,42ab | 52,48 ± 3,02b | 58,46 ± 2,78a |
| <b>ME</b>       | 34,80 ± 1,94ab | 66,42 ± 1,85a | 51,41 ± 2,15b |
| <b>AS+ME</b>    | 26,06 ± 2,17b  | 70,48 ± 2,47a | 47,45 ± 1,74c |

Os valores correspondem às médias ± desvio padrão (n=8). Médias seguidas por letras diferentes indicam diferenças estatísticas pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

O teor relativo de água (TRA) foi mantido com ME (66,42%) e AS+ME (70,48%), similar ao controle (70,50%), evidenciando a função da melatonina na proteção contra desidratação. Em contraste, AS isolado reduziu significativamente esse teor (52,48%), indicando possível aumento na perda de água ou menor capacidade de retenção, como descrito por Shemi et al. (2021).

Quanto ao dano à membrana plasmática (DM%), o AS isolado foi o mais prejudicial (58,46%), enquanto o controle apresentou os menores níveis de dano (41,23%). A melatonina, isolada (51,41%) ou combinada (47,45%), mitigou o estresse oxidativo, comportamento consistente com sua função antioxidante (Arnao & Hernández-Ruiz, 2020).

De forma geral, os resultados fisiológicos indicam que a melatonina tem papel protetor frente ao estresse celular e hídrico, enquanto o ácido salicílico pode comprometer esses aspectos quando aplicado isoladamente, reforçando seu potencial como agente de defesa, porém com efeitos colaterais indesejáveis sob certas condições (Klessig; Choi; Dinh, 2016).

As Tabelas 4 e 5 evidenciam os efeitos dos tratamentos sobre a morfologia estomática nas faces adaxial e abaxial. O AS e a ME aumentaram a densidade estomática em ambas as faces, e AS+ME apresentou efeito intermediário. No entanto, a área

estomática foi reduzida com AS, especialmente nas folhas adaxiais, o que pode comprometer as trocas gasosas e, consequentemente, a eficiência fotossintética (Klessig et al., 2016).

**Tabela 4.** Morfometria dos estômatos em folhas adaxiais de *H. italicum*.

| Trat.    | Densidade<br>(n/μm <sup>2</sup> ) | Bolsa de óleo<br>(n/μm <sup>2</sup> ) | Comprimento<br>(μm) | Largura<br>(μm) | Área (μm <sup>2</sup> ) |
|----------|-----------------------------------|---------------------------------------|---------------------|-----------------|-------------------------|
| Controle | 4,20±0,43b                        | 3,00±0,14a                            | 34,63±2,26a         | 28,39±1,12a     | 987327,67±35,01a        |
| AS       | 5,50±1,12b                        | 3,00±0,43a                            | 30,11±1,97b         | 21,23±2,31b     | 573302,66±25,02c        |
| ME       | 5,50±0,65b                        | 2,52±0,28ab                           | 31,18±1,53ab        | 25,84±2,32a     | 738016,33±27,21b        |
| AS+ME    | 4,63±0,55ab                       | 2,05±0,75b                            | 32,06±1,24ab        | 20,36±1,44b     | 525425,67±29,61c        |

Os valores correspondem às médias ± desvio padrão (n=6). Médias seguidas por letras diferentes na linha, indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 5.** Morfometria dos estômatos em folhas abaxiais de *H. italicum*.

| Trat.    | Densidade<br>(n/μm <sup>2</sup> ) | Bolsa de óleo<br>(n/μm <sup>2</sup> ) | Comprimento<br>(μm <sup>2</sup> ) | Largura<br>(μm <sup>2</sup> ) | Área<br>(μm <sup>2</sup> ) |
|----------|-----------------------------------|---------------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|----------------------------|
| Controle | 3,02 ± 0,37b                      | 1,13 ± 1,14 b                         | 37,07 ± 3,66 a                    | 29,38 ± 1,16a                 | 1059697,33 ± 21,63 a       |
| AS       | 5,66 ± 0,67a                      | 2,33 ± 1,75 b                         | 32,97 ± 1,97 ab                   | 26,39 ± 1,27 b                | 776308,67 ± 24,52 b        |
| ME       | 5,33 ± 1,54a                      | 3,33 ± 1,34 ab                        | 31,56 ± 1,50 b                    | 25,61 ± 2,14 b                | 844628,33 ± 27,83 b        |
| AS+ME    | 3,33 ± 0,79b                      | 4,66 ± 1,03 a                         | 32,87 ± 2,24 ab                   | 25,71 ± 1,24 b                | 880441,01 ± 24,01 ab       |

Os valores correspondem às médias ± desvio padrão (n=10). Médias seguidas por letras diferentes indicam diferenças estatísticas em  $p < 0,05$  pelo teste de Tukey.

