



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS

IRISLENE CUTRIM ALBUQUERQUE

**EFEITO NO ÁCIDO SALICÍLICO NA MODULAÇÃO DAS RESPOSTAS
ECOFISIOLÓGICAS SOB ESTRESSE SALINO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO
ÓLEO ESSENCIAL DE *Dizygostemon riparius***

São Luís - MA

2025

IRISLENE CUTRIM ALBUQUERQUE

**EFEITO NO ÁCIDO SALICÍLICO NA MODULAÇÃO DAS RESPOSTAS
ECOFISIOLÓGICAS SOB ESTRESSE SALINO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO
ÓLEO ESSENCIAL DE *Dizygostemon riparius***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Estadual do Maranhão como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Agrárias.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Thais Roseli Corrêa
Coorientador: Prof. Dr. Sérgio Heitor Sousa
Felipe

São Luís - MA

2025

IRISLENE CUTRIM ALBUQUERQUE

**EFEITO DO ÁCIDO SALICÍLICO NA MODULAÇÃO DAS RESPOSTAS
ECOFISIOLÓGICAS SOB ESTRESSE SALINO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO
ÓLEO ESSENCIAL DE *Dizygostemon riparius***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Estadual do Maranhão, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Agrárias.

Aprovada em: 24/02/2025

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **THAIS ROSELI CORREA**
Data: 10/03/2025 11:10:41-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^a. Dr^a. Thais Roseli Corrêa – (Orientadora)
Universidade Estadual do Maranhão – UEMA

Documento assinado digitalmente
 **REBECA PATRICIA OMENA GARCIA**
Data: 10/03/2025 10:48:40-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr^a. Rebeca Patrícia Omena Garcia
EMATER - MG

Documento assinado digitalmente
 **JULIANE MACIEL HENSCHEL**
Data: 07/03/2025 11:08:47-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^a. Dr^a. Juliane Maciel Henschel
Universidade Federal da Paraíba – UFPB

São Luís – MA
2025

Albuquerque, Irislène Cutrim.

Efeito do ácido salicílico na modulação das respostas ecofisiológicas sob estresse salino e composição química do óleo essencial de *Dizygostemon riparius*/ Irislène Cutrim Albuquerque. São Luís - MA, 2025.

83 p.

Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) Universidade Estadual do Maranhão - UEMA, 2025.

Orientadora: Profa. Dra Thais Roseli Corrêa.

*A Deus, por suas infinitas bênçãos sobre
a minha vida.*

*Aos meus pais, por todo amor e cuidado
mesmo distantes.*

*Ao meu marido, por todo apoio, amor e
paciência ao longo dos anos.*

AGRADECIMENTOS

À Deus, por seu infinito amor, graça e bondade sobre a minha vida, por nunca me deixar sozinha nessa jornada e me apresentar pessoas realmente maravilhosas que me deram força e animo para continuar quando tudo parecia dá errado.

Aos meus pais, Josélio Lourenço Albuquerque e Maria da Conceição Souza Albuquerque, por todos os sacrifícios realizados a favor dos meus estudos, eu amo vocês.

Ao meu marido Josué Costa Cutrim, por toda compreensão, apoio, respeito e amor ao longo dos anos.

À minha amada orientadora, Thais Roseli Corrêa como agradecer com palavras algo que nem consigo expressar? obrigada por tudo, por ser essa pessoa maravilhosa na minha vida, por toda dedicação, incentivo e cuidado ao longo de todos esses anos, eu desejo um dia ser pelo menos metade da profissional que a senhora é.

À meus queridos amigos que o LCT me deu, Vitoria Karla Moraes, Jordanya Pinheiro, Givago Alves, Aldilene Lima e Sérgio Felipe a vocês todo meu agradecimento, vocês foram muito mais que colegas de trabalho, vocês se mostraram amigos dedicados e eu sou grata a Deus pela vida de cada um de vocês, com certeza a companhia e ajuda de vocês fizeram essa caminhada muito mais leve e divertida, obrigada por acordarem de madrugada para me ajudar, por abrir mão de acordar tarde aos domingos e feriados, por todos os risos e abraços, o meu coração muito se alegra pela vida de cada um de vocês.

Aos melhores PIBIC's da UEMA, Marion Soares, Maria Cristina Silva e Darlyara Silva, por toda ajuda e amizade ao longo desses anos, desde a graduação até aqui, vocês têm um espaço especial no meu coração.

Às Doutoradas Anyela Rios e Priscila Rivas por sempre estarem dispostas a ajudar e contribuir.

À Doutora TÁCILA Marinho, que com toda certeza tem grande contribuição no meu crescimento profissional e por se tornar uma amiga tão especial.

A todo grupo LCT, cada um de vocês tiveram uma contribuição no meu crescimento profissional e pessoal nesses últimos anos.

À minha amiga Vanessa Silva por sua amizade, mensagens de apoio e orações

À Universidade Estadual do Maranhão em especial ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias pela oportunidade de realizar o mestrado.

À secretária do PPGCIAG, Rayanne Ferreira por desempenhar sua função com toda dedicação e sempre está disposta a ajudar os alunos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo.

E a todas as pessoas que de alguma forma contribuíram nesta etapa.

Muito obrigada!

Lista de Figuras

Capítulo II

Figure 1. Phenotypic aspects of 66-day-old *Dizygostemon riparius* plants treated without and with salicylic acid (0 and 100 μM for twenty-one days), and grown under different salinity levels (0, 200, and 400 mM NaCl for six days)43

Figure 2. Chlorophyll *a* fluorescence parameter of 66-day-old *Dizygostemon riparius* plants treated without and with salicylic acid (0 and 100 μM for twenty-one days), and grown under different salinity levels (0, 200, and 400 mM NaCl for six days). Values represent means $\pm$ standard error (n=5). Means between treatments that are not significantly different are not labeled with letters. A) Initial fluorescence – F_0 ; B) Maximum fluorescence – F_m ; C) Variable fluorescence – F_v ; D) Maximum quantum yield of photosystem II – F_v/F_m ; E) Energy absorbed per active reaction center – RC/ABS ; F) Variable fluorescence per initial fluorescence – F_v/F_0 , and G) Performance index – PI.....45

Figure 3. Photosynthetic pigments parameters of 66-day-old *Dizygostemon riparius* plants treated without and with salicylic acid (0 and 100 μM for twenty-one days), and grown under different salinity levels (0, 200, and 400 mM NaCl for six days). Values represent means $\pm$ standard error (n=5). Capital letters compare salinity levels within each salicylic acid treatment, while lowercase letters compare the control and salicylic acid treatment within each salinity level (Skoot-Knot test; $p \leq 0.05$). Means between treatments that are not significantly different are not labeled with letters. A) Chlorophyll *a*; B) Chlorophyll *b*; C) Chlorophyll *a/b*; D) Total chlorophyll; E) Carotenoids; and F) Total chlorophyll/carotenoid.....46

Figure 4. Gas exchange parameters of 66-day-old *Dizygostemon riparius* plants treated without and with salicylic acid (0 and 100 μM for twenty-one days), and grown under different salinity levels (0, 200, and 400 mM NaCl for six days). Values represent means $\pm$ standard error (n=5). Capital letters compare salinity levels within each salicylic acid treatment, while lowercase letters compare the control and salicylic acid treatment within each salinity level (Skoot-Knot test; $p \leq 0.05$). A) Net carbon assimilation – A ; B) Stomatal conductance – g_s ; C) Internal CO_2 concentration – C_i ; D) Transpiration rate – E ; E) Ambient intercellular CO_2 concentration ratio – C_i/C_a ; F) Carboxylation efficiency – A/C_i ; and G) Intrinsic water use efficiency – A/g_s47

Figure 5. Leaf temperature of 66-day-old *Dizygostemon riparius* plants treated without and with salicylic acid (0 and 100 μM for twenty-one days), and grown under different salinity levels (0, 200, and 400 mM NaCl for six days). Values represent means $\pm$ standard error (n=5). Capital letters compare salinity levels within each salicylic acid treatment, while lowercase letters compare the control and salicylic acid treatment within each salinity level (Skoot-Knot test; $p \leq 0.05$). A) Thermal imaging and B) Leaf temperature.....48

Figure 6. Growth and dry mass parameters of 66-day-old *Dizygostemon riparius* plants treated without and with salicylic acid (0 and 100 μM for twenty-one days), and grown under different salinity levels (0, 200, and 400 mM NaCl for six days). Values represent means $\pm$ standard error (n=5). Capital letters compare salinity levels within each salicylic acid treatment, while lowercase letters compare the control and salicylic acid treatment within each salinity level (Skoot-Knot test; $p \leq 0.05$). Means between treatments that are not significantly different are not labeled with letters. A) Length of the aerial part (cm); B) Stem diameter (mm); C) Root length (cm); D) Leaf dry mass (g); E) Stem dry mass (g); F) Root dry mass (g); G) Ratio between dry mass of the aerial part and root; and H) relative rate of leaf water (%).....50

Figure 7. Proline concentration and Total soluble carbohydrates (TSC) in leaves of 66-day-old *Dizygostemon riparius* plants treated without and with salicylic acid (0 and 100 μ M for twenty-one days), and grown under different salinity levels (0, 200, and 400 mM NaCl for six days). Values represent means $\pm$ standard error (n=3). Capital letters compare salinity levels within each salicylic acid treatment, while lowercase letters compare the control and salicylic acid treatment within each salinity level (Skoot-Knot test; $p \leq 0.05$). Means between treatments that are not significantly different are not labeled with letters. A) Proline and B) Total soluble carbohydrates – TSC.....51

Figure 8. Schematic representation of the experimental design: two salicylic acid concentrations (0 and 100 μ M AS) and three salinity concentrations (0, 200 and 400 mM NaCl) on *Dizygostemon riparius*. See further details in the Materials and Methods section.....56

Capítulo III

Figura 1. Porcentagem de eclosão de ovos de *Haemonchus contortus* em função da dose testada. *Dizygostemon riparius* sem ácido salicílico (DR0); *Dizygostemon riparius* com ácido salicílico (DRA).....73

Anexos

Figure S1. Gas exchange parameters and maximum quantum yield of photosystem II of *Dizygostemon riparius* plants treated without and with salicylic acid (0 and 100 μ M for twenty-one days), and grown under different salinity levels (0, 200, and 400 mM NaCl for six days). Values represent means $\pm$ standard error (n=5). A) Net carbon assimilation – A; B) Stomatal conductance – gs; C) Internal CO₂ concentration – Ci; D) Transpiration rate – E; and E) Maximum quantum yield of photosystem II – Fv/Fm.....82

Lista de Tabelas

Capítulo III

Tabela 1. Constituintes dos óleos de *Dizygostemon riparius* com aplicação foliar de ácido salicílico (100 µM) e sem aplicação de ácido salicílico.....71

Tabela 2. Concentração de compostos de *Dizygostemon riparius* tratadas com e sem ácido salicílico.....73

Anexos

Table S1. Macronutrient and micronutrient composition (%) of fertigation solutions Plantpar Red Flex and Blue Flex. Manufacturer's recommendation: Add 4.2 g of Blue Flex and 4.2 g of Red Flex per 10 liters of water.....83

Lista de siglas e abreviações

μg = micrograma	FM = fresh mass
μM = micromole	F_m = maximum fluorescence
A = photosynthetic CO_2 assimilation	FT's = fatores de transcrição
A/C_i = carboxylation efficiency	F_v = variable fluorescence
A/g_s = intrinsic water use efficiency	F_v/F_0 = variable fluorescence per initial fluorescence ratio
AA = ácido ascórbico	F_v/F_m = maximum quantum yield of photosystem II
ABA = ácido abscísico	g = gram
AIB = ácido indolbutírico	GA3 = ácido giberélico
AS = ácido salicílico	GPX = glutathione peroxidase
AS = salicylic acid	g_s = stomatal conductance to water vapor
ASC = ascorbic acid	GSH = reduced glutathione
CA = cuminaldeído	H_2O_2 = hydrogen peroxide
Ca^{2+} = cálcio	IPP = isopentenil pirofosfato
CAT = catalase	JA = ácido jasmonato
CG-EM = Cromatografia de fase gasosa acoplada a Espectrometria de Massas	K^+ = potássio,
C_i = internal CO_2 concentration	LA = ácido lipóico
C_i/C_a = ambient intercellular CO_2 concentration ratio	MEP = metil eritritol fosfato
Cl^- = cloro	Mg^{2+} = magnésio
cm = centimeter	mL = milliliter
CO_2 = dióxido de carbono	mm = millimeter
IC= Concentração inibitória	MVA = ácido mevalônico
DM = dry mass	Na^+ = sódio
DMAPP = dimetilalil pirofosfato	NaCl = Cloreto de sódio
DR0 = <i>Dizygostemon riparius</i> tratada sem ácido salicílico	O_2 = singlet oxygen
DRA = <i>Dizygostemon riparius</i> tratada com ácido salicílico	O_2^- = superoxide anion
E = transpiration rate	OE = Oléos essenciais
EROS = espécies reativas de oxigênio	OH^- = hydroxyl radical
F_0 = initial fluorescence	PAL = fenilalanina amônia-liase
	PI = performance index
	POX = peroxidase

RC/ABS = energy absorbed per active
reaction center

RNA = ácido ribonucleico

ROS = reactive oxygen species

SOD = superoxide dismutase

TM = turgid mass

TSC = Total soluble carbohydrates

Ψ_p = turgor pressure

Ψ_w = leaf water potential

Ψ_π = osmotic potential and

SUMÁRIO

Capítulo I.....	17
1. INTRODUÇÃO	18
2. REFERENCIAL TEÓRICO	19
2.1 <i>Dizygostemon riparius</i> e composição química.....	19
2.2 Salinidade em plantas.....	21
2.3 Biorreguladores.....	24
2.3.1 Ácido Salicílico.....	24
2.4 Óleos Essenciais	26
2.5 <i>Haemonchus contortus</i>	27
REFERÊNCIAS	30
Capítulo II	38
Abstract	39
Resumo	40
1. INTRODUCTION	41
2. RESULTS	43
2.1 Phenotypic aspects of plants	43
2.2 Impact of SA applications on plant ecophysiology during exposure to different salinity levels.....	43
2.3 Impact of SA applications on chlorophyll a fluorescence and photosynthetic pigments after six days of plant under different salinity levels	45
2.4 Impact of SA applications on gas exchange after six days of plant under different salinity levels.....	47
2.5 High salinity affects leaf temperature.....	49
2.6 SA applications and salinity levels affect growth and dry mass.....	50
2.7 Proline and total soluble carbohydrates concentrations in leaves	52
3. DISCUSSION.....	52
4. MATERIALS AND METHODS	55
4.1 Plant material and experimental conditions	55
4.2 Salicylic acid and salinity treatments.....	55
4.3 Chlorophyll a fluorescence and leaf gas exchange.....	56
4.4 Extraction and quantification of photosynthetic pigments	57
4.5 Leaf thermography.....	57
4.6 Relative leaf water content.....	57
4.7 Growth and development analysis	57
4.8 Total carbohydrates concentration in leaf.....	58

4.9	Proline concentration in leaf.....	58
4.10	Experimental design and statistical analysis.....	58
5.	CONCLUSIONS.....	59
	REFERENCES	60
	Capítulo III.....	64
	RESUMO.....	65
	ABSTRACT	66
1.	INTRODUÇÃO	67
2.	METODOLOGIA.....	68
2.1	Material vegetal e cultivo	68
2.2	Aplicação de ácido salicílico	69
2.3	Extração de OE de <i>D. riparius</i>	69
2.4	Análise da composição química.....	69
2.5	Manutenção da cepa de <i>H. contortus</i>	70
2.6	Teste de eclodibilidade de ovos de <i>Haemochus contortus</i>	70
3.	RESULTADOS.....	70
3.1	Análise de composição do óleo essencial.....	70
3.2	Atividade anti-helmíntica.....	72
4.	DISCUSSÃO	73
5.	CONCLUSÃO.....	75
	REFERÊNCIAS	76
	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	80
	Anexos.....	82

Resumo

Dizygostemon riparius é uma planta aromática, endêmica do Cerrado maranhense, que possui compostos bioativos como acetato de endofenquilo, endofenchol, (E)-cariofileno e óxido de cariofileno, que são de grande interesse para as indústrias. Ainda não existem estudos sobre seu comportamento sob estresse salino, que é um grande desafio para a agricultura, pois prejudica o crescimento e a produtividade das plantas. Para mitigar os efeitos do estresse salino nas plantas, biorreguladores como o ácido salicílico (AS), desempenham um papel crucial na regulação do metabolismo, que pode aumentar a produtividade, mitigar os estresses, melhorar a composição química, modular a produção de óleo essenciais (OE) e melhorar a atividade biológica. O OE de *D. riparius* pode oferecer um método de controle alternativo e sustentável a parasitos altamente resistentes ao controle convencional com anti-helmínticos, como o *Haemonchus contortus*, que causa grandes perdas econômicas na ovinocaprinocultura, especialmente em regiões tropicais e subtropicais. Assim, os objetivos deste trabalho foram: (I) Avaliar o efeito do AS (0 e 100 µM) aplicadas via pulverização foliar em *D. riparius* sob três níveis de salinidade (0, 200 e 400 mM de NaCl) e seu impacto em características relacionadas a ecofisiologia e crescimento; (II) Caracterizar a composição química do óleo essencial de *D. riparius* provenientes de plantas pulverizadas com AS (0 e 100 µM); e (III) Avaliar a bioatividade do óleo essencial de *D. riparius* contra *H. contortus*. O primeiro experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado conduzido em um esquema fatorial 2×3 (concentrações de SA: 0 e 100 µM $\times$ concentrações de salinidade: 0, 200 e 400 mM de NaCl) com cinco repetições. Para a composição química dos OEs, as plantas utilizadas no experimento receberam aplicação foliar de AS (100 µM) e água destilada durante seu cultivo em casa de vegetação, após a coleta e secagem das folhas em estufa, os óleos essenciais de *D. riparius* foram extraídos pelo método de hidrodestilação, testado em atividade anti-helmíntica contra *H. contortus* através do teste de eclodibilidade de ovos e encaminhado para análise de composição química. Os resultados demonstraram que a aplicação de AS a 100 µM mitiga alguns dos impactos prejudiciais da salinidade em *D. riparius*, particularmente sob salinidade moderada (200 mM NaCl). Além disso, o óleo essencial de plantas tratadas com AS apresentou alteração na composição química, mas não modificou os principais constituintes. O OE dessa espécie também apresentou atividade contra eclosão de ovos de *H. contortus*, com o AS induzindo maior inibição de eclosão. Assim, a aplicação de AS em *D. riparius* pode ser uma estratégia promissora para a mitigação dos efeitos do estresse salino na produtividade de compostos bioativos, além de modular a composição de seu OE e aumentar a eficiência na inibição da eclosão de ovos de *H. contortus*.

Palavras-chave: Planta aromática, salinidade, *Haemonchus cotortus*, tolerância a salinidade.

Abstract

Dizygostemon riparius is an aromatic plant endemic to the Cerrado biome in the state of Maranhão, Brazil, which contains bioactive compounds such as endo-fenchyl acetate, endo-fenchol, (E)-caryophyllene, and caryophyllene oxide—molecules of great industrial interest. To date, there are no studies on its behavior under salt stress, a major challenge for agriculture as it negatively affects plant growth and productivity. To mitigate the effects of salt stress on plants, bioregulators such as salicylic acid (SA) play a crucial role in regulating metabolism, which can enhance productivity, alleviate stress, improve chemical composition, modulate essential oil (EO) production, and boost biological activity. The EO of *D. riparius* may offer an alternative and sustainable control method against parasites that are highly resistant to conventional anthelmintics, such as *Haemonchus contortus*, which causes significant economic losses in small ruminant farming, especially in tropical and subtropical regions. Therefore, the objectives of this study were: (I) to evaluate the effect of SA (0 and 100 μM), applied via foliar spray, on *D. riparius* under three salinity levels (0, 200, and 400 mM NaCl) and its impact on ecophysiological and growth-related traits; (II) to characterize the chemical composition of *D. riparius* EO from plants sprayed with SA (0 and 100 μM); and (III) to evaluate the bioactivity of *D. riparius* EO against *H. contortus*. The first experiment was conducted in a completely randomized design with a 2×3 factorial scheme (SA concentrations: 0 and 100 μM $\times$ salinity levels: 0, 200, and 400 mM NaCl), with five replicates. For chemical composition analysis, plants received foliar application of SA (100 μM) or distilled water during greenhouse cultivation. After harvesting and oven-drying the leaves, the essential oils were extracted by hydrodistillation, evaluated for anthelmintic activity against *H. contortus* through egg hatch inhibition assays, and subjected to chemical composition analysis. The results showed that the application of 100 μM SA mitigated some of the harmful effects of salinity on *D. riparius*, particularly under moderate salinity (200 mM NaCl). Moreover, the EO from plants treated with SA exhibited changes in chemical composition, although the major constituents remained unchanged. The EO also showed activity against the hatching of *H. contortus* eggs, with SA treatment enhancing egg hatch inhibition. Thus, the application of SA in *D. riparius* may represent a promising strategy for mitigating the adverse effects of salt stress on the productivity of bioactive compounds, while also modulating EO composition and enhancing its efficacy in inhibiting *H. contortus* egg hatching.

Keywords: Aromatic plant, salinity, *Haemonchus contortus*, salinity tolerance

Capítulo I
Introdução e Referencial Teórico

1. INTRODUÇÃO

Dizygostemon riparius é uma espécie da família Plantaginaceae descoberta no Nordeste do Maranhão, que se distingue de *Dizygostemon floribundos* por características como caules tomentosos, sépalas mais longas que o tubo da corola, ovário glandular viloso e folhas maiores (Scatigna et al., 2019). A espécie foi encontrada em habitats periodicamente alagados, como margens de rios e brejos em três municípios maranhenses: Barreirinhas, Primeira Cruz e São Benedito do Rio Preto (Scatigna et al., 2019).

Alguns estudos foram realizados desde a sua catalogação, que demonstram que os compostos presentes nos óleos essenciais da *D. riparius* podem ser usados como fungicida, acaricida e larvicida, sendo, portanto, um produto potencial para combater pragas e doenças (Brandão et al., 2020; Corrêa et al., 2023; Ferreira et al., 2024). Isso demonstra que a espécie tem um grande potencial econômico e social, todavia, são necessários estudos que visem compreender a sua aplicabilidade nas indústrias, e seu comportamento sob estresses abióticos.

Dentre os estresses abióticos, a salinidade é um grande desafio para a agricultura frente aos desafios das mudanças climáticas, pois prejudica o crescimento, desenvolvimento e produtividade das plantas (Mehta; Vyas, 2023). As plantas desenvolvem vários mecanismos de aclimação para lidar com o estresse salino, tais como a acumulação de solutos compatíveis, exclusão de íons, e ativação de genes responsivos ao estresse (Cantabella et al., 2017; Wu et al., 2021; Mehta; Vyas, 2023). Esses mecanismos podem ser desencadeados naturalmente ou com a ajuda de biorreguladores exógenos (Jan et al., 2021; Wu et al., 2021).

Os biorreguladores são compostos orgânicos e inorgânicos, que desempenham um papel fundamental no crescimento e desenvolvimento das plantas (Castro et al., 2009; Zulfiqar et al., 2019). Dentre os biorreguladores utilizados na agricultura, o ácido salicílico (AS) merece destaque, pois a aplicação deste pode influenciar a atividade metabólica das células, mitigar os efeitos deletérios em ambientes estressantes, como solos salinos, aumentar a produtividade das plantas e modular a composição química dos óleos essenciais (Torun et al., 2022; Silva et al., 2024; Santos et al., 2024).

Os óleos essenciais (OEs) são compostos voláteis orgânicos de plantas aromáticas, muito importantes para as indústrias de cosméticos, alimentícia e farmacêutica (Adedamola et al., 2023). Os OEs também podem ser aplicados como controle alternativo para pragas e doenças, a exemplo, o óleo essencial de *Arisaema franchetianum*, *Arisaema lobatum* e *Boswellia dalzielii* que podem ser usados para o controle de *Haemonchus contortus* (Zhu et al., 2013; Abdulazeez et al., 2024).

H. contortus é um nematódeo hematófago de ruminantes, considerado um dos principais helmínticos de regiões de clima tropical e subtropical, e provoca grandes perdas na produção de ovinos e caprinos, por possuir uma alta variabilidade genética e elevada capacidade de resistência a anti-helmínticos comerciais (Sallé et al., 2019; Naeem et al., 2021; Flay et al., 2022; Soliman et al., 2024).

Diante disto, a hipótese do trabalho é que o ácido salicílico exógeno pode ser uma estratégia eficaz para mitigar o estresse salino em *D. riparius*, além de modular a composição química do OE, elevar a sua bioatividade e aumentar a produção de outros compostos de grande interesse industrial. Assim, os objetivos do trabalho foram: (I) avaliar o efeito do AS via pulverização foliar em *D. riparius* sob três níveis de salinidade (0, 200 e 400 mM de NaCl) e seu impacto na ecofisiologia e crescimento das plantas; (II) caracterizar a composição química do óleo essencial de *D. riparius* sem e com aplicação de ácido salicílico (0 e 100 µM); e (III) avaliar sua atividade anti-helmíntica contra *H. contortus*.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 *Dizygostemon riparius* e composição química

A flora brasileira é muito rica e diversa, com inúmeras espécies que possuem grande potencial para serem exploradas comercialmente em indústrias farmacêutica, terapêutica, alimentícia entre outras, porém, devido a essa diversidade ainda há espécies para serem descobertas e conservadas (Bezerra et al., 2022). O Cerrado brasileiro se destaca por sua vasta extensão e biodiversidade, e representa cerca de 5% da diversidade biológica do planeta, além disso, o Cerrado possui o maior número de plantas endêmicas em comparação com outras áreas do mundo, e abriga 44% da biodiversidade da flora nativa do Brasil, muitas destas plantas têm propriedades medicinais e contribuem para os serviços ecossistêmicos (Vargem et al., 2024).

As plantas medicinais produzem os metabólitos secundários como mecanismo de defesa e aclimação ao ambiente, esses compostos bioativos são estimulados em resposta a estresses, e são de grande importância para desenvolvimento de novos produtos, como medicamentos, aditivos e óleos essenciais (Anjitha et al., 2021). Apesar do Brasil ter um grande potencial para produção de óleos essenciais, devido a diversidade da flora, falta investimento em pesquisas que contribuirão para o desenvolvimento de óleos essenciais de alto padrão de qualidade (Bieski et al., 2022; Carvalho et al., 2023).

Uma planta medicinal e endêmica do Cerrado do Maranhão denominada “*Dizygostemon riparius*” foi descoberta em São Benedito do Rio Preto - Maranhão em 2017, é um subarbusto aromático e refrescante, pertencente à família Plantaginacea, popularmente

conhecida como “melosa” (Scatigna et al., 2019). A “melosa” possui aproximadamente 50 cm de altura, variando de porte prostrado a ereto, com caules simples a altamente ramificados, as folhas são ovais a elípticas, esparsamente pubescentes e pontilhadas por glândulas, com ápices agudos a obtusos e margens crenado-serrilhadas, as flores terminais são subsésseis, com cálices pubescentes e glandulares e sépalas lanceolada com dois morfotipo florais lilás e branco e tubos tomentosos (Scatigna et al., 2019; Scatigna et al., 2024). Devido a característica aromática, as folhas e caules são usados para aromatizar roupas, higienizar animais domésticos e prevenir mosquitos pela comunidade local (Scatigna et al., 2019; Brandão et al., 2020).

Os principais constituintes presentes nas folhas de *D. riparius* são monoterpenos oxigenados (acetato de endofenquilo e endofenhol), hidrocarboneto sesquiterpênico ((E)-cariofileno), e o sesquiterpeno oxigenado (óxido de cariofileno) representando cerca de 93,1% da composição total dos OEs (Brandão et al., 2020). Estes componentes podem ser usados em diversas indústrias devido sua ação antioxidante, como antinociceptivos, anti-inflamatórios, anticancerígeno (Kamal, 2022; Moghrovyan et al., 2022, Paulino et al., 2022). Nenhum outro OE com alto teor de acetato de endo-fenchila e endo-fenhol combinados foi encontrado anteriormente na literatura (Brandão et al., 2020).

A diferença entre os morfotipos branco e lilás da planta em relação aos OEs não foi detectada, indicando apenas uma leve variação genotípica (Brandão et al., 2020). Todavia, o morfotipo floral pode ser importante para concentração dos principais constituintes dos OEs e para sua aplicabilidade, já que uma variação mesmo que sutil dos constituintes pode resultar em uma dose fatal na bioatividade testada (Ferreira et al., 2024).

Além disso, os OEs podem sofrer variação na sua composição química devido a fatores genéticos e ambientais, essas variações são importantes para entender o potencial econômico, aplicação e uso sustentável das espécies (Bieski et al., 2022). O estudo sobre o efeito sazonal e circadiano na composição de óleo essencial de *D. riparius* já foi realizado, e demonstrou que estas mudanças afetam significativamente os principais componentes encontrados na espécie, com destaque para acetato de endo-fenchila, endo-fenhol, α -fencheno, (E)-cariofileno, p-cimeno e óxido de cariofileno (Galvão et al., 2023).

Devido aos compostos presentes no OEs da *D. riparius*, testes já foram realizados no controle de *Colletrotrichum gloesporioides* em manga, diminuindo significativamente as lesões dos frutos, corroborando para a produção e comércio frutífero de mangas no Brasil (Corrêa et al., 2023). Os OEs da *D. riparius* apresentam ainda um potencial acaricida, tanto para efeito tóxico como para repelente sobre *T. neocaledonicus* nos morfotipos florais branco e lilás,

entretanto, o morfotipo branco em uma concentração letal para 30% ($LC_{30} = 1,22 \mu\text{L mL}^{-1}$) afetou significativamente o crescimento do ácaro, tornando o mais lento em relação ao controle e o morfotipo lilás ($LC_{30} = 1,88 \mu\text{L mL}^{-1}$) (Ferreira et al., 2024).

Os OEs também apresentaram atividade larvívica contra larvas de *Aedes albopictus*, com a maior mortalidade (88%) observada na concentração de 600 mg L^{-1} , e LC_{50} e LC_{90} com concentrações de 296,5 e $895,4 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente (Brandão et al., 2020). Há também um estudo sobre a bioatividade de extrato bruto da folha de *D. riparius* contra larvas de *Aedes aegypti*, com uma $LC_{50} = 542,2 \pm 11,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ para o controle larval do mosquito, e o perfil químico desses extratos demonstraram que os principais constituintes são polimetoxiflavonas (Martins et al., 2023)

Com bases nesses estudos a espécie recém-descoberta *D. riparius* demonstra uma grande importância econômica, com potencial uso em indústrias farmacêuticas e terapêutica, bem como no controle de pragas e doenças. Assim, mais estudos são essenciais para compreender plenamente o potencial da bioatividade de *D. riparius*, a aplicabilidade dos OEs e extratos brutos da espécie, além de seu comportamento em ambientes estressantes devidos às mudanças climáticas.

2.2 Salinidade em plantas

O efeito da salinidade é amplamente estudado em diversas culturas ao redor do mundo, devido ao crescimento de áreas salinizadas em regiões áridas e semiáridas, intensificado pelas mudanças climáticas (Salcedo et al., 2022). A salinidade é prejudicial ao crescimento das plantas e sua produtividade por causar disfunções em muitos processos vitais, que vão desde as mudanças estruturais nas membranas até as principais reações metabólicas, podendo levar a morte da planta (Gorcek; Erdal, 2014).

No Brasil, estima-se que 160.000 km^2 de solo sejam degradados por salinização e sodificação, o que representa cerca de 2% da área total do país (Ribeiro et al., 2003). No Maranhão, existem extensas áreas de solo salino-sódico que são impactadas pela salinidade, limitando produtividade agrícola devido ao alto potencial osmótico, além disso, apresentam desafios de estrutura do solo que restringem a disponibilidade de água para as plantas (Dantas et al., 2014; Martins et al., 2021).

As plantas apresentam respostas diferentes a salinidade, mesmo dentro da mesma espécie, isso acontece porque cada estágio de desenvolvimento reage de maneira distintas ao estresse, podendo ser mais afetada em uma fase do que em outra, dependendo da espécie, do nível de salinidade e duração (Lum; Barton, 2020; Penha et al., 2024). Essas variações

fisiológicas e metabólicas podem alterar a fenologia das plantas, desde a germinação até a produção (Lum; Barton, 2020).

A salinidade afeta as plantas através do estresse osmótico e toxicidade iônica (Hanumantharao et al., 2016). Sob altas concentrações salinas as plantas não conseguem absorver água de forma adequada durante as fases iniciais para processos metabólicos, ou manter a turgidez devido ao baixo potencial osmótico ao redor das raízes, essa condição é chamada de “seca fisiológica”, como consequência, as plantas tendem a fechar seus estômatos para evitar a perda de água, reduzindo assim a transpiração, a condutância estomática, dificultando o resfriamento das folhas, a fotossíntese e, consequentemente, o crescimento (Schossler et al., 2012; Hanumantharao et al., 2016; Lum; Barton, 2020; Tian et al., 2020).

O efeito osmótico é o primeiro mecanismo desencadeado pelo excesso de salinidade, ele restringe o transporte de água, causando uma sequência de reações hormonais que levam a restrição à abertura estomática e assimilação fotossintética do dióxido de carbono (CO_2) (Silveira et al., 2010). Seguido pelo excesso de íons no citosol das células, principalmente o sódio (Na^+), que causa toxicidade iônica, prejudicando a absorção de íons potássio (K^+), magnésio (Mg^{2+}) e cálcio (Ca^{2+}), o que pode interferir nas funções metabólicas e fisiológicas, levando ao surgimento de sintomas visuais de toxicidades nas folhas como a clorose, necrose e diminuição do conteúdo de clorofila e carotenoides (Cordeiro et al., 2014; Hanumantharao et al., 2016). Além disso, o acúmulo de sais (Na^+ e Cl^-) nas células das folhas pode prejudicar vários processos fisiológicos e bioquímicos como a redução da biomassa e a eficiência da fotossíntese, danos à estrutura celular, interrupção de membranas plasmática e dos cloroplastos, desequilíbrio de nutrientes, capacidade prejudicada de desintoxicar espécies reativas de oxigênio (EROS) e alterações nas enzimas antioxidantes (Hanumantharao et al., 2016; Parkash; Singh, 2020; Lum; Barton, 2020).

A salinidade aumenta o vazamento de eletrólitos e a peroxidação lipídica, causando danos oxidativos às membranas celulares, assim como os cloroplastos e peroxissomos (Silva et al., 2013). Afeta também o aparelho fotoquímico das plantas, o que causa um desequilíbrio entre a capacidade de capturar luz e a utilização de energia e elétrons em reações metabólicas, aumentando a geração de EROS (Silva et al., 2013). As EROS também podem ser geradas em resposta a vários tipos de estresses, como ferimentos, patógenos, seca, salinidade e calor. As respostas a esses estresses são reguladas por hormônios do estresse, como ácido abscísico (ABA), ácido salicílico (SA), ácido jasmonato (JA) e etileno (Jan et al., 2021).

Em condições tóxicas gerais de salinidade, as plantas absorvem uma quantidade maior de Na^+ , o que reduz a proporção K^+/Na^+ (Hanumantharao et al., 2016). O ajustamento osmótico aumenta a concentração de solutos na célula para manter a absorção de água e o crescimento celular, isso é possível porque com o aumento na síntese de solutos orgânicos, outros tecidos mobilizam esses solutos provocando um aumento na absorção de outros íons, principalmente o K^+ , que desempenha um papel crucial na homeostase iônica das plantas sob estresse salino (Silveira et al., 2010). Os solutos mais estudados com maior potencial para aumentar a resistência das plantas ao estresse salino são: prolina, glicina betaína, açúcares solúveis (sacarose e glicose), manitol e o trealose (Silveira et al., 2010).

A expressão de genes também aumenta sob estresse salino e ajuda as plantas a lidarem melhor com essas condições adversas, isso ocorre porque esses genes promovem a biossíntese de compostos antioxidantes, balanço hormonal e reguladores de fotossíntese, o que torna as plantas mais tolerantes ao estresse salino (Jan et al., 2021).

Dentre os fitohormônios mais importante associados aos estresses abióticos, destaca-se o ácido abscísico (ABA) e o ácido salicílico (AS), pois estes atuam na sinalização para a expressão gênica (Jan et al., 2021). Assim, as plantas desenvolvem estratégias para tolerar o estresse salino, como aumentar os osmorreguladores, no entanto, essas estratégias nem sempre são suficientes, assim, aplicar substâncias como biorreguladores exógenos pode contribuir para que as plantas adquiram maior tolerância ao estresse (Gorcek; Erdal, 2014; Wu et al., 2021).

2.3 Biorreguladores

Os biorreguladores são compostos orgânicos e inorgânicos presentes nas plantas que desempenham um papel crucial no seu crescimento, desenvolvimento, produção e atividade metabólica das células, eles podem ser naturais ou sintéticos (Castro et al., 2009; Zulfiqar et al., 2019). O conhecimento sobre hormônios vegetais tem guiado o desenvolvimento de biorreguladores, baseadas em compostos hormonais para aplicações exógenas nas plantas a fim de controlar eventos fisiológicos (Cuesta; Mondaca, 2014). Esses biorreguladores podem aumentar a produtividade (Albrecht et al., 2012; Moraes et al., 2019), melhorar a composição química (Santos et al., 2024), variar o teor de OE presentes nas plantas (Santos et al., 2024), aumentar a biomassa (Cuesta; Mondaca, 2014; Zulfiqar et al., 2019) e mitigar estresses bióticos (Bossolani et al., 2017; Song et al., 2023) e abióticos (Gorcek; Erdal, 2014, Silva et al., 2024).

Os principais biorreguladores atualmente utilizados na agricultura pertencem aos grupos das auxinas, giberelinas, citocininas, etileno, substâncias húmicas e aminoácidos (Castro et al., 2016; Ecco et al., 2019). Os biorreguladores são aplicados principalmente em

tratamento de sementes e aplicação foliar (Albrecht et al., 2012; Oliveira et al., 2020). Há uma grande variedade desses compostos disponíveis para diferentes finalidades, como o ácido salicílico (AS) e ácido abscísico (ABA) para mitigar o estresse salino, o ácido indolbutírico (AIB) para aumentar a biomassa radicular, o ácido giberélico (GA3) para aumentar a germinação de sementes e melhorar eficiência fotossintética e o ácido ascórbico (AA) para floração e melhorar a qualidade ornamental das planta (Albrecht et al., 2012; Cuesta; Mondaca, 2014; Gorcek; Erdal, 2014; Zulfiqar et al., 2019; Jan et al, 2021). Devido ao uso em pequenas quantidades e proporcionar um aumento significativo na produção, esses biorreguladores apresentam alta relação custo-benefício, sendo uma opção sustentável para a melhoria das plantas (Rodrigues; Fett-Neto, 2009; Desalegn et al., 2023). Assim, utilizar biorreguladores pode amenizar impactos ambientais na produção das espécies, sem causar desequilíbrio ambiental (Arif et al., 2020; Mir et al., 2021).

2.3.1 Ácido Salicílico

Dentre os biorreguladores, tem-se o ácido salicílico (AS), que é encontrado em todas as plantas e desempenha um papel crucial na regulação do metabolismo, interação com outros organismos e sinalização nas respostas a estresses bióticos e abióticos (Hayat at al., 2010). O principal papel associado ao AS é a resposta sistêmica adquirida, o mecanismo de defesa que protege partes distantes da planta após o ataque inicial de patógenos, que possibilita uma resposta mais rápida e eficiente contra futuros ataques, auxiliando na defesa das plantas (Lim, 2023). Além disso, o AS modula as respostas das plantas a vários estresses oxidativos, pois desempenha diversos papéis fisiológicos e gerencia eficientemente os recursos internos para maximizar as respostas aos estresses (Arif et al., 2020). Este biorregulador atua na germinação, floração, produção de frutos, absorção e transporte de íons, taxa fotossintética, condutância estomática, transpiração e ativa a síntese de carotenóides e xantofilas (Hayat at al., 2010; Mir et al., 2021; Song et al., 2023).

O AS é sintetizado ao longo de duas vias distintas: a via da fenilalanina amônia-liase e a via do isocorismato sintase (Arif et al., 2020). As duas vias de biossíntese ocorrem na célula, a primeira no citoplasma, enquanto a segunda ocorre no cloroplasto (Arif et al., 2020; Song et al., 2023). A via de biossíntese de ácido salicílico é regulada tanto em níveis transcricionais quanto pós-transcricionais (Khan et al., 2015). Genes como MYBs, WRKYs e WIPK foram identificados em plantas e regulam positivamente a via da isocorismato sintase, aumentando a produção de AS. Além disso, proteínas de ligação ao RNA (RBP) participam de vários processos pós-transcricionais, influenciando a biossíntese de AS (Mir et al., 2021).

A sinalização do AS ocorre quando ele é detectado por proteínas receptoras como NPR1, NPR3 e NPR4, que regulam a resposta ao AS, além desses, proteínas de ligação ao AS, como SABP1, SABP2 e SABP3, atuam como moduladores da sinalização, influenciando processos como a conversão de AS em metil salicilato e a regulação da resposta ao estresse (Li et al., 2022). Após a detecção, o AS ativa vias de sinalização que afetam expressão gênica, interação hormonal e regulação de proteínas-chave (Li et al., 2022).

O AS sintetizado nas células pode se mover livremente para dentro e para fora das células, tecidos e órgãos, regulado pela geração de EROS e ativação de uma cascata de sinalização de Ca^{2+} e fosforilação de proteínas (Hayat et al., 2010; Mir et al., 2021). A síntese de antioxidantes não enzimáticos como prolina, glicina betaína e ácido ascórbico também é induzida por AS (Khan et al., 2015; El-Esawi et al., 2017; Arif et al., 2020).

A aplicação exógena de AS pode mitigar o efeito do estresse salino sobre as plantas (Torun et al., 2022) como capuchinha (*Tropaeolum majus*), em que os autores verificaram um aumento significativo no número de folhas e melhorias na eficiência do uso da água e na eficiência fotoquímica (Silva et al., 2024). Pode ainda melhorar a defesa antioxidante e a tolerância ao estresse salino em pimentão (*Capsicum annuum*), especialmente durante a fase de floração, contribuindo para a melhoria de vários parâmetros fisiológicos e bioquímicos, como o aumento na síntese de metabólitos importantes, incluindo prolina, fenólicos e ascorbato (Kumar et al., 2022), e altera o perfil químico de óleos essenciais (Santos et al., 2024). O óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L. tratado com AS resultou em uma maior expressão de genes de bioatividade e tolerância a salinidade do que o controle sem AS (El-Esawi et al., 2017). Ademais, a aplicação de 1 mM de AS em manjerição (*Ocimum basilicum*) proporcionou o aumento de 32,8% na produção total de óleos essenciais em comparação com o tratamento controle (Mirzajani et al., 2015).