A densidade de bolsas de óleo essencial aumentou na face abaxial no tratamento AS+ME (4,66), o que poderia indicar maior potencial para biossíntese e armazenamento de metabólitos secundários. Contudo, esse aumento não se refletiu diretamente no rendimento do óleo essencial (Tabela 6), que apresentou redução drástica nesse tratamento (0,01%). Esse aparente paradoxo sugere que a aplicação combinada dos elicitores promoveu um redirecionamento metabólico dos recursos celulares para mecanismos de defesa antioxidante e adaptação ao estresse, comprometendo a síntese e o acúmulo final de compostos voláteis terpênicos. Além disso, níveis excessivos de elicitação podem desencadear estresse fisiológico capaz de limitar o fluxo metabólico

direcionado à produção de óleo essencial, mesmo na presença de estruturas secretoras mais numerosas (RAMÍREZ-ESTRADA et al., 2016; THAKUR et al., 2019).

A atividade antioxidante (DPPH) apresentou valores significativamente mais elevados no tratamento AS+ME (52,77%) em relação aos demais grupos, indicando um efeito sinérgico na ativação das vias de defesa antioxidante. (52,77%), reforçando a ação sinérgica na ativação de vias de defesa. Compostos fenólicos também foram ligeiramente superiores neste grupo (616,58  $\mu\text{g g}^{-1}$ ), embora sem diferença significativa. Os teores de  $\beta$ -caroteno foram mais elevados nos tratamentos com ME (90,43%) e AS+ME (85,62%), corroborando a literatura quanto à capacidade da melatonina em estimular a biossíntese de carotenoides. Esse efeito pode ser atribuído à ativação da via dos isoprenoides nos plastídeos, à regulação positiva de genes-chave da rota biossintética e à proteção do aparato fotossintético contra estresse oxidativo, favorecendo o acúmulo de pigmentos com função fotoprotetora (Brunetti et al., 2015).

A Tabela 6 também demonstra que a aplicação combinada de AS e ME promoveu um aumento expressivo na atividade antioxidante (52,77%), superando significativamente os demais grupos, o que reforça o potencial sinérgico desses reguladores na indução de compostos de defesa. Apesar disso, os compostos fenólicos totais não apresentaram diferenças estatísticas marcantes entre os tratamentos, embora AS+ME tenha alcançado o maior valor numérico (616,58  $\mu\text{g ácido gálico g}^{-1}$ ), o que pode indicar uma tendência de acúmulo quando há interação entre os reguladores.

**Tabela 6.** Atividade antioxidante de radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) (%), compostos fenólicos ( $\mu\text{g ácido gálico. G de massa Fresca}$ ),  $\beta$ -caroteno (%) e rendimento do óleo essencial de *H. italicum*.

| Trat.    | DPPH (%)          | Compostos<br>fenólicos<br>( $\mu\text{g Ácido gálico.}$<br>$\text{g MF}^{-1}$ ) | $\beta$ -caroteno (%) | Rendimento<br>Óleo Essencial<br>(%) |
|----------|-------------------|---------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|-------------------------------------|
| Controle | 33,78 $\pm$ 1,33b | 606,02 $\pm$ 10,14ab                                                            | 61,29 $\pm$ 4,66b     | 0,96 $\pm$ 0,01a                    |
| AS       | 32,15 $\pm$ 2,76b | 594,83 $\pm$ 31,43a                                                             | 56,58 $\pm$ 17,97b    | 0,98 $\pm$ 0,02a                    |
| ME       | 35,54 $\pm$ 3,65  | 604,42 $\pm$ 10,28ab                                                            | 90,43 $\pm$ 13,50a    | 0,94 $\pm$ 0,01a                    |
| AS+ME    | 52,77 $\pm$ 7,55a | 616,58 $\pm$ 12,75a                                                             | 85,62 $\pm$ 7,24a     | 0,01 $\pm$ 0,01a                    |