Outros trabalhos foram realizados com outros tipos de biorreguladores em soja, por exemplo, foi possível observar que o biorregulador sintético Stimulate[®] influenciou significativamente na produtividade, teores de proteínas e óleo dos grãos, esses efeitos variaram dependendo do estágio de desenvolvimento da planta e da dose aplicada, tanto no tratamento com sementes quanto na aplicação foliar (Albrecht et al., 2012). Segundo Gorcek; Erdal, (2014) as plantas de trigo sob estresse salino tratadas com ácido lipóico (LA) acumularam significativamente menos Na^+ e mais K^+ e Ca^{2+} em comparação as plântulas estressadas sem LA, aumentando a razão K^+/Na^+ e recuperando a homeostase iônica.

Portanto, pode-se afirmar que os biorreguladores são amplamente aplicados na agricultura para modular o desempenho das culturas, promovendo alterações no metabolismo primário e secundário das plantas (Zulfiqar et al., 2019).

2.4 Óleos Essenciais

Os óleos essenciais (OEs) são compostos aromáticos voláteis, geralmente constituídos monoterpenos, sesquiterpenos (terpenos) e fenilpropanoides, produzidos pelas plantas como mecanismo de atração de polinizadores e defesa a ataque de pragas, doenças, estresse bióticos e abióticos (Bieski et al., 2022, Carvalho, 2023). Eles são responsáveis pelos diferentes aromas que as plantas exalam (Dhifi et al., 2016).

Os OEs podem ser encontrados nas diversas partes da planta, como flor, folha, sementes, brotos entre outros, no entanto, a concentração e a composição química dos OEs mudam de órgão para órgão, e em diferentes estágios de desenvolvimento das plantas (Meena et al., 2016; Bieski et al., 2022; Moghrovyan et al., 2022; Sun et al., 2024).

A biossíntese dos OEs ocorre principalmente nas folhas e continua até a fase de floração e, durante esse processo, as estruturas secretoras especializadas como cavidades, células oleíferas, tricomas glandulares, glândulas e dutos secretórios agem como laboratórios de síntese (Lim et al., 2022; Aqeel et al., 2023).

A importância dos óleos essenciais vai além de suas características aromáticas, eles desempenham um papel crucial nas interações ecológicas das plantas, funcionando como sinais químicos para a comunicação intra e interespecíes (Sun et al., 2024). Através da atração de polinizadores, a repelência de herbívoros, a defesa contra patógenos e a aclimação a ambientes estressantes, ou seja, são fundamentais para a sobrevivência das plantas. (Anjitha et al., 2021; Aqeel et al., 2023). Os OEs são ambientalmente sensíveis, e podem ser afetados por fatores ambientais como temperatura, variações de temperatura, precipitação, radiação, umidade e condições do solo (Dajic et al., 2020; Lim et al., 2022; Galvão et al., 2023; Aqeel et al., 2023; Hu et al., 2023).

A biossíntese dos constituintes do óleo essencial é determinada por fatores genéticos e ambientais, sendo possível modular a expressão de genes para maior produção dos compostos de interesse através de abordagens biotecnológicas e de melhoramento molecular (Woronuk et al., 2011; Meena et al., 2016).

Os OEs são produzidos nas plantas aromáticas através de vias metabólicas complexas. As vias metabólicas que mais se destacam são a via de terpenoides, e a via do chiquimato originadas nos metabólitos primários (Carvalho, 2023; Mohammed et al., 2024). A via de

terpenoides é responsável pela produção de monoterpenos e sesquiterpenos, eles são formados a partir de isopentenil pirofosfato (IPP) e dimetilalil pirofosfato (DMAPP), derivados das rotas do ácido mevalônico (MVA) e do metil eritritol fosfato (MEP) que são convertidos em terpenos através de uma série de reações enzimáticas (Woronuk et al., 2011; Meena et al., 2016). A via do chiquimato é fundamental para a produção de aminoácidos, nessa via utiliza-se precursores derivados da via glicolítica e da pentose fosfato que geram o ácido chiquímico, que é convertido em triptofano, fenilalanina e tirosina (Mohammed et al., 2024). Também ganha destaque a rota dos fenilpropanoides, que forma os fenóis, aldeídos e álcoois aromáticos através da fenilalanina que é transformada em ácido cinâmico, e outros compostos através de enzima fenilalanina amônia-liase (PAL) até a geração dos compostos finais dos óleos essenciais (Meena et al., 2016; Carvalho, 2023).

Os OEs possuem atividades antioxidantes, combatendo radicais livres e estresse oxidativo, além de atividades antimicrobianas contra fungos, bactérias e vírus (Mohammed et al., 2024) por apresentar compostos como acetato de endo-fenchila, endo-fenchol, (E)-cariofileno, δ -amorfeno, β -udesmol, α -muurolol, α -pineno, canfeno, entre outros (Brandão et al., 2020; Hu et al., 2023). Por isso, possuem alto potencial econômico, devido às suas várias aplicabilidades dentro das indústrias farmacêutica, cosmética e alimentícia (Abelan et al., 2021; Bieski et al., 2022).

Como exemplo dos mais diversos usos, tem-se o óleo essencial de lavanda (*Lavandula*) considerado um remédio natural por possuir propriedades calmante, sedativa, anticancerígenas e antimutagênica (Woronuk et al., 2011) e o OE de orégano (*Origanum vulgare*) com propriedades antioxidante, anti-inflamatório e antibacteriano (Moghrovyan et al., 2022). O óleo essencial de *Rosa damascena* que contém propriedades antimicrobianas que podem ser usados para controle de microrganismo em alimentos processados, contribuindo para a segurança alimentar (Verešová et al., 2024). Também se destaca o OEs da melosa (*D. riparius*) com propriedades larvicida, fungicida e acaricida sendo um potencial para controle de pragas e doenças (Brandão et al., 2020; Corrêa et al., 2023; Ferreira et al., 2024). Além disso, os óleos essenciais de *Arisaema franchetianum* e *Arisaema lobatum* mostraram atividade anti-helmíntica promissora contra *Haemonchus contortus*, oferecendo uma alternativa para o controle de nematódeos gastrointestinais em ovinos e caprinos (Zhu et al., 2013).

2.5 *Haemonchus contortus*

Haemonchus contortus é um parasito nematóide do filo: Nematoda, Classe: Secernentea, Ordem: Strongylida e Família: Trichonstrongylidae (Flay et al., 2022). É um

nematódeo de ruminantes muito importante para a região semiárida do Nordeste brasileiro por causar grandes perdas econômicas na caprinocultura (Nascimento et al., 2013). Considerado um dos principais helmintos de regiões de clima tropical e subtropical que se alimentam de sangue abomasal em ovinos e caprinos, e pode causar grave anemia, perda de peso, baixa produtividade, baixa fertilidade e até a morte dos animais (Naeem et al., 2021; Soliman et al., 2024).

O *H. contortus* é de difícil controle devido à alta variação genética dos parasitos e muitas cepas o que facilita a sua adaptação a várias regiões do mundo (Sallé et al., 2019). A infecção causada por esse helminto é conhecida como “hemoncrose” e ela pode ser incluída na lista de diagnósticos diferenciais, na investigação de casos de anemia ou morte em ovinos, independentemente da localização geográfica (Flay et al., 2022). As larvas infecciosas apresentam alta resistência e capacidade de sobrevivência em condições ambientais adequadas, que normalmente se caracteriza por alta umidade e temperatura elevada (Adduci et al., 2022).

As fêmeas de *H. contortus* põem muitos ovos por dia que são passados através das fezes para as pastagens e assim continua a infectar outros animais (Naeem et al., 2021). A espécie passa por seis estágios da vida, ovo, quatro estágios larvais e o adulto. Os ovos presentes nas fezes dos animais, podem se desenvolver para larvas de vida livre, estágios 1 e 2, chegar ao 3 estágio, que é o infeccioso dentro de 1 a 7 dias, nesse estágio o parasito é ingerido e chega ao estágio 4 após 2 a 3 semanas, e então chega ao estágio 5 que é o adulto no qual desenvolve as lancetas para penetrar nos vasos da mucosa para sugar o sangue (Naeem et al., 2021). Um nematoide adulto no estágio 5 pode sugar até 30 uL de sangue diariamente, causando rápida anemia e morte antes mesmo do período pré-patente, isso acontece quando infestações de mais de 500 vermes estão presentes (Emery et al., 2016).

O uso de anti-helmínticos é o principal meio de controle de *H. contortus*, porém, o uso extensivo resultou em cepas resistentes a medicamentos em todo mundo, sendo um problema para a pecuária nas mais diferentes regiões (Sallé et al., 2019). Alguns dos anti-helmínticos usados para combater *H. contortus* são os grupos dos benzimidazóis (albendazol, oxfendazol e fenbendazol), lactonas macrocíclicas (ivermectina, moxidectina e abamectina) e levamisol (Emery et al., 2016). Os parasitos desenvolveram mecanismos de defesa específico para cada tipo de anti-helmíntico, como mutações específicas no gene da beta-tubulina, mudança nos locais de ação, vias de efluxo de drogas e outros mecanismos (Emery et al., 2016; Arsenopoulos et al., 2021).

Assim, devido a resistência anti-helmíntica generalizada a esses compostos, há a necessidade de buscas para novas alternativas que controle o parasita (Soliman et al., 2024). Alguns estudos demonstram que o uso de extratos de plantas e óleo essencial podem ser usados como controle alternativo sustentável, eficazes e seguro (Abubakar et al., 2024; Kandil et al., 2024). Por exemplo, o óleo essencial de *Nigella sativa*, rico em cuminaldeído (CA), capaz de induzir danos físicos ao parasito, como ruptura na cutícula e desorganização da morfologia corporal, além de aumentar a produção de EROS no parasito levando a danos celulares e morte, e inibe a eclosão de ovos (Goel et al., 2020). Outro óleo essencial de *Boswellia dalzielii* apresentou atividades ovicida e larvicida com taxas de 90% e 100%, respectivamente (Abdulazeez et al., 2024), demonstrando o potencial dos óleos essenciais para o controle dessa praga.

REFERÊNCIAS

- ABDULAZEEZ, M. T.; MOHAMMED, M.; SULEIMAN, N.; SUDAWWA, R. H. Anthelmintic Activity of Essential Oils from *Boswellia dalzielii* against *Haemonchus contortus* isolated from Sheep Sold in Gusau Market, Zamfara State Nigeria. **Bulletins of Natural and Applied Sciences**, v. 1, n. 1, p. 204-211, 2024.
- ABELAN, U. S.; DE OLIVEIRA, A. C.; CACOCI, É. S. P.; MARTINS, T. E. A.; GIACON, V. M.; VELASCO, M. V. R. Potential use of essential oils in cosmetic and dermatological hair products: A review. **Journal of Cosmetic Dermatology**, 2021, p. 1-12. <https://doi.org/10.1111/jocd.14286>.
- ABUBAKAR, M.; ONEEB, M.; RASHID, M.; ASHRAF, K.; CHISTI, G.A.; AWAN, F.; SARWAR, N.U.A. In vitro anthelmintic efficacy of three plants extracts against various developmental stages of *Haemonchus contortus*. **Pakistan Veterinary Journal**, 2024. <http://dx.doi.org/10.29261/pakvetj/2024.174>.
- ADDUCI, I.; SAJOVITZ, F.; HINNEY, B.; LICHTMANNSPERGER, K.; JOACHIM, A.; WITTEK, T.; YAN, S. Haemonchosis in Sheep and Goats, Control Strategies and Development of Vaccines against *Haemonchus contortus*. **Animals**, v. 12, p. 2339, 2022. <https://doi.org/10.3390/ani12182339>.
- ADEDAMOLA, A. K.; OYEWUSI, H. A.; OLADIPO, O. O.; TUGBOBO, O. S. Essential Oils and Their Antioxidant Importance: The In Vitro and In Vivo Treatment and Management of Neurodegenerative Diseases with New Delivery Applications. **IntechOpen**, 2023. DOI: 10.5772/intechopen.113031.
- ALBRECHT, L. P.; BRACCINI, A. de L. e.; SCAPIM, C. A.; ÁVILA, M. R.; ALBRECHT, A. J. P. Biorregulador na composição química e na produtividade de grãos de soja. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 4, p. 774-782, 2012.
- ANJITHA, K. S.; SAMEENA, P. P.; PUTHUR, J.T. Functional aspects of plant secondary metabolites in metal stress tolerance and their importance in pharmacology. **Plant Stress**, v. 2, p. 100038, 2021. doi: 10.1016/j.stress.2021.100038.
- AQEEL, U.; AFTAB, T.; KHAN, M.M.A.; NAEEM, M. Regulation of essential oil in aromatic plants under changing environment. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 32, p. 100441, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2022.100441>.
- ARIF, Y.; SAMI, F.; SIDDIQUI, H.; BAJGUZ, A.; HAYAT, S. Salicylic acid in relation to other phytohormones in plant: A study towards physiology and signal transduction under challenging environment. **Environmental and Experimental Botany**, v. 175, p. 104040, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104040>>. Acesso em: 11 nov. 2024.
- ARSENOPOULOS, K. V.; FTHENAKIS, G. C.; KATSAROU, E. I.; PAPADOPOULOS, E. Haemonchosis: A Challenging Parasitic Infection of Sheep and Goats. **Animals**, v. 11, p. 363, 2021. <https://doi.org/10.3390/ani11020363>.

BEZERRA, M. A.; MOITA NETO, J. M.; ANDRADE, I. M.; SANTOS FILHO, F. S. Contribuições e perspectivas da pesquisa brasileira sobre plantas alimentícias silvestres com foco no semiárido. **Iheringia, Série Botânica**, v. 77, 2022. doi:10.21826/2446-82312022v77e2022003.

BIESKI, I. G. C.; SANTOS, J. L. U.; FERREIRA, M. L.; GARCIA, P. C.; DOURADO, S. H. A.; JANUÁRIO, A. B.; MESSIAS, T. E.; APOLINÁRIO, J. M. S. S. Potencial econômico e terapêutico dos óleos essenciais mais utilizados no Brasil. **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, p. 125-137, 2022. doi: 10.32712/2446-4775.2022.1203.

BRANDÃO, C. M.; CAVALCANTE, K. S. B.; TELES, R. M.; MARQUES, G. E. C.; MONTEIRO, O. S.; ANDRADE, E. H. A.; MAIA, J. G. S. Composition and Larvicidal Activity of the Oil of *Dizygostemon riparius* (Plantaginaceae), a New Aromatic Species Occurring in Maranhão, Brazil. **Chem. Biodivers.**, v. 17, n. 11, e2000462, 2020. doi: 10.1002/cbdv.202000462.

BOSSOLANI, J. W.; SÁ, M. E. de; MERLOTI, L. F.; BETTIOL, J. V. T.; OLIVEIRA, G. R. F. de; PEREIRA, D. dos S. Bioestimulante vegetal associado a indutor de resistência nos componentes da produção de feijoeiro. **Revista Agro@mbiente On-line**, v. 11, n. 4, p. 307-314, 2017. doi: 10.18227/1982-8470ragro.v11i4.4094.

CANTABELLA, D.; PIQUERAS, A.; ACOSTA-MOTOS, J. R.; BERNAL-VICENTE, A.; HERNÁNDEZ, J. A.; DÍAZ-VIVANCOS, P. Salt-tolerance mechanisms induced in *Stevia rebaudiana* Bertoni: Effects on mineral nutrition, antioxidative metabolism and steviol glycoside content. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 115, p. 484-496, 2017. doi:10.1016/j.plaphy.2017.04.023.

CARVALHO, Z. S. de. Potencial fitoquímico dos óleos essenciais: exploração e aplicações. **Boletim Científico Agrônomo do CCAAB/UFRB**, v. 1, e2254, 2023. Disponível em: <<https://ufrb.edu.br/ccaab/boletim-cientifico-agronomico-do-ccaab-volume1/2254-2254-pdf>>. Acesso em: 30 set. 2024.

CASTRO, P. R. e C.; ARAÚJO, D. K.; ANGELINI, B. G.; MENDES, A. C. C. Biorreguladores na agricultura. Piracicaba: Serie Produtor Rural. Universidade de São Paulo - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - Divisão de Biblioteca e Documentação, 2016 154 p. Disponível em: <https://www.esalq.usp.br/biblioteca/sites/default/files/publicacoes-avenda/pdf/SPR%20Especial%20-%20Biorreguladores%20na%20agricultura_0.pdf>.

CASTRO, P. R. e C.; SERCILOTO, C. M.; PEREIRA, M. A.; RODRIGUES, J. L. M.; ROSSI, G. Agroquímicos de Controle Hormonal, Fosfitos e Potencial de Aplicação dos Aminoácidos na Agricultura Tropical. Piracicaba: Serie Produtor Rural. Universidade de São Paulo - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - Divisão de Biblioteca e Documentação, 2009. 83 p. Disponível em: <https://www.esalq.usp.br/biblioteca/sites/default/files/publicacoes-avenda/pdf/SPREspecial_Agroquimicos.pdf>.

CHAUDHRY, U. K.; GÖKÇE, Z. N. Ö.; GÖKÇE, A. F. The Influence of Salinity Stress on Plants and Their Molecular Mechanisms. **Biol. Life Sci. Forum**, v. 11, p. 31, 2022. <https://doi.org/10.3390/IECPS2021-12017>.

CORDEIRO, M. A.; MORIUCHI, K. S.; FOTINOS, T. D.; MILLER, K. E.; NUZHDIN, S. V.; VON WETTBERG, E. J.; COOK, D. R. Population differentiation for germination and early seedling root growth traits under saline conditions in the annual legume *Medicago truncatula* (Fabaceae). **American Journal of Botany**, v. 101, n. 3, p. 488-498, 2014. DOI: 10.3732/ajb.13002853. Disponível em: <<http://www.amjbot.org/>>. Acesso em: 24 out. 2024.

CORRÊA, L. A. D.; RODRIGUES, A. A. C.; DIAS, L. R. C.; SILVA, E. K. C. e; MONTEIRO, O. dos S.; OLIVEIRA, L. de J. M. G. de. Antifungal potential of essential oils from *Pectis brevipedunculata* and *Dizygostemon riparius* in anthracnose control in mango. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 45, e-889, 2023. doi: 10.1590/0100-29452023889.

CUESTA, G.; MONDACA, E. Efecto de un biorregulador a base de auxinas sobre el crecimiento de plantines de tomate. **Revista Chapingo Serie Horticultura**, v. 20, n. 2, p. 215-222, 2014. doi: 10.5154/r.rchsh.2014.01.001.

DAJIC STEVANOVIC, Z.; SIENIAWSKA, E.; GLOWNIAK, K.; OBRADOVIC, N.; PAJIC-LIJAKOVIC, I. Natural Macromolecules as Carriers for Essential Oils: From Extraction to Biomedical Application. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 8, p. 563, 2020. doi: 10.3389/fbioe.2020.00563.

DANTAS, J. S.; MARQUES JÚNIOR, J.; MARTINS FILHO, M. V.; RESENDE, J. M. A.; CAMARGO, L. A.; BARBOSA, R. S. Gênese de Solos Coesos do Leste Maranhense: Relação Solo-Paisagem. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 38, p. 1039-1050, 2014.

DESALEGN, B.; KEBEDE, E.; LEGESSE, H.; FITE, T. Sugarcane productivity and sugar yield improvement: Selecting variety, nitrogen fertilizer rate, and bioregulator as a first-line treatment. **Heliyon**, v. 9, e15520, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e15520>.

DHIFI, W.; BELLILI, S.; JAZI, S.; BAHLOUL, N.; MNIF, W. Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review. **Medicines**, v. 3, n. 4, p. 25, 2016. DOI: 10.3390/medicines3040025.

ECCO, M.; MORAIS, W. G.; REUTER, R. J.; POTTKE, V. L.; LENHARDT, V. L.; VANZELLA, T. Uso de diferentes tratamentos de bioestimulante vegetal na cultura da soja. **Revista Científica Rural**, v. 21, n. 2, 2019. DOI: 10.30945/rcr-v21i2.350.

EL-ESAWI, M. A.; ELANSARY, H. O.; EL-SHANHOREY, N. A.; ABDEL-HAMID, A. M. E.; ALI, H. M.; ELSHIKH, M. S. Salicylic Acid-Regulated Antioxidant Mechanisms and Gene Expression Enhance Rosemary Performance under Saline Conditions. **Front. Physiol.**, v. 8, p. 716, 2017. doi: 10.3389/fphys.2017.00716.

ELYASI, R.; MAJDI, M.; BAHRAMNEJAD, B.; MIRZAGHADERI, G. Spatial modulation and abiotic elicitors responses of the biosynthesis related genes of mono/triterpenes in black cumin (*Nigella sativa*). **Industrial Crops and Products**, v. 79, p. 240-247, 2016. DOI: 10.1016/j.indcrop.2015.11.005.