Os valores correspondem às médias  $\pm$  desvio padrão (n=3). Médias seguidas por letras diferentes na linha, indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Os níveis de  $\beta$ -caroteno foram superiores nos tratamentos com ME isolada (90,43%) e AS+ME (85,62%), em comparação ao controle (61,29%), conforme determinado por métodos baseados na extração orgânica de pigmentos e posterior quantificação por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), técnica amplamente empregada na análise de carotenoides vegetais (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA, 2004). Esse aumento evidencia a capacidade da melatonina, isoladamente ou em associação, de estimular a biossíntese de antioxidantes não enzimáticos relacionados à fotoproteção e à estabilidade oxidativa celular, incluindo carotenoides e compostos fenólicos (DEBNATH et al., 2022; ARNAO; HERNÁNDEZ-RUIZ, 2019).

Em contrapartida, o rendimento do óleo essencial (OE), embora estável nos tratamentos individuais (controle: 0,96%; AS: 0,98%; ME: 0,94%), apresentou queda acentuada na combinação AS+ME (0,01%). Essa discrepância entre a densidade de bolsas secretoras e a produção efetiva de óleo sugere que a resposta metabólica induzida pela aplicação combinada dos reguladores promoveu um redirecionamento de recursos metabólicos, incluindo carbono, energia e precursores biossintéticos, para rotas relacionadas à defesa antioxidante e à adaptação ao estresse, em detrimento da via dos terpenoides responsável pela biossíntese de compostos voláteis. Esse desbalanço metabólico pode comprometer a acumulação de óleo essencial mesmo na presença de estruturas secretoras ativas, afetando diretamente sua produção (RAMÍREZ-ESTRADA et al., 2016; THAKUR et al., 2019).

Portanto, os efeitos dos reguladores variaram conforme o parâmetro avaliado. A melatonina demonstrou-se mais eficaz na proteção fisiológica, enquanto o ácido salicílico, apesar de estimular o crescimento, gerou maior estresse oxidativo. A combinação, embora benéfica para compostos antioxidantes, comprometeu a produção do OE.

#### 4. CONCLUSÃO

A aplicação de AS e ME, isoladamente ou em combinação, promoveu alterações expressivas nos parâmetros fisiológicos, morfológicos e bioquímicos de *Helichrysum*

*italicum*, evidenciando respostas dependentes do tipo de regulador e da interação entre eles. O AS destacou-se pela promoção do crescimento da parte aérea; entretanto, sua aplicação isolada esteve associada a custos fisiológicos, evidenciados pelo aumento do dano à membrana plasmática e pela redução do teor relativo de água.

Em contrapartida, a ME apresentou efeito citoprotetor consistente, preservando a integridade das membranas e a homeostase hídrica, além de induzir o acúmulo de compostos antioxidantes, com destaque para o  $\beta$ -caroteno. Esses resultados reforçam seu papel na mitigação de estresses e na modulação positiva do metabolismo antioxidante.

A aplicação combinada de AS e ME influenciou positivamente a atividade antioxidante e os teores de  $\beta$ -caroteno. Entretanto, o tratamento também ocasionou redução expressiva no rendimento do óleo essencial, sugerindo alterações no direcionamento metabólico da espécie.

Diante disso, a seleção e o manejo de reguladores de crescimento devem ser criteriosamente ajustados aos objetivos produtivos, considerando os *trade-offs* entre crescimento, qualidade funcional e rendimento de metabólitos específicos. Em conjunto, os achados deste estudo ampliam a compreensão dos efeitos de AS e ME em plantas medicinais e fornecem bases para o uso estratégico desses reguladores em sistemas de cultivo mais eficientes, sustentáveis e orientados à maximização do valor bioativo de *H. italicum*.