EMERY, D. L.; HUNT, P. W.; LE JAMBRE, L. F. *Haemonchus contortus*: the then and now, and where to from here? **International Journal for Parasitology**, v. 46, n. 12, p. 755-769, 2016. DOI: 10.1016/j.ijpara.2016.07.001.

FERREIRA, M. C.; NOJOSA, E. C. N.; MARQUES, I. S.; SANTOS, D. R. d.; MARQUES, G. E. de C.; CAVALCANTE, K. S. B.; TELES, R. de M.; BARBOSA, D. R. e S. Bioactivity of essential oils of *Dizygostemon riparius* (Plantaginaceae) on *Tetranychus neocaledonicus* (Acari: Tetranychidae). Available at Search Square, v. 1, p. 1-16, 2024. doi: 10.21203/rs.3.rs-4396767/v1.

FLAY, K. J.; HILL, F. I.; MUGUIRO, D. H. A Review: *Haemonchus contortus* Infection in Pasture-Based Sheep Production Systems, with a Focus on the Pathogenesis of Anaemia and Changes in Haematological Parameters. **Animals**, v. 12, p. 1238, 2022. <https://doi.org/10.3390/ani12101238>.

GALVÃO, F. S.; ROCHA, C. Q.; MONTEIRO, O. S.; FIGUEIREDO, P. L. B.; SANTOS, P. V. L.; MAIA, J. G. S. Seasonal and Circadian Evaluation of the Essential Oil of *Dizygostemon riparius* (Plantaginaceae), a Wild Flavoring Herb from East Maranhão, Brazil. **Chemistry & Biodiversity**, v. 20, 2023. doi: 10.1002/cbdv.202300864.

GOEL, V.; SINGLA, L. D.; CHOUDHURY, D. Cuminaldehyde induces oxidative stress-mediated physical damage and death of *Haemonchus contortus*. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 130, p. 110411, 2020. doi: 10.1016/j.biopha.2020.110411.

GORCEK, Z.; ERDAL, S. Lipoic acid mitigates oxidative stress and recovers metabolic distortions in salt-stressed wheat seedlings by modulating ion homeostasis, the osmo-regulator level and antioxidant system. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, n. 14, p. 2811-2817, 2015. doi: 10.1002/jsfa.7020.

HANUMANTHARAO, B.; NAIR, R. M.; NAYYAR, H. Salinity and High Temperature Tolerance in Mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] from a Physiological Perspective. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 957, 2016. DOI: 10.3389/fpls.2016.00957.

HAYAT, Q.; HAYAT, S.; IRFAN, M.; AHMAD, A. Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: A review. **Environmental and Experimental Botany**, v. 68, p. 14-25, 2010. Disponível em: <<https://www.elsevier.com/locate/envexpbot>>. Acesso em: 3 nov. 2024.

HU, H.; LI, D.; BAI, R.; ZHANG, W.; LUO, H.; YU, E. Chemodiversity and Bioactivity of the Essential Oils of *Juniperus* and Implication for Taxonomy. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, p. 15203, 2023. <https://doi.org/10.3390/ijms242015203>.

JAN, R.; KIM, N.; LEE, S.-H.; KHAN, M. A.; ASAF, S.; LUBNA; PARK, J.-R.; ASIF, S.; LEE, I.-J.; KIM, K.-M. Enhanced Flavonoid Accumulation Reduces Combined Salt and Heat Stress Through Regulation of Transcriptional and Hormonal Mechanisms. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, 796956, 2021. doi:10.3389/fpls.2021.796956.

KAMAL, A. T. M. M. A review of β -caryophyllene oxide for its pharmacological properties supported by in silico findings. **IIUC Studies**, v. 19, n. 1, p. 87-120, 2022. doi: 10.3329/iiucs.v19i1.69041.

KANDIL, O. M.; SHALABY, H. A.; HASSAN, N. M. F.; HENDAWY, S. H. M.; NAMAKY, A. H. E.; TAIE, H. A. A.; ELSAWY, B. S. M.; HELAL, M. A.; KANDIL, O. M. Comparative nematocidal efficacy of Coriander oils against *Haemonchus contortus*. **International Journal of Veterinary Science**, v. 13, n. 1, p. 17-26, 2024. doi: 10.47278/journal.ijvs/2023.062.

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: 10.3389/fpls.2015.00462.

KUMAR, S.; AHANGER, M. A.; ALSHAYA, H.; JAN, B. L.; YERRAMILI, V. Salicylic acid mitigates salt induced toxicity through the modifications of biochemical attributes and some key antioxidants in *Capsicum annuum*. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 29, n. 2, p. 1337-1347, 2022.

LI, A.; SUN, X.; LIU, L. Action of Salicylic Acid on Plant Growth. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, p. 1-7. 2022. doi:10.3389/fpls.2022.878076.

LIM, A. C.; TANG, H. C.; TANG, S. G. H.; MUTALIB, M. A.; ARIFFIN, I. A Mini Review: Chemical Compositions and Bioactivity of Essential Oils. **Journal of Energy and Environment**, v. 14, 2022. Disponível em: <<https://journal.uniten.edu.my/index.php/jee/article/view/253>>. Acesso em: 15 nov. 2024.

LIM, G.-H. Regulation of Salicylic Acid and N-Hydroxy-Pipecolic Acid in Systemic Acquired Resistance. **Plant Pathology Journal**, v. 39, p. 21-27. 2023. doi:10.5423/PPJ.RW.10.2022.0145.

LUM, T. D.; BARTON, K. E. Ontogenetic variation in salinity tolerance and ecophysiology of coastal dune plants. **Annals of Botany**, v. 125, n. 2, p. 301-314, 2020. Disponível em: <<https://academic.oup.com/aob/article/125/2/301/5510683>>. Acesso em: 24 out. 2024.

MARTINS, A. L. S.; TEIXEIRA, W. G.; SILVA, M. B. E. Saline Soils in the Baixada Maranhense: A Case Study in Maranhão State, Brazil. In: **Proceedings of the Global Symposium on Salt-Affected Soils**, Online, 20–22 October; 2021. Available online: <https://www.fao.org/fileadmin/user_upload/GSP/GSAS21/002.pdf>. Acesso em: 29 out. 2024.

MARTINS, S. M. A.; CAVALCANTE, K. S. B.; TELES, R. M.; BRANDÃO, C. M.; GODINHO, A. S.; SILVA, L. K.; HOLANDA, C. A.; ROCHA, C. Q. da. Chemical profiling of *Dizygostemon riparius* (Plantaginaceae) plant extracts and its application against larvae of *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). **Acta Tropica**, v. 237, 2023. doi: 10.1016/j.actatropica.2022.106706.

MEENA, S.; KUMAR, S. R.; VENKATA RAO, D. K.; DWIVEDI, V.; SHILPASHREE, H. B.; RASTOGI, S.; SHASANY, A. K.; NAGEGOWDA, D. A. De Novo Sequencing and Analysis of Lemongrass Transcriptome Provide First Insights into the Essential Oil Biosynthesis of Aromatic Grasses. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 1129, 2016. DOI: 10.3389/fpls.2016.01129.

MEHTA, D.; VYAS, S. Comparative bio-accumulation of osmoprotectants in saline stress tolerating plants: A review. **Plant Stress**, v. 9, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2023.100177>.

MIR, R. A.; ARYENDU; SOMASUNDARAM, R. Salicylic Acid and Salt Stress Tolerance in Plants: A Review. **Journal of Stress Physiology & Biochemistry**, v. 17, n. 3, p. 32-50, 2021. Disponível em: [link do artigo]. Acesso em: 9 nov. 2024.

MIRZAJANI, Z.; HADAVI, E.; KASHI, A. Changes in the essential oil content and selected traits of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) as induced by foliar sprays of citric acid and salicylic acid. **Industrial Crops and Products**, v. 76, p. 269-274, 2015. DOI: 10.1016/j.indcrop.2015.06.052.

MOGHROVYAN, A.; PARSEGHYAN, L.; SEVOYAN, G.; DARBINYAN, A.; SAHAKYAN, N.; GABOYAN, M.; KARABEKIAN, Z.; VOSKANYAN, A. Antinociceptive, anti-inflammatory, and cytotoxic properties of *Origanum vulgare* essential oil, rich with β -caryophyllene and β -caryophyllene oxide. **Korean Journal of Pain**, v. 35, n. 2, p. 140-151, 2022. doi: 10.3344/kjp.2022.35.2.140.

MOHAMMED, H. A.; SULAIMAN, G. M.; KHAN, R. A.; AL-SAFFAR, A. Z.; MOHSIN, M. H.; ALBUKHATY, S.; ISMAIL, A. Essential oils pharmacological activity: Chemical markers, biogenesis, plant sources, and commercial products. **Process Biochemistry**, v. 144, p. 112-132, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2024.05.021>.

MUHAMMAD, N.; IQBAL, Z.; ROOHI, N. Ovine haemonchosis: a review. **Tropical Animal Health and Production**, v. 53, 2021, pp. 19. Springer Nature B.V. 2020. DOI: 10.1007/s11250-020-02439-8.

NASCIMENTO, J. de O.; PEREIRA, J. S.; FONSECA, Z. A. A. de S.; COELHO, W. A. C.; BESSA, E. N.; AHID, S. M. M. Aspectos morfológicos de *Haemonchus contortus* (Rudolphi, 1803) procedentes de caprinos (*Capra hircus*) da região semiárida do Rio Grande do Norte, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 80, n. 4, p. 447-449, 2013.

PARKASH, V.; SINGH, S. Potential of Biochar Application to Mitigate Salinity Stress in Eggplant. **HortScience**, v. 55, p. 1946-1955, 2020. doi:10.21273/HORTSCI15398-20.

PAULINO, B. N.; SILVA, G. N. S.; PASTORE, G. M.; ARAÚJO, F. F.; BICAS, J. L.; MOLINA, G.; NERINUMA, I. A. Beyond natural aromas: The bioactive and technological potential of monoterpenes. **Trends in Food Science & Technology**, v. 128, p. 188-201, 2022. doi: 10.1016/j.tifs.2022.08.006. Acesso em: 16 out. 2024.

PENHA, D. M.; AGUIAR, K. A. T.; PAULINO, L. C.; MESQUITA, R. O.; VARGAS, T. O. Uso de mitigadores do estresse salino em cultivo de alface semi-hidropônico. **Revista Semiárido De Visu**, Petrolina, v. 12, n. 1, p. 119-135, mar. 2024. Disponível em: <<https://doi.org/10.31416/rsdv.v12i1.565>>.

RIBEIRO, M.R.; FREIRE, F.J.; MONTENEGRO, A.A. Solos halomórficos no Brasil: Ocorrência, gênese, classificação, uso e manejo sustentável. In: CURI, N.; MARQUES, J.J.; GUILHERME, L.R.G.; LIMA, J.M.; LOPES, A.S.; ALVAREZ, V.V.H. (Eds.). **Tópicos em Ciência do Solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2003. p. 165–208.

RODRIGUES, K. C. S.; FETT-NETO, A. G. Oleoresin yield of *Pinus elliottii* in a subtropical climate: Seasonal variation and effect of auxin and salicylic acid-based stimulant paste. **Industrial Crops and Products**, v. 30, n. 2, p. 316-320, 2009. DOI: 10.1016/j.indcrop.2009.06.004.

SALCEDO, F. P.; CUTILLAS, P. P.; CABAÑERO, J. J. A.; VIVALDI, A. G. Use of remote sensing to evaluate the effects of environmental factors on soil salinity in a semi-arid area. **Science of the Total Environment**, v. 815, 2022. doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.152524.

SALLÉ, G.; DOYLE, S. R.; CORTET, J.; CABARET, J.; BERRIMAN, M.; HOLROYD, N.; COTTON, J. A. The global diversity of *Haemonchus contortus* is shaped by human intervention and climate. **Nature Communications**, v. 10, p. 4811, 2019. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-12695-4>.

SANTOS, S. K. d.; GOMES, D. d. S.; SOARES, V. d. A.; DANTAS, E. F. O.; DE OLIVEIRA, A. F. P.; GUSMÃO, M. H. A.; DE MATOS, E. M.; SOUZA, T.; VICCINI, L. F.; GRAZUL, R. M.; et al. Salicylic Acid and Water Stress: Effects on Morphophysiology and Essential Oil Profile of *Eryngium foetidum*. **Metabolites**, v. 14, p. 241, 2024. <https://doi.org/10.3390/metabo14040241>.

SCATIGNA, A. V.; BRANDÃO, C. M.; COLLETTA, G. D.; TELES, R. de M.; CAVALCANTE, K. S. B.; SOUZA, V. C.; SIMÕES, A. O. *Dizygostemon riparius* (Plantaginaceae, Gratioleae), a new species from Maranhão, northeastern Brazil. **Willdenowia**, v. 49, p. 177–186, 2019. doi: 10.3372/wi.49.49206.

SCATIGNA, A. V.; COLLETTA, G. D.; SOUZA, V. C. *Dizygostemon* in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB619096>>. Acesso em: 19 nov. 2024.

SCHOSSLER, T. R.; MACHADO, D. M.; ZUFO, A. M.; ANDRADE, F. R. d.; PIAULINO, A. C. Salinidade: Efeitos na fisiologia e na nutrição mineral de plantas. **Encicl. Biosf. Cent. Cient. Conhecer**, v. 8, p. 1563-1575, 2012.

SILVA, E. N.; VIEIRA, S. A.; RIBEIRO, R. V.; PONTE, L. F. A.; FERREIRA-SILVA, S. L.; SILVEIRA, J. A. G. Contrasting Physiological Responses of *Jatropha curcas* Plants to Single and Combined Stresses of Salinity and Heat. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 32, n. 2, p. 159-169, 2013. doi: 10.1007/s00344-012-9287-3.

SILVA, J. H. B. da; SILVA, A. J. da; SILVA, T. I. da; HENSCHER, J. M.; LOPES, A. S.; ALVES, J. C. G.; SILVA, R. F. da; ARAÚJO, D. B.; SANTOS, J. P. de O.; MARTINS, A. H. P. da C.; NASCIMENTO, M. P. do; LEAL, M. P. da S.; REGO, M. M. do; DIAS, T. J. Salicylic acid reduces harmful effects of salt stress in *Tropaeolum majus*. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 28, n. 4, e278566, 2024. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v28n4e278566>.

SILVEIRA, J. A. G.; SILVA, S. L. F.; SILVA, E. N.; VIÉGAS, R. A. Mecanismos biomoleculares envolvidos com a resistência ao estresse salino em plantas. In: **Manejo da salinidade na agricultura: Estudos básicos e aplicados**. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 2010. p. 1-184. ISBN 978-85-7563-489-9.

SOLIMAN, S.; SALEM, H.; EL-SAADONY, M.; AHMED, A.; SAAD, A.; EL-SAADONY, M. *Haemonchus contortus* infection of goats and the use of anthelmintic natural alternative: An updated review. **Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society**, v. 75, n. 2, p. 7201–7210, 2024. <https://doi.org/10.12681/jhvms.29905>.

SONG, W.; SHAO, H.; ZHENG, A.; ZHAO, L.; XU, Y. Advances in Roles of Salicylic Acid in Plant Tolerance Responses to Biotic and Abiotic Stresses. **Plants**, v. 12, p. 3475, 2023. <https://doi.org/10.3390/plants1219347>.

SUN, W.; NI, H.; ZHAO, Z.; ZOU, S. Transcriptome Analyses Reveal Differences in the Metabolic Pathways of the Essential Oil Principal Components of Different Cinnamomum Chemotypes. **Forests**, v. 15, p. 1621, 2024. <https://doi.org/10.3390/f15091621>.

TIAN, F.; HOU, M.; QIU, Y.; ZHANG, T.; YUAN, Y. Salinity stress effects on transpiration and plant growth under different salinity soil levels based on thermal infrared remote (TIR) technique. **Geoderma**, v. 113961, 2019. DOI: 10.1016/j.geoderma.2019.113961.

TORUN, H.; NOVÁK, O.; MIKULÍK, J.; STRNAD, M.; AYAZ, F. A. The Effects of Exogenous Salicylic Acid on Endogenous Phytohormone Status in *Hordeum vulgare* L. under Salt Stress. **Plants**, v. 11, p. 618, 2022. <https://doi.org/10.3390/plants11050618>.

VARGEM, D. da S.; BRAZ, V. da S.; LEMES, E. de O.; PEIXOTO, J. de C. Serviços Ecosistêmicos e a Potencialidade da Flora do Cerrado. **Fronteiras: Journal of Social, Technological and Environmental Science**, v. 13, n. 1, p. 9-20, 2024. DOI: <http://dx.doi.org/10.21664/2238-8869.2024v13i1p.9-20>.

VEREŠOVÁ, A.; VUKIC, M. D.; VUKOVIC, N. L.; TERENTJEVA, M.; BAN, Z.; LI, L.; BIANCHI, A.; KOLLÁR, J.; SAAD, R. B.; HSOUNA, A. B.; et al. Chemical Composition, Biological Activity, and Application of *Rosa damascena* Essential Oil as an Antimicrobial Agent in Minimally Processed Eggplant Inoculated with *Salmonella enterica*. **Foods**, v. 13, p. 3579, 2024. <https://doi.org/10.3390/foods13223579>.

WORONUK, G.; DEMISSIE, Z. A.; RHEAULT, M. R.; MAHMOUD, S. S. Biosynthesis and Therapeutic Properties of *Lavandula* Essential Oil Constituents. **Planta Medica**, v. 77, n. 1, p. 7-15, 2011. DOI: 10.1055/s-0030-1250136.

WU, H.; HILL, C. B.; STEFANO, G.; BOSE, J. Editorial: New Insights Into Salinity Sensing, Signaling and Adaptation in Plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, 2021. DOI: 10.3389/fpls.2020.604139.

ZHENG, Y.; YOUNG, N.D.; SONG, J.; GASSER, R.B. The Mitogenome of the Haecon-5 Strain of *Haemonchus contortus* and a Comparative Analysis of Its Nucleotide Variation with Other Laboratory Strains. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, p. 8765, 2024. <https://doi.org/10.3390/ijms25168765>.

ZHU, L.; DAI, J.; YANG, L.; QIU, J. Anthelmintic activity of *Arisaema franchetianum* and *Arisaema lobatum* essential oils against *Haemonchus contortus*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 148, n. 2, p. 311-316, 2013. doi:10.1016/j.jep.2013.04.034.

ZULFIQAR, F.; YOUNIS, A.; ABIDEEN, Z.; FRANCINI, A.; FERRANTE, A. Bioregulators Can Improve Biomass Production, Photosynthetic Efficiency, and Ornamental Quality of *Gazania rigens* L. **Agronomy**, v. 9, n. 11, p. 773, 2019. doi:10.3390/agronomy9110773.

Capítulo II

The role of salicylic acid in salinity stress mitigation in *Dizygostemon riparius*: a medicinal species endemic from South America

Artigo publicado na Revista Plants e adaptado as normas da dissertação de Mestrado em Ciências Agrárias

Abstract

Salicylic acid (SA) is a bioregulator well-known for mitigating salinity damage in plants. However, no studies have examined the interaction between SA and salinity in *Dizygostemon riparius*, a species rich in bioactive molecules. Therefore, we aimed to evaluate the effect of SA application on *Dizygostemon riparius* under different salinity levels. A completely randomized experiment was conducted in a 2×3 factorial design (two SA concentrations – 0 and 100 μM , and three salinity concentrations – 0, 200, and 400 mM NaCl) with 5 replicates. At 400 mM NaCl, leaf temperature increased by 11%, while relative water content and total soluble carbohydrates decreased by 30% and 35%, respectively, leading to reduced biomass accumulation. Notably, SA application mitigated these effects by restoring relative water content under 400 mM NaCl and improving carboxylation efficiency and intrinsic water-use efficiency under 200 mM NaCl. Additionally, dry biomass was maintained under both 200 and 400 mM NaCl with SA treatment. These findings suggest that SA has a promising potential to alleviate salt stress in *Dizygostemon riparius*. Our results could inform cultivation practices, opening new perspectives on the use of SA as an attenuator of salinity stress.

Keywords: abiotic stress; bioregulator; photosynthetic performance

Resumo

O ácido salicílico (AS) é um biorregulador conhecido por mitigar os danos à salinidade nas plantas. No entanto, nenhum estudo examinou a interação entre SA e salinidade em *Dizygostemon riparius*, uma espécie rica em moléculas bioativas. Portanto, objetivou-se avaliar o efeito da aplicação de AS sobre *Dizygostemon riparius* sob diferentes níveis de salinidade. Um experimento inteiramente casualizado foi conduzido em um planejamento fatorial 2×3 (duas concentrações de SA – 0 e 100 μM , e três concentrações de salinidade – 0, 200 e 400 mM de NaCl) com 5 repetições. A 400 mM de NaCl, a temperatura foliar aumentou 11%, enquanto o teor relativo de água e carboidratos solúveis totais diminuiu 30% e 35%, respectivamente, levando à redução do acúmulo de biomassa. Notavelmente, a aplicação de SA mitigou esses efeitos restaurando o teor relativo de água abaixo de 400 mM NaCl e melhorando a eficiência da carboxilação e a eficiência intrínseca do uso da água abaixo de 200 mM NaCl. Além disso, a biomassa seca foi mantida sob NaCl de 200 e 400 mM com tratamento AS. Esses resultados sugerem que a AS tem um potencial promissor para atenuar o estresse salino em *Dizygostemon riparius*. Nossos resultados podem informar as práticas de cultivo, abrindo novas perspectivas sobre o uso de AS como atenuador do estresse salino.