## 5. REFERÊNCIAS

- AHMAD, P; SARWAT, M; SHARMA, S. Oxidative damage and antioxidant defense in plants under stress. In: AHMAD, Parvaiz; PRASAD, M. N. V. (ed.). *Environmental adaptations and stress tolerance of plants in the era of climate change*. **New York: Springer**, 2012. p. 19–53. DOI: [https://doi.org/10.1007/978-1-4614-0815-4\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-0815-4_2).
- ARNAO, M. B.; HERNÁNDEZ-RUIZ, J. Melatonin: a new plant hormone and/or a plant master regulator? **Trends in Plant Science**, v. 24, n. 1, p. 38–48, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.10.010>.
- ARNAO, M. B.; HERNÁNDEZ-RUIZ, J. Melatonin in flowering, fruit set and fruit ripening. **Plant Reproduction**, v. 33, p. 77–87, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00497-020-00388-8>.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, London, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.
- BRASIL. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Instrução Normativa nº 19, de 24 de maio de 2010. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, n. 100, p. 5, 27 maio 2010.
- DEMPSEY, D. A.; KLESSIG, D. F. How does the multifaceted plant hormone salicylic acid combat disease in plants and are similar mechanisms utilized in humans? **BMC Biology**, London, v. 15, art. 23, 2017. DOI: 10.1186/s12915-017-0364-8.
- FERREIRA, D. F. SISVAR: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.
- GHASEMZADEH, A.; JAAFAR, H. Z. E.; KARIMI, E. Involvement of salicylic acid on antioxidant and anticancer properties, anthocyanin production and chalcone synthase activity in ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) varieties. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, n. 11, p. 14828-14844, 2012. DOI: 10.3390/ijms131114828.
- GORNI, P. H.; PACHECO, A. C. Growth promotion and elicitor activity of salicylic acid in *Achillea millefolium* L. **African Journal of Biotechnology**, v. 15, n. 16, p. 657–665, 2016. DOI: 10.5897/AJB2016.15320



GLUMAC, M.; JAŽO, Z.; PAŠTAR, V.; GOLEMAC, A.; ČIKEŠ ČULIĆ, V.; BEKTIĆ, S.; RADAN, M.; CAREV, I. Chemical Profiling and Bioactivity Assessment of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don. Essential Oil: Exploring Pure Compounds and Synergistic Combinations. **Molecules**, Basel, v. 28, n. 14, p. 5299, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules28145299>

HARDELAND, R. Melatonin in plants – diversity of levels and multiplicity of functions. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, p. 661566, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.661566>.

HASSAN, M. U.; MAHMOOD, A.; AWAN, M. I.; MAQBOOL, R.; AAMER, M.; ALHAITHLOUL, H. A. S.; HUANG, G.; SKALICKY, M.; BRESTIC, M.; PANDEY, S.; EL SABAGH, A.; QARI, S. H. Melatonin-induced protection against plant abiotic stress: mechanisms and prospects. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, art. 902694, 2022. DOI: 10.3389/fpls.2022.902694.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. *The water-culture method for growing plants without soil*. 2. ed. Berkeley: **California Agricultural Experiment Station**, 1950. 32 p. (California Agricultural Experiment Station Circular, 347).

JANDA, T.; SZALAI, G.; PÁL, M. Salicylic acid signalling in plants. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 21, n. 7, art. 2655, 2020. DOI: 10.3390/ijms21072655.

KHAN, M. I. R.; FATMA, M.; PER, T. S.; ANJUM, N. A.; KHAN, N. A. Salicylic acid-induced abiotic stress tolerance and underlying mechanisms in plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 462, 2015. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00462>.

KLESSIG, Daniel F.; CHOI, Hye-Sook; DEMPSEY, D'Maris A. C. Systemic acquired resistance and salicylic acid: past, present, and future. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 56, p. 95-117, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080417-045428>

KLESSIG, D. F.; TIAN, M.; CHOI, H. W. Multiple targets of salicylic acid and its derivatives in plants and animals. **Frontiers in Immunology**, Lausanne, v. 7, art. 206, 2016. DOI: 10.3389/fimmu.2016.00206.

LI, T. et al. Melatonin enhances cold tolerance by regulating energy and proline

metabolism in pepper seedlings. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 286, 110197, 2021.