Palavras-chave: estresse abiótico; biorregulador; *Dizygostemon riparius*, desempenho fotossintético

1. INTRODUCTION

Salinity is a global issue that adversely affects plant growth and development [1,2]. Its impact is multifaceted, as it not only reduces plant productivity but also degrades water quality, diminishes soil biodiversity, and contributes to soil erosion [1]. Currently, it is estimated that the total area of soils affected by salt is 17 million km², occurring mainly in arid and semi-arid regions of Africa, Asia, and Latin America [3]. In Brazil, an estimated 160,000 km² of soil are degraded by salinization and sodification, representing about 2 percent of the nation's total land area [4]. Specifically in Maranhão state, particularly the Baixada Maranhense region, extensive areas of Solonetz soils are impacted by salinity, limiting agricultural productivity due to high osmotic potential and soil structure challenges that restrict water availability for plants [5]. Elevated salinity (electric conductivity of the saturated soil solution $\geq 4 \text{ dS m}^{-1}$) can affect plants in two distinct phases, the first is the osmotic phase, while the second is the ionic phase [6]. This second phase is the most critical for plant growth and development, causing reduced production or even plant death [6,7].

In the osmotic phase, excess salts in the soil reduces leaf water potential (Ψ_w), osmotic potential (Ψ_π), and turgor pressure (Ψ_p), leading to osmotic stress; while in the ionic phase, excess salts absorbed by the plant cause a nutritional imbalance and reactive oxygen species (ROS) production (e.g., superoxide anion, O_2^- ; singlet oxygen, $^1\text{O}_2$; hydroxyl radical, OH^- ; and hydrogen peroxide, H_2O_2) [7]. Osmotic stress affects stomatal opening [8], while the accumulation of toxic ions, particularly sodium (Na^+) and chloride (Cl^-), later inhibits the absorption of essential nutrients such as potassium (K^+) and calcium (Ca^{2+}). These nutrients are crucial for maintaining cellular functions and enzymatic activities involved in photosynthesis [2]. Additionally, ionic toxicity can cause chlorophyll degradation and inhibit the activity of Rubisco (ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase), a key enzyme in the photosynthetic process [9].

Among the physiological changes induced by salinity stress is the overproduction of reactive oxygen species (ROS), a group of highly reactive molecules that can damage cellular components, including DNA, proteins, and lipids, leading to lipid peroxidation. [2,10]. To combat this, plants have developed various physiological mechanisms to cope with the stress, both enzymatic (e.g., superoxide dismutase, SOD; catalase, CAT; peroxidase, POX; glutathione peroxidase, GPX) [11] and non-enzymatic (e.g., ascorbic acid, ASC; reduced glutathione, GSH; and α -tocopherol) systems [12]. In response, the plant accumulates compatible solutes—such

as soluble sugars, amino acids, phenolic compounds, and betaines—that enhance cellular osmotic potential, helping the plant retain water and cope with soil salinity [13].

The development of strategies that can mitigate the harmful effects of salinity is one global demand [14]. Based on this, much research has focused on the use of bioregulators, with emphasis on salicylic acid (SA) [15-18]. SA is a phytohormone synthesized in plants through two primary pathways – phenylalanine ammonia-lyase (PAL) and isochorismate. Its role in plant defense mechanisms under biotic (such as pathogen attack) and abiotic (such as drought, salinity, and extreme temperatures) stress has been widely investigated in several species [19-21]. Nonetheless, less is known about SA effects on wild plants rich in bioactive molecules, such as *Dizygostemon riparius* (Plantaginaceae family). In addition to its stress mitigation effect, SA is also known as an elicitor to induce the production of secondary metabolites in plants [22]. Thus, researching the effect of SA on *Dizygostemon riparius* under salinity conditions is the starting point to direct towards a better cultivation system in line with a better understanding of the impact of salinity on the ecophysiology of this species.

Dizygostemon riparius was first cataloged in 2019 in the Brazilian Cerrado, Maranhão state, Brazil [23]. This species is a subshrub approximately 50 cm in height, ranging from prostrate to erect, with simple to highly branched stems [23,24]. It has oval to elliptical leaves, sparsely pubescent and gland-dotted, with an acute to obtuse apex and crenate-serrate margins [23,24]. Terminal flowers are subsessile, with a pubescent and glandular calyx and lanceolate sepals [23,24]. Corolla is white to lilac, with a tomentose tube [23,24]. This species has aroused strong interest in several studies due to its phytochemical potential [25]. The essential oils of this plant species can be used to control the plant disease anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) in mango (*Mangifera indica*) fruits [26], to control *Aedes albopictus* larvae [27], and to repel and control the population growth of red spider-mites (*Tetranychus neocaledonicus*) [28]. Furthermore, the leaf extract can be used to control *Aedes aegypti* larvae, a vector of arboviruses [29]. Besides, in this latest study, phytochemical analysis identified compounds such as polymethoxyflavones and coumarins, with the ethyl acetate extract demonstrating the highest efficacy in larvicidal bioassays ($LC_{50} = 542.2 \pm 11.5 \mu\text{g mL}^{-1}$) [29]. Despite its great potential, little is known about its cultivation and management, mainly under adverse conditions, such as saline soils.

Given that, the SA effects on wild plants rich in bioactive molecules, such as *Dizygostemon riparius*, are little known, researching the effect of SA on this plant under salinity conditions is the starting point to direct towards a better cultivation system in line with a better

understanding of the impact of salinity on the ecophysiology of this species. We aimed to evaluate the effect of two SA concentrations (0 and 100 μM), applied via foliar spray, on *Dizygostemon riparius* under three salinity levels (0, 200, and 400 mM NaCl) and their impact on traits related to ecophysiology and growth.

2. RESULTS

2.1 Phenotypic aspects of plants

Dizygostemon riparius plants under salinity (200 and 400 mM NaCl) displayed wilting, but few symptoms of leaf chlorosis, in which a slight gradual loss of pigments was evident in older leaves (Figure 1). The wilting response in plants was concentration-dependent and independent of the SA application (Figure 1).

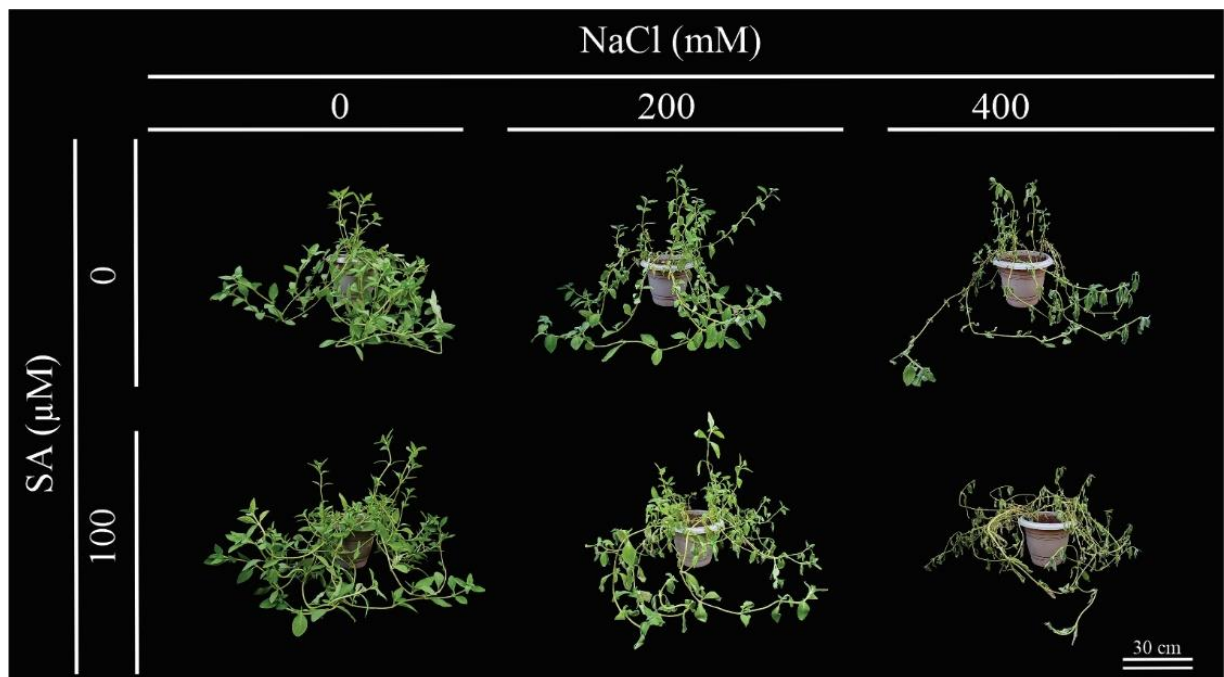


Figure 1. Phenotypic aspects of 66-day-old *Dizygostemon riparius* plants treated without and with salicylic acid (0 and 100 μM for twenty-one days), and grown under different salinity levels (0, 200, and 400 mM NaCl for six days).

2.2 Impact of SA applications on plant ecophysiology during exposure to different salinity levels

Dizygostemon riparius plants without and with application of SA (0 and 100 μM) and under salinity (200 and 400 mM NaCl, respectively) displayed significant changes in gas exchange parameters from the second day onwards (Figure S1). Plants without SA application and under 200 mM NaCl showed a reduction in net carbon assimilation of 57 and 86% at 4 and

6 days, respectively; while plants with SA application, at this same salinity level, showed a smaller reduction of 35 and 72% at 4 and 6 days, respectively, when compared to 0 day (Figure S1A). Similarly, plants without SA application and under 400 mM NaCl showed a reduction in net carbon assimilation of 80 and 91% at 4 and 6 days, respectively; while plants with SA application, at this same salinity level, showed a smaller reduction of 74% at 4 days and there was no mitigation at 6 days in comparison to 0 day (Figure S1A).

Plants without SA application and under 200 mM NaCl showed a reduction in stomatal conductance of 75 and 92% in 4 and 6 days, respectively; while plants with SA application, at this same salinity level, showed a smaller reduction of 28 and 80% in 4 and 6 days, respectively, when compared to 0 day (Figure S1B). Similarly, plants without SA application and under 400 mM NaCl showed a reduction in stomatal conductance of 83 and 91% in 4 and 6 days, respectively; while plants with SA application, at this same salinity level, showed a smaller reduction of 73% in 4 days and there was no mitigation in 6 days compared to 0 day (Figure S1B).

Plants without SA application and under 200 mM NaCl showed a reduction in internal CO₂ concentration of 26 and 27% in 4 and 6 days, respectively, compared to 0 day (Figure S1C). In contrast, plants with SA application, at this same salinity level, showed a 15% increase in internal CO₂ concentration at 4 days, compared to day 0. More strikingly, plants with SA application and under 400 mM NaCl showed an increase in internal CO₂ concentration of 15 and 57% at 4 and 6 days, respectively, compared to day 0 (Figure S1C).

Plants without SA application and under 200 mM NaCl showed a reduction in transpiration rate of 75 and 86% in 4 and 6 days, respectively; while plants with SA application, at this same salinity level, showed a milder reduction of 31 and 54% in transpiration rate at 4 and 6 days, respectively, compared to 0 day (Figure S1D). At 400 mM NaCl, the plants also followed this same response pattern. Plants without SA application and under 400 mM NaCl showed a reduction in transpiration rate of 81 and 81% in transpiration rate at 4 and 6 days, respectively; while plants with SA application, at this same salinity level, showed a milder reduction of 61 and 78% in transpiration rate at 4 and 6 days, respectively, compared to 0 day (Figure S1D).

Collectively, SA mitigates the deleterious effects of salinity on gas exchange parameters of plants. In contrast, the maximum quantum yield of photosystem II did not reduce over time, even under high salinity (400 mM NaCl) (Figure S1E).

The statistical results for chlorophyll fluorescence, photosynthetic pigments, gas exchange, dry mass, leaf temperature, and proline and total soluble carbohydrates parameters revealed varying levels of significance in 66-day-old *Dizygostemon riparius* plants treated with and without salicylic acid (0 and 100 μM for twenty-one days) and grown under different salinity levels (0, 200, and 400 mM NaCl for six days).

2.3 Impact of SA applications on chlorophyll a fluorescence and photosynthetic pigments after six days of plant under different salinity levels

The initial fluorescence (F_0), maximum fluorescence (F_m) (Figure 2B), variable fluorescence (F_v) (Figure 2C), maximum quantum yield of photosystem II (F_v/F_m) (Figure 2D), energy absorbed per active reaction center (RC/ABS) (Figure 2E), variable fluorescence per initial fluorescence ratio (F_v/F_0) (Figure 2F), and the performance index (PI) (Figure 2G) were not significantly modulated, either positively or negatively, in relation to the applied treatments.

Similarly to the fluorescence response of chlorophyll *a*, the photosynthetic pigments were not significantly affected by the treatments. Chlorophyll *a* value ranged from 39.32 to 47.10 $\mu\text{g cm}^{-2}$ (Figure 3A), chlorophyll *b* ranged from 13.05 to 14.54 $\mu\text{g cm}^{-2}$ (Figure 3B), chlorophyll *a/b* ratio ranged from 2.90 to 3.32 (Figure 3C), total chlorophyll ranged from 52.97 to 61.26 $\mu\text{g cm}^{-2}$ (Figure 3D), and carotenoids ranged from 7.59 to 9.44 $\mu\text{g cm}^{-2}$ (Figure 3E). In contrast, a slight change in the total chlorophyll/carotenoid ratio was observed in plants under 0 mM NaCl, with a significant difference between 0 and 100 μM SA (Figure 3F).

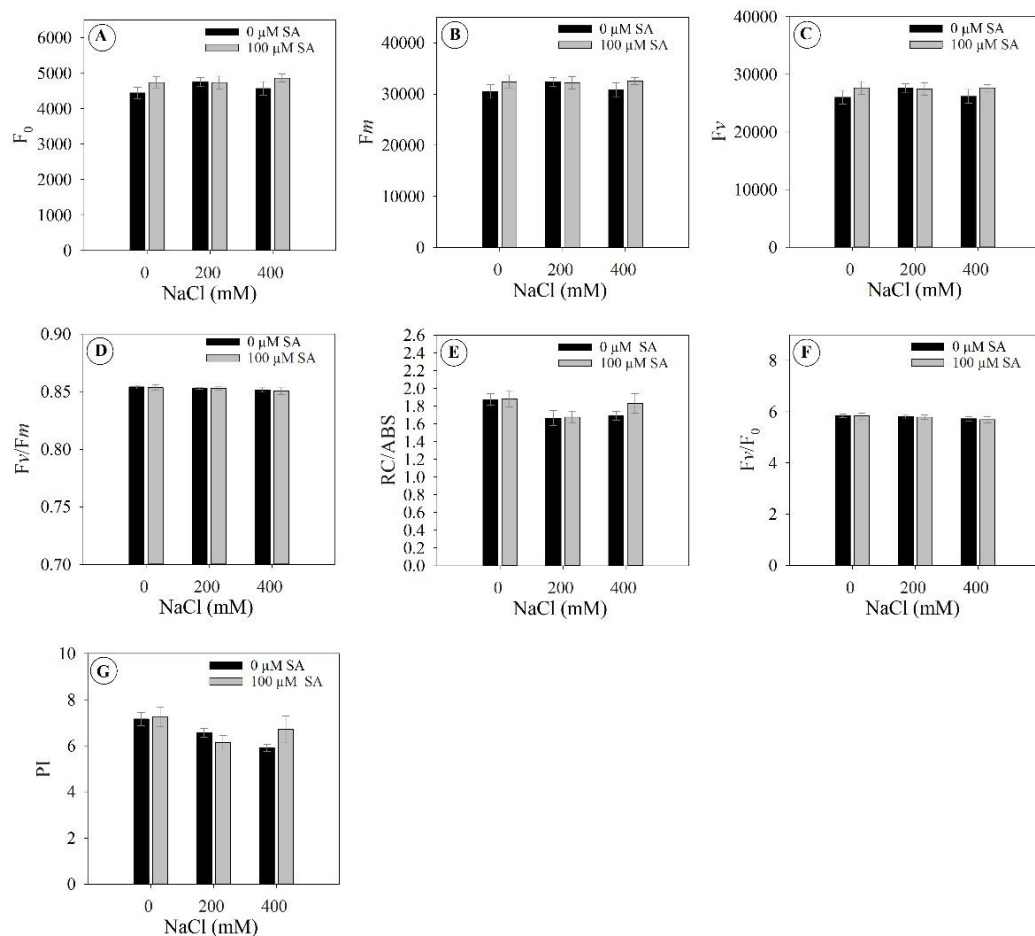


Figure 2. Chlorophyll *a* fluorescence parameter of 66-day-old *Dizygostemon riparius* plants treated without and with salicylic acid (0 and 100 μM for twenty-one days), and grown under different salinity levels (0, 200, and 400 mM NaCl for six days). Values represent means $\pm$ standard error (n=5). Means between treatments that are not significantly different are not labeled with letters. A) Initial fluorescence – F_0 ; B) Maximum fluorescence – F_m ; C) Variable fluorescence – F_v ; D) Maximum quantum yield of photosystem II – F_v/F_m ; E) Energy absorbed per active reaction center – RC/ABS; F) Variable fluorescence per initial fluorescence – F_v/F_0 , and G) Performance index – PI.

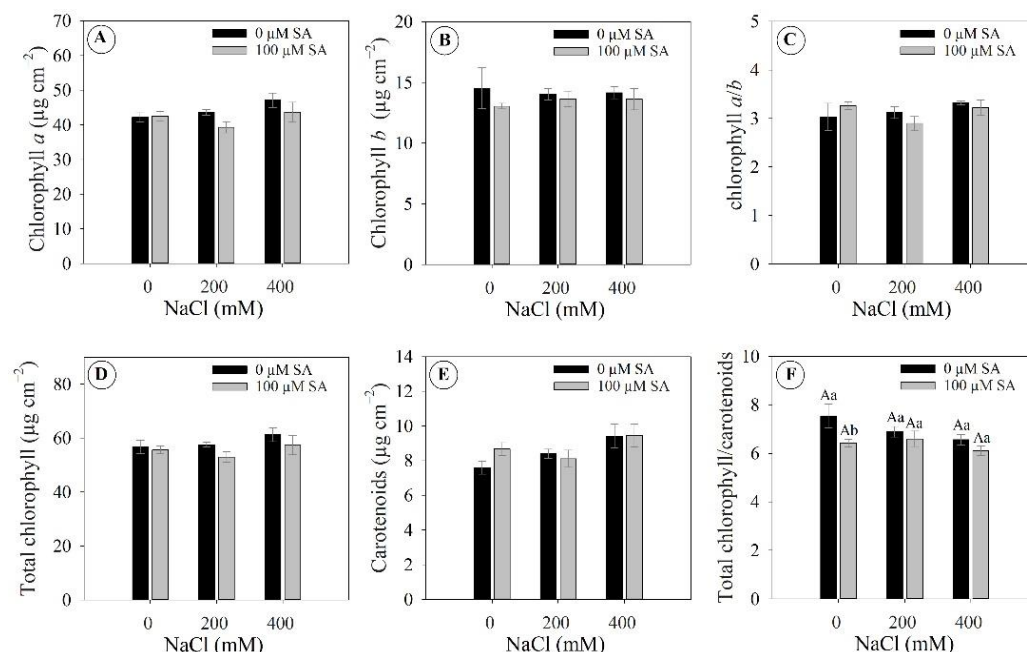


Figure 3. Photosynthetic pigments parameters of 66-day-old *Dizygostemon riparius* plants treated without and with salicylic acid (0 and 100 μM for twenty-one days), and grown under different salinity levels (0, 200, and 400 mM NaCl for six days). Values represent means $\pm$ standard error (n=5). Capital letters compare salinity levels within each salicylic acid treatment, while lowercase letters compare the control and salicylic acid treatment within each salinity level (Skoot-Knot test; $p \leq 0.05$). Means between treatments that are not significantly different are not labeled with letters. A) Chlorophyll a; B) Chlorophyll b; C) Chlorophyll a/b; D) Total chlorophyll; E) Carotenoids; and F) Total chlorophyll/carotenoid.

2.4 Impact of SA applications on gas exchange after six days of plant under different salinity levels

Regardless of the SA application, 200 and 400 mM NaCl concentrations caused a sharp decrease in the net photosynthetic CO₂ assimilation, reducing it by 81% and 91%, respectively, compared to the control treatment (or 0 mM NaCl) (Figure 4A). However, specifically at 200 mM NaCl, the application of 100 μM SA in the plants increased 87% higher net photosynthetic CO₂ assimilation compared to the application of 0 μM SA (Figure 4A).

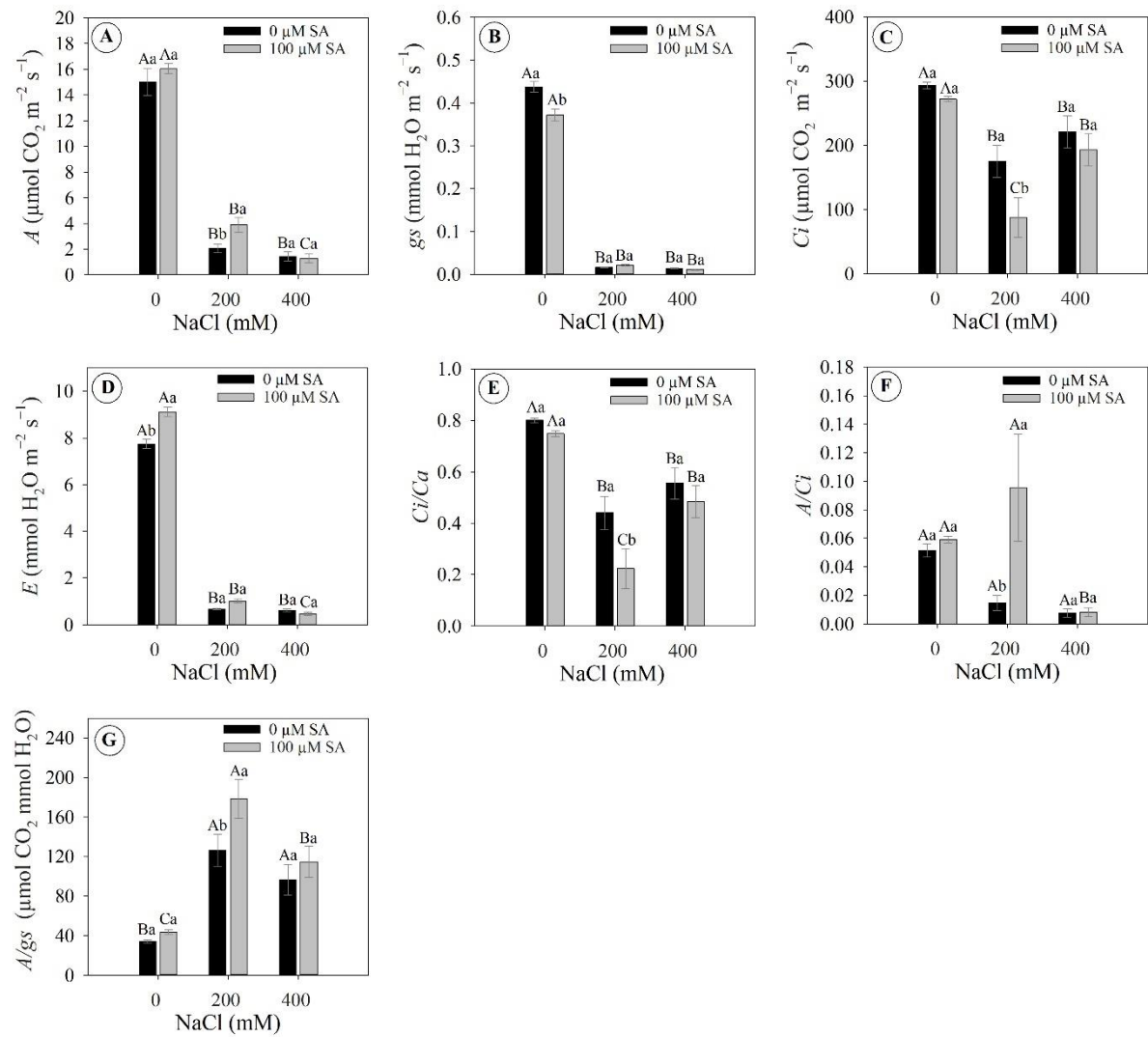


Figure 4. Gas exchange parameters of 66-day-old *Dizygostemon riparius* plants treated without and with salicylic acid (0 and 100 μM for twenty-one days), and grown under different salinity levels (0, 200, and 400 mM NaCl for six days). Values represent means $\pm$ standard error ($n=5$). Capital letters compare salinity levels within each salicylic acid treatment, while lowercase letters compare the control and salicylic acid treatment within each salinity level (Skoot-Knot test; $p \leq 0.05$). A) Net carbon assimilation – A ; B) Stomatal conductance – g_s ; C) Internal CO_2 concentration – C_i ; D) Transpiration rate – E ; E) Ambient intercellular CO_2 concentration ratio – C_i/C_a ; F) Carboxylation efficiency – A/C_i ; and G) Intrinsic water use efficiency – A/g_s .

Stomatal conductance to water vapor showed a significant difference only in the treatment with 0 mM NaCl, indicating that foliar application of SA can reduce stomatal conductance in salinity-free environments (Figure 4B). On the other hand, plants under 200 and 400 mM NaCl exhibited a marked reduction of 95 and 97%, respectively, compared to 0 mM NaCl (Figure 4B).

In plants exposed to 200 mM NaCl, the internal CO₂ concentration decreased with the application of 100 µM SA compared to 0 µM SA (Figure 4C), suggesting that SA application can partially attenuate the deleterious effects of salt stress at this concentration. This finding is further supported by the increase in net photosynthetic CO₂ assimilation at this salinity level (see Figure 4A).

Plants under 200 and 400 mM NaCl displayed a drastic reduction in transpiration rate of 90 and 94%, respectively, compared to the control (Figure 4D). Interestingly, in plants under 0 mM NaCl, the application of 100 µM SA induced an 18% higher transpiration rate, compared to the 0 µM SA treatment (Figure 4D).

Plants under 200 and 400 mM NaCl displayed a reduction in the ambient intercellular CO₂ concentration ratio of 57 and 33%, respectively, compared to the control (Figure 4E). Specifically for plants under 200 mM NaCl, it was observed that the application of 100 µM SA promoted a 7% reduction in the ambient intercellular CO₂ concentration ratio compared to the 0 µM SA treatment (Figure 4E).

Plants under 200 mM NaCl salinity displayed a distinct response pattern (e.g., 0 µM SA × 100 µM SA), since the application of 100 µM SA promoted four times more carboxylation efficiency compared to plants without application (or 0 µM AS), indicating a possible mitigation of the deleterious effects on photosynthetic performance (Figure 4F). Similarly, plants exposed to 200 mM NaCl with 100 µM SA application exhibited 41% greater intrinsic water use efficiency compared to plants without the application (or 0 µM AS) (Figure 4G).

2.5 High salinity affects leaf temperature

Plants with and without salicylic acid application under 400 mM NaCl exhibited a significant increase of 4°C in leaf temperature compared to plants under 0 mM NaCl, which corresponds to an increase of 11% (Figure 5A–B).

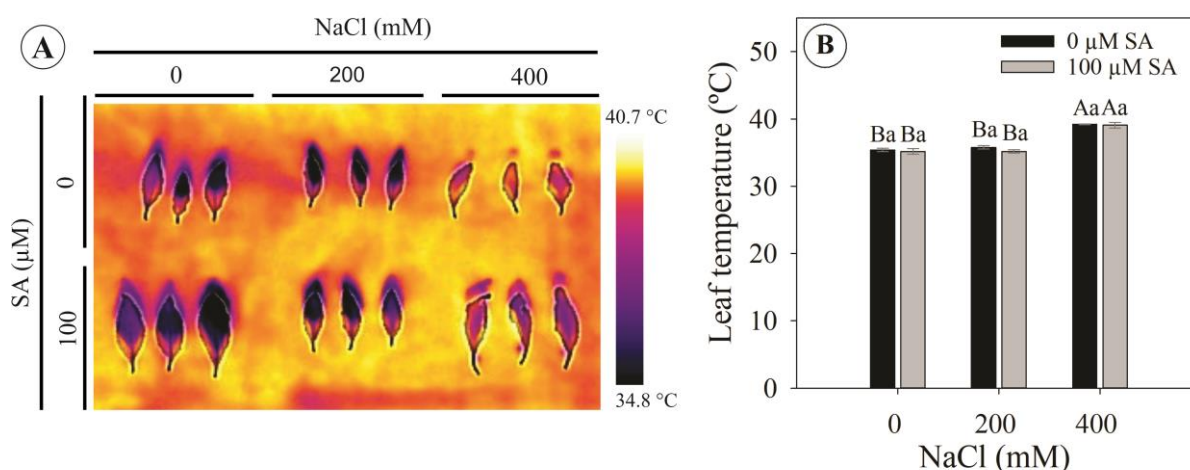


Figure 5. Leaf temperature of 66-day-old *Dizygostemon riparius* plants treated without and with salicylic acid (0 and 100 μ M for twenty-one days), and grown under different salinity levels (0, 200, and 400 mM NaCl for six days). Values represent means $\pm$ standard error ($n=5$). Capital letters compare salinity levels within each salicylic acid treatment, while lowercase letters compare the control and salicylic acid treatment within each salinity level (Skoot-Knot test; $p \leq 0.05$). A) Thermal imaging and B) Leaf temperature.

2.6 SA applications and salinity levels affect growth and dry mass

The length of the aerial part was not changed in plants without SA application (0 μ M AS) at 0, 200, and 400 mM NaCl, while plants with SA application (100 μ M SA) displayed a significant reduction of 15% only at 200 mM NaCl compared to the control (0 mM NaCl) (Figure 6A). The stem diameter in plants without SA application (0 μ M SA) significantly reduced by 12% only at 400 mM NaCl compared to the control (0 mM NaCl), while plants with SA application (100 μ M SA) significantly reduced by 14 and 15% at the concentrations of 200 and 400 mM compared to the control (0 mM NaCl) (Figure 6B). For root length, there was no significant difference between treatments, in which the length varied from 0.78 to 2.09 cm (Figure 6C).

Interestingly, plants without SA application (0 μ M SA) significantly reduced leaf dry mass by 62% at 400 mM NaCl compared to the control (0 mM NaCl) (Figure 6D). In contrast, plants with SA application (100 μ M SA) did not show significant changes, in which biomass varied from 1.63 to 2.50 g at salinity concentrations (0, 200 and 400 mM NaCl) (Figure 6D). Following this same response pattern, in the same way, only plants without SA application (0 μ M SA) significantly reduced by 61 and 48% the stem dry mass and the root dry mass,

respectively, while plants with SA application (100 μM SA) did not present significant changes (Figure 6E–F).

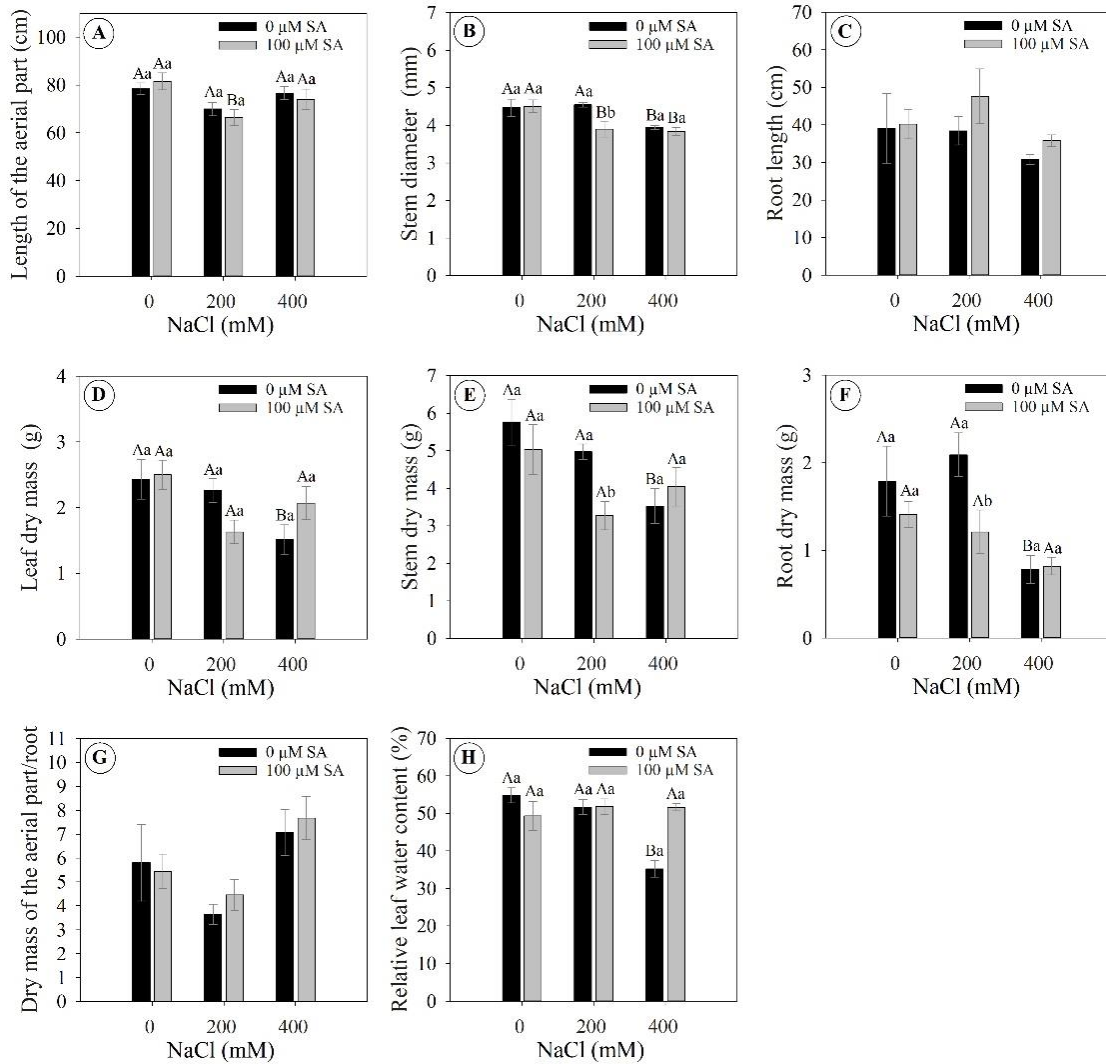


Figure 6. Growth and dry mass parameters of 66-day-old *Dizygostemon riparius* plants treated without and with salicylic acid (0 and 100 μM for twenty-one days), and grown under different salinity levels (0, 200, and 400 mM NaCl for six days). Values represent means $\pm$ standard error ($n=5$). Capital letters compare salinity levels within each salicylic acid treatment, while lowercase letters compare the control and salicylic acid treatment within each salinity level (Skoot-Knot test; $p \leq 0.05$). Means between treatments that are not significantly different are not labeled with letters. A) Length of the aerial part (cm); B) Stem diameter (mm); C) Root length (cm); D) Leaf dry mass (g); E) Stem dry mass (g); F) Root dry mass (g); G) Ratio between dry mass of the aerial part and root; and H) relative rate of leaf water (%).

The shoot-to-root dry mass ratio tended to show greater biomass accumulation in the shoot compared to the root in plants exposed to 400 mM NaCl, although the differences were not statistically significant (Figure 6G). The relative leaf water content indicated that plants

treated with SA (100 μ M SA) under 400 mM NaCl were able to maintain the levels of the relative rate of water compared to the control (0 mM NaCl), while plants without SA application (0 μ M SA) in the same condition displayed a significant reduction of 64% compared to the control (0 mM NaCl) (Figure 6H).

2.7 Proline and total soluble carbohydrates concentrations in leaves

Dizygostemon riparius plants with and without SA application under different salinity levels did not exhibit significant changes in proline concentration, which ranged from 1.9 to 5.2 μ mol g⁻¹ dry mass (Figure 8A), while the concentration of total soluble carbohydrates showed a slight reduction in plants without SA under 400 mM NaCl (Figure 7B).

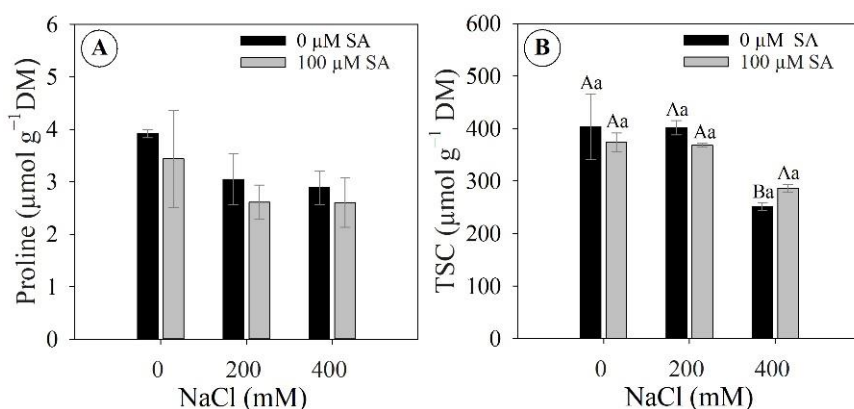


Figure 7. Proline concentration and Total soluble carbohydrates (TSC) in leaves of 66-day-old *Dizygostemon riparius* plants treated without and with salicylic acid (0 and 100 μ M for twenty-one days), and grown under different salinity levels (0, 200, and 400 mM NaCl for six days). Values represent means $\pm$ standard error (n=3). Capital letters compare salinity levels within each salicylic acid treatment, while lowercase letters compare the control and salicylic acid treatment within each salinity level (Skoot-Knot test; $p \leq 0.05$). Means between treatments that are not significantly different are not labeled with letters. A) Proline and B) Total soluble carbohydrates – TSC.

3. DISCUSSION

Saline soils exert a range of negative effects on plant growth and development, disrupting physiological processes and limiting the ability of plants to achieve optimal biomass and productivity [1,2]. Therefore, this significant global issue necessitates research to evaluate the adaptability strategies of sensitive plants to saline conditions, as well as the potential of salicylic acid (SA) to mitigate the harmful effects of salinity [17,18]. This is the first study to provide ecophysiological insights into *Dizygostemon riparius*, an important source of bioactive molecules, while also assessing its performance under SA application in saline conditions. Our results showed that SA partially mitigated the detrimental effects of salinity, with 100 μ M SA

maintaining dry mass and relative water content in the leaves of *Dizygostemon riparius* grown under high salinity (400 mM NaCl).

Salinity caused wilting in *Dizygostemon riparius* plants, regardless of SA application. This response is typical under high salinity, as increasing soil salinity leads to a more negative osmotic potential in the soil solution, making water absorption difficult for plants and resulting in a drought-like phenotype [9,30]. Plants exposed to high salinity often wilt due to decreased root hydraulic conductivity, which minimizes the loss of tissue hydraulic integrity [6]. As a result, plant cells lose water, leading to decreased turgor pressure and resulting in a condition known as osmotic stress [31]. Although this phenotypic response was observed, no significant changes were noted in chlorophyll *a* fluorescence or photosynthetic pigments. The ionic toxicity caused by the high influx of Na⁺ and Cl⁻ into the plant can lead to inhibition of Rubisco activity (ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase enzymes), decreasing photosynthetic capacity of plants [9]. Here, gas exchange was strongly reduced from the second day onwards, independently of SA application; however, this was not observed for chlorophyll *a* fluorescence. Besides, it is important to highlight that this strong reduction in gas exchange in *Dizygostemon riparius* plants during exposure to salinity is a characteristic of plants classified as glycophytes [32]. Although plants in this group can express biochemical and physiological strategies to deal with salinity stress, they are not always successful [33]. The results indicate that there were no photochemical limitations, as shown by the lack of decrease in fluorescence parameters [34]. Conversely, the strong reduction in carboxylation efficiency (*A/Ci*) and stomatal conductance, followed by decreases in internal CO₂ concentration and increases in *A/gs*, suggest both, biochemical and diffusive limitations to photosynthesis [34]. This is in accordance with the results observed for leaf temperature, which is related not only to a drastic reduction in the transpiration rate [31], but also to the accumulation of sodium ions in the leaves, leading to oxidative and thermal stress that cause damages to the photosynthetic apparatus [35,36].

It is noteworthy that the lack of differences in chlorophyll *a* fluorescence and photosynthetic pigment levels were unexpected findings, as a decrease was anticipated in response to salinity. A possible explanation for the maintenance of chlorophyll levels in plants under salinity is the sustained expression of enzymes involved in chlorophyll biosynthesis (such as chlorophyll synthase, Mg-chelatase, and protochlorophyllide oxidoreductase), despite concurrent degradation, since these pathways are dynamic in nature [35].

The increase in leaf temperature may be related not only to a drastic reduction in the transpiration rate [31], but also due to the accumulation of sodium ions in the leaves, which leads to increased oxidative and thermal stress in the plant in line with possible damage to the thylakoid membranes, increasing heat dissipation [35,36].

The application of salicylic acid (SA) to *Dizygostemon riparius* plants mitigated the harmful effects of salinity on gas exchange, particularly at 200 mM NaCl. Additionally, SA application significantly increased relative water content in plants exposed to 400 mM NaCl and helped maintain dry biomass in plants under both 200 and 400 mM NaCl. Several studies confirm that the application of SA, whether as a pre-treatment or post-treatment, enhances ecophysiological responses against the effects of salinity [37-39]. Treatment with SA is also reported to improve plant biomass, chlorophyll content, relative water content, and stomatal conductivity [40], corroborating our findings.

Under high salinity, salicylic acid (SA) triggers a signaling response that induces the accumulation of osmoprotectants (e.g., glycine betaine, proline, and polyamines) and enhances the activities of antioxidant enzymes (e.g., superoxide dismutase [SOD], catalase [CAT], peroxidase [POX], and glutathione peroxidase [GPX]) [38]. This partly explains its use as a powerful bioregulator in mitigating the deleterious effects of salt stress [14]. However, this response is variable, while some plants respond positively in improving their defense against high salinity [37-39], others do not appear to be driven to improve their defenses [41-43]. Our results did not show a clear modulation of proline levels in plants under salinity; therefore, this amino acid did not serve as either an osmolyte or a protein protector [44] or, possibly, osmoprotection may be mediated by other mechanisms that were not accessed in this study (e.g., glycine betaine and polyamines) [44]. Other studies report that increased proline concentrations may be more related to metabolic disorders induced by severe stress [45].