NINČEVIĆ, T.; GRDIŠA, Mira; ŠATOVIĆ, Zlatko; JUG-DUJAKOVIĆ, Marija. *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don: Taxonomy, biological activity, biochemical and genetic diversity. **Industrial Crops and Products**, v. 138, p. 111487, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111487>.

RIBEIRO, A. S. et al. Óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas em função do horário de colheita e período de secagem da planta. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 5, p. 1113-1119, 2010.

RIGANO, D. et al. Chemical composition and bioactivities of essential oils of *Helichrysum italicum*. **Molecules**, Basel, v. 28, n. 3, p. 1225, 2023.

RIVAS-SAN VICENTE, M.; PLASENCIA, J. Salicylic acid beyond defence: its role in plant growth and development. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 62, n. 10, p. 3321-3338, 2011.

SALA, A. et al. The essential oil of *Helichrysum italicum*: composition, activities, and applications. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 279, 114362, 2021.

SÁNCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J. A.; SAURA-CALIXTO, F. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 76, n. 2, p. 270-276, 1998.

SCHÖNFELD, M. A.; JOHNSON, R. C.; CARVER, B. F.; MORNHINWEG, D. W. Water relations in winter wheat as drought resistance indicators. **Crop Science**, Madison, v. 28, n. 3, p. 526-531, 1988.

SHEMI, R.; WANG, R.; GHEITH, E. M. S.; HUSSEIN, H. A.; EL-SANATY, A. M.; GHANEM, H. Z.; EL-SABAGH, A.; BORRELLI, G. M.; AKHTAR, S. S. Exogenous salicylic acid enhances physiological and biochemical tolerance in wheat under drought stress. **Agronomy**, Basel, v. 11, p. 782, 2021.

SILVEIRA, J. A. G.; VIÉGAS, R. A.; ROCHA, I. M. A.; MOREIRA, A. C. O.; MOREIRA, R. A.; OLIVEIRA, J. T. A. Plasma membrane damage and accumulation of free proline in cowpea leaves under NaCl-stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 46, n. 3, p. 249-257, 2001.

SWAIN, T.; HILLIS, W. E. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 10, n. 1, p. 63-68, 1959.

VIEGAS, D. A; PALMEIRA-DE-OLIVEIRA, A; SALGUEIRO, L; MARTINEZ-DE-OLIVEIRA, J; PALMEIRA-DE-OLIVEIRA, R. *Helichrysum italicum*: from traditional use to scientific data. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 151, n. 1, p. 54-65, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.11.005>.

WANG, L. J.; FAN, L.; LO, W.; SHI, Y.; DENG, K.; YANG, C.; ZHANG, M. Responses of antioxidant system in cucumber leaves to exogenous salicylic acid. **Russian Journal of Plant Physiology**, Moscow, v. 52, p. 729-734, 2005.

WANG, W. et al. Melatonin enhances drought tolerance in soybean seedlings through modulation of photosynthesis, antioxidative system, and carbohydrate metabolism. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 156, p. 404-415, 2020.

WASEEM, M. et al. Salicylic acid as a global regulatory signal in plants. **Environmental and Experimental Botany**, Amsterdam, v. 212, 105428, 2024.

ZHANG, Ning; SUN, Qi; ZHANG, Hui-Jun; CAO, Yong-Yong; WEEDA, Simon; REN, Su-Xia; GUO, Yong-Dong. Roles of melatonin in abiotic stress resistance in plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 66, n. 3, p. 647–656, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1093/jxb/eru336>.

ZHANG, Ruiqiang; SUN, Yu; LIU, Zhipeng; JIN, Wenbin; SUN, Yutong. Melatonin-mediated regulation of growth and photosynthesis in plants under abiotic stress conditions. **Plants**, v. 9, n. 11, p. 1582, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants9111582>.

ZENG, W.; MOSTAFA, S.; LU, Z.; JIN, B. Melatonin-mediated abiotic stress tolerance in plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, art. 847175, 2022. DOI: 10.3389/fpls.2022.847175.

## **AGRADECIMENTOS**

A autora agradece à **CAPES**, à **Universidade Paranaense (UNIPAR)**, à **Fundação Araucária** e ao **CNPq** pelo apoio financeiro e concessão de bolsas de estudo, que viabilizaram a realização desta pesquisa.