Dizygostemon riparius exhibited salt-sensitive behavior under the salinity levels tested, while salicylic acid (SA) treatment positively affected relative water content and carboxylation efficiency, as well as helped maintain plant dry biomass. This is the first study on the cultivation and management practices of *Dizygostemon riparius*, a recently cataloged species. The current research provides new insights into the ecophysiology of *Dizygostemon riparius*; however, further studies are needed to access the effects of SA under other salinity levels, as well as at the secondary metabolism level, antioxidant enzyme assays and indicators such as malondialdehyde, hydrogen peroxide content, and soluble protein, especially to know if the application of SA can modulate the essential oil profile of this species.

4. MATERIALS AND METHODS

4.1 Plant material and experimental conditions

Dizygostemon riparius plants were obtained by cloning using the cutting method from mother plants kept in pots in the greenhouse of the Postgraduate Program in Agricultural Sciences of the Maranhão State University, São Luís, Maranhão state, Brazil (2° 31' 51" S and 44° 18' 24" W). For plant cloning, cuttings measuring 10 cm in length, with two internodes and having four axillary meristems were selected, in which a bevel cut was made, and the leaves and stem apical meristem were removed. The cuttings were planted in commercial substrate Carolina Soil® (Santa Cruz do Sul, RS, Brazil) and surface forest soil (1:1, v/v). At 30 days after planting, fertigation was performed with 100 mL in each pot (Plantpar® Indústria e Comércio de Fertilizantes LTDA, Umuarama, PR, Brazil; see Table S1). During the experiment period, the average temperature was $\sim 29 \pm 2$ °C and the relative humidity was 76% recorded by a digital thermo-hygrometer (Incoterm®, Porto Alegre, RS, Brazil), under natural light conditions with an intensity of $\sim 1,075$ $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ and a photoperiod of 12 h.

4.2 Salicylic acid and salinity treatments

To test the effect of SA on plants under different salinity conditions, two concentrations (0 and 100 μM SA) were chosen based in previous works with other species rich in bioactive molecules [46]. 15 mL plant⁻¹ of both treatments were applied from 45 days of cultivation using a portable plastic sprayer with a capacity of 500 mL (Nobre®, Biguaçu, SC, Brazil) until the leaves had wet abaxial and adaxial surfaces. Applications were performed on alternate days, totaling 12 applications for 21 days (until the end of the experiment). The 0 μM AS solution was distilled water only, while the 100 μM SA solution was prepared by dissolving AS in distilled water (Isofar®, Duque de Caxias, RJ, Brazil).

At 60 days of plant cultivation, the two groups of plants from the SA treatments (0 and 100 μM AS) were subjected to three concentrations of soil salinity for 6 consecutive days: 0, 200, and 400 mM NaCl (Isofar®, Duque de Caxias, RJ, Brazil). These vegetative stages and application times were selected due to the plants' ability to produce essential oils during this period. NaCl applications occurred gradually until reaching the established concentrations for each treatment (e.g., 100, 200, 300, and 400 mM were applied). The plants were irrigated with saline solution up to 80% of field capacity. The NaCl solutions prepared with water presented electrical conductivities of 0.06; 13.04; and 18.67 mS cm⁻¹ for the concentrations of 0, 200, and 400 mM NaCl, respectively (Gehaka, São Paulo, SP, Brazil) (Figure 8).

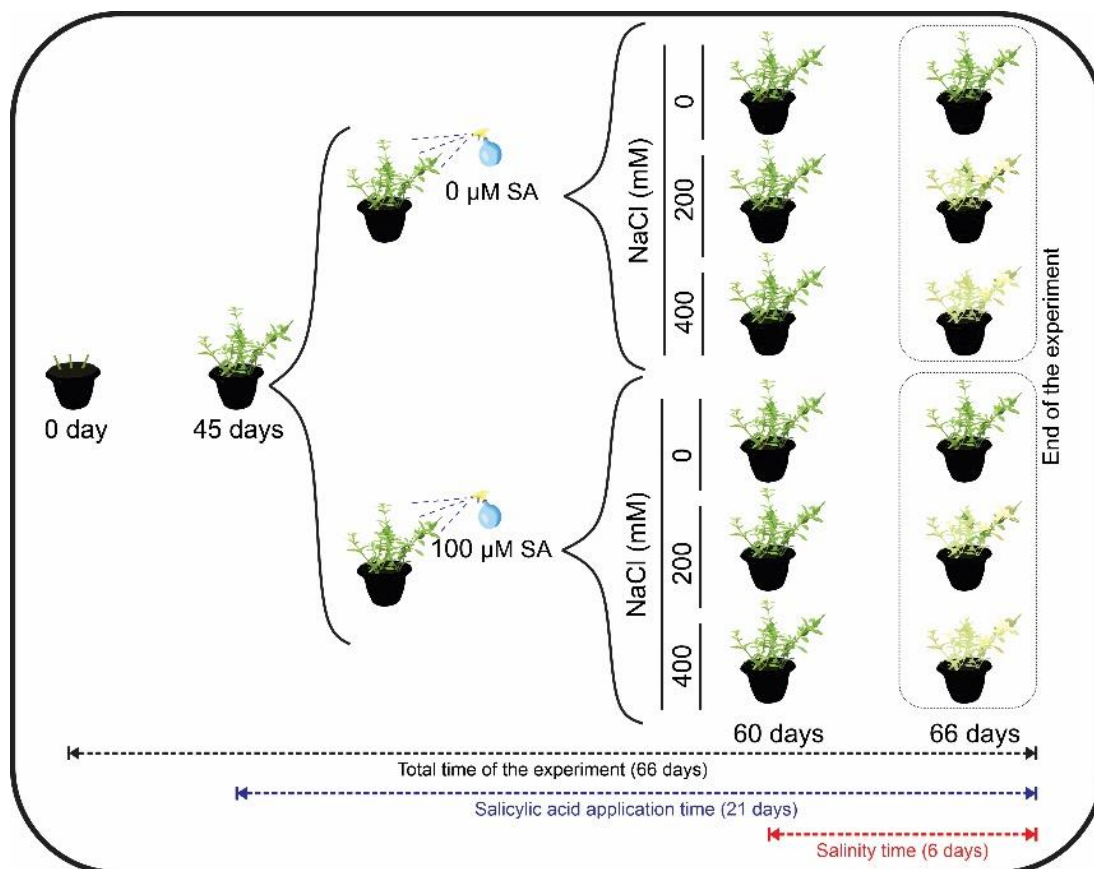


Figure 8. Schematic representation of the experimental design: two salicylic acid concentrations (0 and 100 μM AS) and three salinity concentrations (0, 200 and 400 mM NaCl) on *Dzygostemon riparius*. See further details in the Materials and Methods section.

4.3 Chlorophyll *a* fluorescence and leaf gas exchange

Chlorophyll *a* fluorescence and gas exchange measurements were performed on the 4th pair of fully expanded leaves from the shoot apex of the plants at 0, 2, 4, and 6 days in plants under salinity. For chlorophyll *a* fluorescence, leaves were dark-adapted for 30 min using specific leaf clips (Hansatech Instrument Ltd., King's Lynn, Norfolk, UK), this adaptation ensures complete opening of the reaction centers with minimal heat loss. The parameters of initial fluorescence (F_0), maximum fluorescence (F_m), Variable fluorescence (F_v), maximum quantum yield of photosystem II (F_v/F_m), energy absorbed per active reaction center (RC/ABS), Variable fluorescence per initial fluorescence (F_v/F_0), and the performance index (PI) were accessed using a portable non-modulated fluorimeter (Pocket PEA, Hansatech Instrument Ltd., King's Lynn, Norfolk, UK).

Gas exchange analyzes were performed using the open gas exchange system Li-6400XT (Li-Cor, Lincoln, NE, USA). The net photosynthetic CO_2 assimilation (A), stomatal conductance to water vapor (g_s), transpiration rate (E), internal CO_2 concentration (C_i), ambient

intercellular CO₂ concentration ratio (C_i/C_a), carboxylation efficiency (A/C_i); and, intrinsic water use efficiency (A/g_s) were measured between 06:30 and 08:00 h – local time – under an external CO₂ concentration of 400 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ air and average air temperature of 32 °C. To optimize stomata opening, all measurements were conducted under artificial and saturated light of 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ produced by a light-emitting diode generating 10% blue light.

4.4 Extraction and quantification of photosynthetic pigments

Pigments were extracted from leaf discs with 5 mm in diameter, which were obtained from the fourth and fifth pair of leaves fully expanded leaf below the apex. The leaf discs were immersed in 5 mL of dimethyl sulfoxide (DMSO; Êxodo científica®, Sumaré, SP, Brazil) and left in the dark for 48 h. Absorbance measurements of the samples at 665 nm, 649 nm, and 480 nm were taken using a UV-visible spectrophotometer (mono-beam) (model UV-M51; BEL Engineering Company, Monza, Italy) in a 10 mm quartz cuvette. The calculation of chlorophyll *a*, *b*, and carotenoids followed the method outlined by Wellburn [47].

4.5 Leaf thermography

Thermal images of the fourth and fifth pair of leaves from the apex to the base of the plant were captured using a FLIR E8 WIFI thermal imaging camera (FLIR Systems®, Wilsonville, Oregon, USA). The camera was positioned vertically in relation to the leaves at an approximate distance of 100 cm (accuracy of $\pm 2\%$). Evaluations were carried out between 08:30 and 09:00. The captured images were processed in the FLIR Thermal Studio Suite software version 2.0.x (Copyright®, 2024, USA).

4.6 Relative leaf water content

Five leaf discs with 5 mm diameter of fully expanded leaf were collected, the discs were immediately weighed to access the fresh mass (FM), then placed in plastic cups with 8 mL of distilled water for 24 hours and then weighed to obtain the turgid mass (TM), then the discs were dried in an oven at 45 °C for 48 hours to obtain dry mass (DM). The relative water content was calculated as $\text{RLWC (\%)} = [(FM-DM) / (TM-DM)] \times 100$ [48].

4.7 Growth and development analysis

The measurements of length of the shoot (cm), stem diameter (mm), and root length (cm) were accessed. Then, the plants were separated by plant organ (leaf, stem, and root) and dried in an oven (SolidSteel®, Piracicaba, SP, Brazil) at 45 °C until reaching constant mass. The

leaf dry mass (g), stem dry mass (g), root dry mass (g), and the ratio between dry mass of the aerial part and root were accessed.

4.8 Total carbohydrates concentration in leaf

Total soluble carbohydrates (TSC) analysis was performed according to Dubois et al. [49]. Approximately 50 mg dry mass of leaf tissue were macerated and homogenized in 4 mL of distilled water and then vortexed (Ambikontrol[®], Arujá, SP, Brazil). Subsequently, the material was centrifuged (Eppendorf[®], Hamburg, Germany) at 3000 rpm for 15 minutes in 25 °C, then the supernatant was collected and centrifuged again at 6000 rpm for 10 minutes. The supernatant was collected and used to quantify TSC. Then, 50 µL aliquots of the extract were removed and the volume was completed to 0.5 mL with distilled water, adding 500 µL of 5% phenol solution and vortexing, followed by the addition of 2.5 mL of concentrated sulfuric acid. Then, the samples were placed in an ice bath for 10 minutes to cool and fix the color, the solution was vortexed, and the samples were read using a spectrophotometer (Metash[®], Shanghai, China) at 490 nm. The TSC contents were expressed in µmol carbohydrates g⁻¹ of dry mass (DM).

4.9 Proline concentration in leaf

Proline content was determined following Bates et al. [50], with modifications. Approximately 50 mg dry mass of leaf tissue were macerated and homogenized in 2 mL of 3% sulfosalicylic acid (w/v), then vortexed and centrifuged at 3500 rpm for 10 min. Then, 0.5 mL of the supernatant was collected in a test tube added with 0.5 mL of H₂O, 1 mL of ninhydrin acid (Isofar[®], Duque de Caxias, RJ, Brazil) and 1 mL of glacial acetic acid (Isofar[®], Duque de Caxias, RJ, Brazil), and stored at 100 °C for 1 h, stopping the reaction in an ice bath for 10 min. After completion of the reaction, 2 mL of toluene (Isofar[®], Duque de Caxias, RJ, Brazil) were added, and the mixture was shaken in a vortex test tube shaker. Readings were performed using a spectrophotometer (Metash[®], Shanghai, China) at a wavelength of 520 nm and a calibration curve was obtained by preparing standard proline solutions (0–0.150 µmol mL⁻¹; Êxodo científica[®], Sumaré, SP, Brazil) and expressed in µmol g⁻¹ dry mass (DM).

4.10 Experimental design and statistical analysis

The experiment was conducted in a completely randomized design, in a 2 × 3 factorial scheme [two concentrations of salicylic acid (0 and 100 µM SA) × three salinity levels (0, 200 and 400 mM NaCl)], with 5 replicates and the experimental unit formed with three plants per

pot. The data were tested for normality by the Shapiro–Wilk test, analysis of variance, and the means compared by the Skoott-Knott test ($p \leq 0.05$) using the Genes software [51].

5. CONCLUSIONS

Our findings demonstrate that salicylic acid (SA) application at 100 μM effectively mitigates some of the detrimental impacts of salinity on plants *Dizygostemon riparius*, particularly under moderate salinity (200 mM NaCl). SA treatment maintained dry biomass, improved relative water content, and enhanced carboxylation efficiency, suggesting that SA supports the photosynthetic apparatus and water balance under salinity stress. Additionally, the SA application reduced transpiration loss and improved intrinsic water-use efficiency, which are critical for maintaining cellular homeostasis in saline conditions. This study, therefore, highlights the potential of SA as a bioregulator for cultivation in saline environments and provides a foundation for further investigations into its role in supporting the ecophysiology of *Dizygostemon riparius* under adverse conditions. Further studies, particularly at the biochemical level, are necessary to understand how stressful conditions modulate the primary and secondary metabolism in this species.

REFERENCES

1. Singh, A. Soil salinity: A global threat to sustainable development. *Soil Use Manage.* **2022**, 38, 1, 39-67. <https://doi.org/10.1111/sum.12772>
2. Hualpa-Ramirez, E.; Carrasco-Lozano, E.C.; Madrid-Espinoza, J.; Tejos, R.; Ruiz-Lara, S.; Stange, C.; Norambuena, L. Stress salinity in plants: New strategies to cope with in the foreseeable scenario. *Plant Physiol. Biochem.* **2024**, 108507. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2024.108507>
3. Negacz, K.; Malek, Ž.; de-Vos, A.; Vellinga, P. Saline soils worldwide: Identifying the most promising areas for saline agriculture. *J. Arid Environ.* **2022**, 203, 104775. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2022.104775>.
4. Ribeiro MR, Freire FJ, Montenegro AA (2003) Solos halomórficos no Brasil: Ocorrência, gênese, classificação, uso e manejo sustentável. In: Curi N, Marques JJ, Guilherme LRG, Lima JM, Lopes AS, Alvarez VVH (eds) Tópicos em Ciência do Solo. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa, pp 165–208
5. Martins A L S, Teixeira W G, Silva M B E, 2021. Saline soils in the baixada maranhense: a case study in Maranhão state, Brazil. Global Symposium on Salt-affected Soils. Available online: https://www.fao.org/fileadmin/user_upload/GSP/GSAS21/002.pdf. (accessed on 29 October 2024).
6. Balasubramaniam, T.; Shen, G.; Esmacili, N.; Zhang, H. Plants' Response Mechanisms to Salinity Stress. *Plants* **2023**, 12, 2253. <https://doi.org/10.3390/plants12122253>
7. Fu, H.; Yang, Y. How Plants Tolerate Salt Stress. *Curr. Issues Mol. Biol.* **2023**, 45, 7, 5914-5934. <https://doi.org/10.3390/cimb45070374>
8. Song, L.; Ding, R.; Du, T.; Kang, S.; Tong, L.; Xue, F.; Wei, Z. Stomatal conductance parameters of tomatoes are regulated by reducing osmotic potential and pre-dawn leaf water potential via increasing ABA under salt stress. *Environ. Exp. Bot.* **2023**, 206, 105176. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2022.105176>
9. Aguiló-Nicolau, P.; Iñiguez, C.; Capó-Bauçà, S.; Galmés, J. Rubisco kinetic adaptations to extreme environments. *Plant J.* **2024**. <https://doi.org/10.1111/tpj.16951>
10. Mahapatra, K.; Roy, S. SOG1 and BRCA1 interdependently regulate RAD54 expression for repairing salinity-induced DNA double-strand breaks in Arabidopsis. *Plant Cell Physiol.* **2024**, 65, 5, 708-728. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcae008>
11. Rizk, M.S.; Assaha, D.V.; Mekawy, A.M.M.; Shalaby, N.E.; Ramadan, E.A.; El-Tahan, A.M.; Ueda, A. Comparative analysis of salinity tolerance mechanisms in two maize genotypes: growth performance, ion regulation, and antioxidant responses. *BMC Plant Biol.* **2024**, 24, 1, 818. <https://doi.org/10.1186/s12870-024-05533-3>
12. Basu, S.; Kumar, G. Regulation of nitro-oxidative homeostasis: an effective approach to enhance salinity tolerance in plants. *Plant Cell Rep.* **2024**, 43, 193. <https://doi.org/10.1007/s00299-024-03275-y>
13. Rodrigues, M.J.; Neng, N.; Custódio, L. NaCl elicitation enhances metabolite accumulation and stress resilience in *Inula crithmoides* L. shoot cultures: implications for its nutritional and medicinal value. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* **2024**, 157, 17. <https://doi.org/10.1007/s11240-024-02750-4>
14. Srivastava, A.K.; Pasala, R.; Minhas, P.S.; Suprasanna, P. Plant bioregulators for sustainable agriculture: integrating redox signaling as a possible unifying mechanism. *Adv. Agron.* **2016**, 137, 237-278. <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2015.12.002>

15. Hussein, M.M.; Balbaa, L.K.; Gaballah, M.S. Salicylic acid and salinity effects on growth of maize plants. *Res. J. Agric. Biol. Sci.* **2007**, *3*, 4, 321-328.
16. Jayakannan, M.; Bose, J.; Babourina, O.; Rengel, Z.; Shabala, S. Salicylic acid in plant salinity stress signalling and tolerance. *Plant Growth Regul.* **2015**, *76*, 25-40. <https://doi.org/10.1007/s10725-015-0028-z>
17. Yang, W.; Zhou, Z.; Chu, Z. Emerging roles of salicylic acid in plant saline stress tolerance. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 4, 3388. <https://doi.org/10.3390/ijms24043388>
18. Ilyas, M.; Maqsood, M.F.; Shahbaz, M.; Zulfikar, U.; Ahmad, K.; Naz, N.; Ali, H.M. Alleviating salinity stress in canola (*Brassica napus* L.) through exogenous application of salicylic acid. *BMC Plant Biol.* **2024**, *24*, 1, 611. <https://doi.org/10.1186/s12870-024-05314-y>
19. Raskin, I. Role of salicylic acid in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* **1992**, *43*, 1, 439-463. <https://doi.org/10.4161%2Fpsb.6.11.17685>
20. Chen, Z.; Zheng, Z.; Huang, J.; Lai, Z.; Fan, B. Biosynthesis of salicylic acid in plants. *Plant Signal. Behave.* **2009**, *4*, 6, 493-496. <https://doi.org/10.4161%2Fpsb.4.6.8392>
21. Kaya, C.; Ugurlar, F.; Ashraf, M.; Ahmad, P. Salicylic acid interacts with other plant growth regulators and signal molecules in response to stressful environments in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, **2023**, *196*, 431-43. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.02.006>
22. Jeyasri, R.; Muthuramalingam, P.; Karthick, K.; Shin, H.; Choi, S.H.; Ramesh, M. Methyl jasmonate and salicylic acid as powerful elicitors for enhancing the production of secondary metabolites in medicinal plants: an updated review. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, **2023**, *153*, 3, 447-58. <https://doi.org/10.1007/s11240-023-02485-8>
23. Scatigna, A.V.; Brandão, C.M.; Colletta, G.D.; Teles, R. de M.; Cavalcante, K.S.B.; Souza, V.C.; Simões, A.O. *Dizygostemon riparius* (Plantaginaceae, Gratiolaceae), a new species from Maranhão, northeastern Brazil. *Willdenowia* **2019**, *49*, 177-186. doi: <https://doi.org/10.3372/wi.49.49206>
24. Scatigna, A.V.; Colletta, G.D.; Souza, V.C. *Dizygostemon* in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Available online: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB619096>. (accessed on 29 October 2024).
25. Galvão, F.S.; Rocha, C.Q.d.; Monteiro, O.S.; Figueiredo, P.L.B.; Santos, P.V.L.; Maia, J.G.S. Seasonal and Circadian Evaluation of the Essential Oil of *Dizygostemon riparius* (Plantaginaceae), a Wild Flavoring Herb from East Maranhão, Brazil. *Chem. Biodivers.* **2023**, *20*. doi: <https://doi.org/10.1002/cbdv.202300864>
26. Corrêa, L.A.D.; Rodrigues, A.A.C.; Dias, L.R.C.; Silva, E.K.C.; Monteiro, O. dos S.; Oliveira, L. de J.M.G. de. Antifungal potential of essential oils from *Pectis brevipedunculata* and *Dizygostemon riparius* in anthracnose control in mango. *Rev. Bras. Frutic.* **2023**, *45*, e-889. doi: <https://dx.doi.org/10.1590/0100-29452023889>
27. Brandão, C.M.; Cavalcante, K.S.B.; Teles, R.d.M.; Marques, G.E.d.C.; Monteiro, O.S.; Andrade, E.H.A.; Maia, J.G.S. Composition and Larvicidal Activity of the Oil of *Dizygostemon riparius* (Plantaginaceae), a New Aromatic Species Occurring in Maranhão, Brazil. *Chem. Biodivers.* **2020**, *17*, 11, e2000462. doi: [10.1002/cbdv.202000462](https://doi.org/10.1002/cbdv.202000462)
28. Ferreira, M.C.; Nojosa, E.C.N.; Marques, I.S.; Santos, D.R.d.; Marques, G.E. de C.; Cavalcante, K.S.B.; Teles, R. de M.; Barbosa, D.R. e S. Bioactivity of essential oils of *Dizygostemon riparius* (Plantaginaceae) on *Tetranychus neocaledonicus* (Acari: Tetranychidae). Available at Search Square **2024**, *1*, 1-16. doi: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-4396767/v1>
29. Martins, S.M.A.; Cavalcante, K.S.B.; Teles, R.d.M.; Brandão, C.M.; Godinho, A.S.; Silva, L.K.; Holanda, C.A.; Rocha, C.Q. da. Chemical profiling of *Dizygostemon riparius*

- (Plantaginaceae) plant extracts and its application against larvae of *Aedes aegypti* L. (diptera: culicidae). *Acta Trop.* **2023**, 237. doi: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2022.106706>
30. Munns, R.; Tester, M. Mechanisms of salinity tolerance. *Annu Rev Plant Biol.* **2008**, 59, 651-81. doi: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911
 31. Toscano, S.; Romano, D.; Ferrante, A. Molecular Responses of Vegetable, Ornamental Crops, and Model Plants to Salinity Stress. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, 24, 4, 3190. doi: 10.3390/ijms24043190. PMID: 36834600; PMCID: PMC9965374
 32. Duarte, B.; Santos, D.; Marques, J.C.; Caçador, I. Ecophysiological constraints of two invasive plant species under a saline gradient: Halophytes versus glycophytes. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* **2015**, 167, 154-165. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2015.07.023>
 33. Cheeseman, J.M. The evolution of halophytes, glycophytes and crops, and its implications for food security under saline conditions. *New Phytologist* **2015**, 206, 557-570. <https://doi.org/10.1111/nph.13217>
 34. Felipe, S.H.S.; Batista, D.S.; Vital, C.E.; Chagas, K.; Silva, P.O.; Silva, T.D.; Otoni, W.C. Salinity-induced modifications on growth, physiology and 20-hydroxyecdysone levels in Brazilian-ginseng [*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen]. *Plant Physiology and Biochemistry* **2019**, 140, 43-54. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.05.002>
 35. Parida, A.K.; Das, A.B. Salt tolerance and salinity effects on plants: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **2005**, 60, 324-349. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.06.010>
 36. Ashraf, M. Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. *Biotechnology Advances* **2009**, 27, 84-93. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.09.003>
 37. Keya, S.S.; Mostofa, M.G.; Rahman, M.M.; Das, A.K.; Sultana, S.; Ghosh, P.K.; Tran, L.S.P. Salicylic acid application improves photosynthetic performance and biochemical responses to mitigate saline stress in cotton. *Journal of Plant Growth Regulation* **2023**, 42, 5881-5894. <https://doi.org/10.1007/s00344-023-10974-5>
 38. Maqsood, M.F.; Shahbaz, M.; Zulfiqar, U.; Saman, R.U.; Rehman, A.; Naz, N.; Haider, F.U. Enhancing wheat growth and yield through salicylic acid-mediated regulation of gas exchange, antioxidant defense, and osmoprotection under salt stress. *Stresses* **2023**, 3, 372-386. <https://doi.org/10.3390/stresses3010027>
 39. Apon, T.A.; Ahmed, S.F.; Bony, Z.F.; Chowdhury, M.R.; Asha, J.F.; Biswas, A. Sett priming with salicylic acid improves salinity tolerance of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) during early stages of crop development. *Heliyon* **2023**, 9, e16030. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e16030>
 40. Farooq, M.; Hussain, M.; Rehman, H. Salicylic acid induced enhancement in the growth and yield of maize under saline conditions. *Journal of Plant Growth Regulation* **2015**, 34, 316-326. <https://doi.org/10.1007/s00344-014-9447-2>
 41. Lacerda, C.N.D.; Lima, G.S.D.; Soares, L.A.D.A.; Fátima, R.T.D.; Gheyi, H.R.; de Azevedo, C.A. Morphophysiology and production of guava as a function of water salinity and salicylic acid. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* **2022**, 26, 451-458. <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v26n6p451-458>
 42. Oliveira, V.K.N.; Lima, G.D.; Soares, M.D.M.; Soares, L.D.A.; Gheyi, H.R.; Silva, A.D.; Fernandes, P.D. Salicylic acid does not mitigate salt stress on the morphophysiology and production of hydroponic melon. *Brazilian Journal of Biology* **2022**, 82, e262664. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.262664>

43. Nobre, R.G.; Araujo, J.B.; de Carvalho, K.M.; Bezerra, I.L.; Silva, L.D.A.; Anjos Soares, L.A.; Filho, R.A.R. Quality of yellow passion fruit seedlings under saline water irrigation and salicylic acid concentrations. *Qualidade de mudas de maracujazeiro-amarelo sob irrigação com águas salobras e concentrações de ácido salicílico*. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* **2022**, *26*, 451-458. <https://doi.org/10.1590/1983-21252024v3711879rc>
44. Silveira, J.A.G.; Araújo, S.A.M.; Lima, J.P.M.S.; Viégas, R.A. Roots and leaves display contrasting osmotic adjustment mechanisms in response to NaCl-salinity in *Atriplex nummularia*. *Environmental and Experimental Botany* **2009**, *66*, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2008.12.015>
45. Viégas, R.A.; Silveira, J.A.G. Ammonia assimilation and proline accumulation in cashew plants subjected to long term exposure to NaCl-salinity. *Braz. J. Plant Physiol.* **1999**, *11*, 153-159.
46. Karamian, R.; Ghasemlou, F.; Amiri, H. Physiological evaluation of drought stress tolerance and recovery in *Verbascum sinuatum* plants treated with methyl jasmonate, salicylic acid and titanium dioxide nanoparticles. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, **2020**, *154*, 3, 277-87. <https://doi.org/10.1080/11263504.2019.1591535>
47. Wellburn, A.R. The spectral determination of chlorophylls *a* and *b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *J. Plant Physiol.* **1994**, *144*, 307-313. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)81192-2](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81192-2)
48. Barr, H.D. Weatherley, P.E. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficit in leaves. *Aust. J. Biol. Sci.* **1962**, *15*, 413-428. <http://dx.doi.org/10.1071/BI9620413>
49. Dubois, M.; Gilles, K.A.; Hamilton, J.K.; Rebers, P.A.; Smith, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* **1956**, *28*, 350-356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
50. Bates, L.S.; Waldren, R.P.; Teare, I.D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Short communication. *Plant Soil* **1973**, *39*, 205-207. <https://doi.org/10.1007/BF00018060>
51. Cruz, C.D. Genes Software – extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. *Acta Sci. Agron.* **2016**, *38*, 4, 547-552. doi: <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v38i3.32629>

Capítulo III

Composição química e atividade anti-helmíntica do óleo essencial de *Dizygostemon riparius* submetida a aplicações de ácido salicílico

RESUMO

Dizygostemon riparius apresenta um alto potencial econômico, devido a presença de compostos bioativos em seu óleo essencial (OE). A produção e a composição química desses compostos podem variar em resposta a interação planta-ambiente, sendo a aplicação de ácido salicílico (AS) uma estratégia eficaz para aumentar a síntese e modular a composição química em plantas aromáticas. Além disso, considerando que os OEs podem apresentar ação anti-helmíntica, é importante avaliar a bioatividade do OE de *D. riparius* contra o nematódeo *Haemonchus contortus*, um parasita causador de grandes perdas produtivas na ovinocaprinocultura. Assim o objetivo deste trabalho foi caracterizar a composição química do óleo essencial de *D. riparius* com e sem aplicação de ácido salicílico e avaliar sua atividade anti-helmíntica contra *H. contortus*. Para isso as plantas receberam aplicação foliar de AS (100 µM) e água destilada durante seu cultivo em casa de vegetação, após a coleta e secagem das folhas em estufa, os óleos essenciais de *D. riparius* foram extraídos, analisados e identificados por cromatografia de fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) e sua atividade anti-helmíntica contra o nematódeo *H. contortus* foi avaliada. Os constituintes majoritários dos óleos essenciais sob os dois tratamentos foram endo-fencol, endo-acetato de fenchila, (E)-cariofileno e óxido de cariofileno. O OE de *D. riparius* é eficiente contra a eclosão de ovos de *H. contortus*. O ácido salicílico, alterou a composição e percentual dos constituintes químicos do óleo essencial de *D. riparius*, porém não alterou seus compostos majoritários. Além disso, a redução no IC₅₀ após a elicitación com AS sugere que esse tratamento teve resultado em maior atividade antiparasitária do OE de *D. riparius* contra *H. contortus*. A comparação direta dos IC₅₀ aponta para a elicitación como uma estratégia promissora para aumentar a eficácia de compostos naturais no controle de *H. contortus*.

Palavras-chave: anti-helmíntico, bioatividade, elicitador, melosa, metabolitos secundários, monoterpenos oxigenados.

ABSTRACT

Dizygostemon riparius presents high economic potential due to the presence of bioactive compounds in its essential oil (EO). The production and chemical composition of these compounds may vary in response to plant–environment interactions, with the application of salicylic acid (SA) being an effective strategy to enhance synthesis and modulate the chemical profile in aromatic plants. Furthermore, considering that EOs may exhibit anthelmintic activity, it is important to evaluate the bioactivity of *D. riparius* EO against the nematode *Haemonchus contortus*, a parasite responsible for significant economic losses in small ruminant farming. Therefore, this study aimed to characterize the chemical composition of *D. riparius* essential oil with and without salicylic acid application and to assess its anthelmintic activity against *H. contortus*. For this purpose, plants were subjected to foliar application of SA (100 μ M) or distilled water during greenhouse cultivation. After harvesting and drying the leaves in an oven, the essential oils were extracted, analyzed, and identified by gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS), and their anthelmintic activity against *H. contortus* was evaluated. The major constituents of the essential oils under both treatments were endo-fenchol, endo-fenchyl acetate, (E)-caryophyllene, and caryophyllene oxide. The EO of *D. riparius* was effective in inhibiting the egg hatching of *H. contortus*. Salicylic acid altered the composition and proportion of the chemical constituents of *D. riparius* EO but did not affect its major compounds. Additionally, the reduction in IC₅₀ after SA elicitation suggests that this treatment resulted in greater antiparasitic activity of *D. riparius* EO against *H. contortus*. The direct comparison of IC₅₀ values indicates that elicitation is a promising strategy to enhance the efficacy of natural compounds in the control of *H. contortus*.

Keywords: anthelmintic, bioactivity, elicitor, melosa, secondary metabolites, oxygenated monoterpenes.

1. INTRODUÇÃO

Dizygostemon riparius é um subarbusto aromático brasileiro pertencente à família Plantaginaceae, com aproximadamente 50 cm de altura, caule indumento tomentoso, folhas ovais e elípticas e com dois morfotipos de flores concentradas nas terminações dos ramos que podem ser brancas ou lilás (Scatigna et al., 2020). *D. riparius* é uma planta com alto potencial econômico, devido a presença de compostos bioativos como acetato de endo-fenquilo, endo-fencol, (E)-cariofileno e óxido de cariofileno em seu óleo essencial, que possuem ação larvicida, fungicida, e acaricida, sendo um produto promissor para o combate de pragas e doenças (Brandão et al., 2020; Corrêa et al., 2023; Ferreira et al., 2024).

A produção e composição desses compostos podem sofrer variações em resposta a interação planta-ambiente (Anjali et al., 2023; Galvão et al., 2023). As respostas ao ambiente são reguladas por hormônios vegetais, dentre eles, o ácido salicílico (AS) (Otálora et al., 2020). O AS é um elicitor fundamental na resposta das plantas a essas interações, pois atua como modulador de expressão gênica e influencia a biossíntese dos metabólitos secundários (Hayat et al., 2010; El-Esawi et al., 2017; Arif et al., 2020). O AS influencia tanto na quantidade quanto qualidade de óleos essenciais (OEs), e melhora o desempenho da bioatividade ao acumular maior quantidade de compostos de interesse e/ou induzir a síntese de novos compostos sem alterações significativas dos principais componentes (Rowshan et al., 2010; Sharkhiz; Goudarzi, 2013; Afkar 2023; Santos et al., 2024). Com 1 mM de AS, o OE de *Menta piperita*, melhorou a atividade antimicrobiana, aumentou a quantidade de OE e os componentes mentol, mentona e outros monoterpenos (Afkar, 2023). Em *Tagetes patula* L., a aplicação foliar de AS (200 mg L⁻¹) elevou o rendimento do OE e alterou o perfil químico, com aumento de compostos como d-limoneno, linalol e α -terpinoleno (EL-Ziat et al., 2024). Assim a aplicação exógena de AS pode ser uma estratégia eficaz, econômica, ecológica e rápida para aumentar a síntese de metabólitos secundários em escala comercial (Ali, 2021; Humbal; Pathak, 2023).

Os OEs são compostos por metabólitos secundários, extraídos de plantas aromáticas, com muitos compostos bioativos (Aqeel et al., 2023). Eles possuem um grande potencial para o controle de pragas e doenças, por isso, têm sido amplamente estudados e resultados promissores foram encontrados, com os compostos com ação anti-helmíntica (Zhu et al., 2013; Lima et al., 2022; Abdulazeez et al., 2024) que se destacam por oferecer um método de controle alternativo a parasitos altamente resistente aos medicamentos convencionais (Sallé et al., 2019).

Haemonchus contortus é um nematódeo hematófago que causa grandes perdas econômicas na produção de pequenos ruminantes como ovinos e caprinos, especialmente em

regiões tropicais e subtropicais (Adduci et al., 2022). O controle mais comum para esse parasito é o uso de medicamentos anti-helmínticos sintéticos, como albendazol, oxfendazol, fenbendazol, ivermectina, moxidectina, abamectina e levamisol, mas esse método tem frequentemente resultado no aumento de cepas resistentes desses parasitos (Emery et al., 2016; Sallé et al., 2019).

O OE por sua vez, é uma alternativa promissora e sustentável, pois tem múltiplos mecanismos de ação simultâneo que dificulta o parasito a adquirir resistência, como danos as membranas celulares, inibição de enzimas, desnaturação de proteínas, entre outros, além de apresentar muitos compostos ativos (Katiki et al., 2016; André et al., 2018; Štrbac et al., 2022;). O OE de *Nigella sativa*, rico em cuminaldeído, provoca danos estruturais na cutícula do parasita e desorganização da morfologia do parasita, estimula a produção de espécies reativas de oxigênio (EROS), que levam à morte celular e inibem da eclosão de ovos (Goel et al., 2020). Já o OE de *Boswellia dalzielii* demonstrou alta atividade ovicida com 90% de inibição da eclosão dos ovos e 100% de mortalidade das larvas (Abdulazeez et al., 2024).

Diante disso, utilizar um elicitador como o AS pode ser uma alternativa viável para a produção de compostos bioativos eficazes no combate desse parasito. Assim, o objetivo deste trabalho foi caracterizar a composição química do óleo essencial de *D. riparius* com e sem aplicação de ácido salicílico e avaliar sua atividade anti-helmíntica contra *H. contortus*.

2. METODOLOGIA

2.1 Material vegetal e cultivo

As plantas de *D. riparius* foram cultivadas na casa de vegetação da Pós-Graduação em Ciências Agrárias da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), São Luís, MA, Brasil (2° 31' 51" S, 44° 18' 24" W). As plantas foram propagadas por meio de estaquia das matrizes mantidas em vasos na casa de vegetação. Para isso, foram utilizadas estacas com 10 cm de comprimento, contendo dois entrenós e quatro gemas axilares. As folhas e o ápice foram removidos, e a base das estacas foram cortadas em corte chanfrado para aumentar a superfície de contato com o substrato comercial Carolina do Solo® (Santa Cruz do Sul, RS, Brasil) (Table S1) e terra preta (1:1, v/v). Aos 30 dias após o plantio, foi realizada a fertirrigação com 100 mL em cada vaso (Plantpar® Indústria e Comércio de Fertilizantes LTDA, Umuarama, PR, Brasil; ver Tabela S1). As estacas foram mantidas sob sombrite com 50% de entrada de luz e com sistema de irrigação por microaspersão acionado por 1 minuto a cada 3 horas, das 6:00 às 18:00 horas de abril a junho de 2024. Um espécime de comprovação foi depositado no herbário Rosa Mochel da Universidade Estadual do Maranhão sob o número SLUI 9866.

2.2 Aplicação de ácido salicílico

Para o tratamento com ácido salicílico, foi pulverizada uma solução de 100 μM de AS (Isofar[®], Duque de Caxias, RJ, Brasil) nas folhas das plantas, enquanto o tratamento controle recebeu apenas água destilada (Santos et al., 2024). Um total de 15 mL planta⁻¹ de ambos os tratamentos foram aplicados às 7 horas da manhã, a partir de 45 dias de cultivo com pulverizador plástico portátil com capacidade de 500 mL (Nobre[®], Biguaçu, SC, Brasil) até que as folhas se apresentassem completamente úmidas. As aplicações foram realizadas em dias alternados, totalizando 11 aplicações por 21 dias, com solução controle (0 μM - apenas água destilada) e AS 100 μM , que foi preparada dissolvendo-se AS em água destilada (Isofar[®], Duque de Caxias, RJ, Brasil).

2.3 Extração de OE de *D. riparius*

As folhas foram coletadas aos 66 dias após o plantio, sendo então secas em estufa (SolidSteel[®], Piracicaba, SP, Brazil) por 72 horas a 45° C. Em seguida, as folhas de *D. riparius* foram submetidas à hidrodestilação usando um aparelho do tipo Clevenger, onde foram colocados em um balão de 1000 mL, 20 g de massa seca por 3 horas.

Após a extração (em triplicata), o material foi centrifugado a 3000 rpm por 3 minutos e seco com sulfato de sódio anidro P.A (ISO FAR, RJ, Brasil). O rendimento do OE foi calculado com base na massa seca do material vegetal usada, umidade relativa, volume do OE obtido depois de finalizado a extração e a densidade do OE (Lima et al., 2022). Para as plantas de *D. riparius* tratadas com ácido salicílico o OE será identificado como DRA, e para plantas sem o ácido salicílico o OE será DR0.

2.4 Análise da composição química

A composição química foi analisada por cromatografia de fase gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) em sistema Shimadzu QP 2010 ultra com a injeção de 1 μL de solução 3:500 de óleo em hexano (auto injetor AOC-20i), foi usado uma coluna capilar de sílica Rtx-5MS (Restek, EUA) de 30 m de comprimento x 0,25 mm de diâmetro interno revestido com 5%-difenil/95%-dimetil-polisiloxano (0,25 μm de espessura do filme). A temperatura do forno do CG foi programa de 60 °C a 240 °C (10 min) a 3 °C/min, as temperaturas do injetor (split 1:20), linha de transferência e câmara de ionização foram de 250, 250 e 200 °C, respectivamente. Hélio foi usado como gás de arraste a com fluxo de 1 mL min⁻¹. Os espectros de massas foram obtidos por impacto eletrônico a 70 eV com scans automáticos (varredura) na faixa de 35 a 400 daltons a 0,30 scans s⁻¹. A identificação dos componentes foi

baseada no tempo e índice de retenção linear (série de n-alcanos C8-C40), na interpretação e comparação dos espectros de massas obtidos com as bibliotecas Adams 2006, Nist 2011 e FFNSC 2.

2.5 Manutenção da cepa de *H. contortus*

Ovos de *H. contortus* foram obtidos de ovinos doadores com infecção específica de *H. contortus*. Todo procedimento de manutenção de cepa e animais foram feitos de acordo com guias do comitê de ética da Universidade Federal do Maranhão e aprovado por este comitê sob o número de protocolo 23115.002630/2023-21.

2.6 Teste de eclodibilidade de ovos de *Haemochus contortus*

Os ovos de *H. contortus* foram coletados das fezes diretamente da ampola retal de ovinos infectados artificialmente de acordo com Coles et al. (1992). Os ovos foram recuperados em uma solução saturada de NaCl, e logo após essa solução de ovos foi lavada com água três vezes para eliminar o sal, com posterior ressuspensão em água destilada. Em uma placa de 24 poços uma suspensão de aproximadamente 100 ovos foi colocada dentro de cada poço e 100 µL de cada tratamento (OE de *D. riparius*) foram adicionados. Os tratamentos foram diluídos em Tween 3% em 12 concentrações (10, 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.313, 0.156, 0.078, 0.039, 0.020, 0.010 e 0.005 mg mL⁻¹). Como controle negativo foi utilizado o Tween 3%. Todas as concentrações dos testes foram realizadas em triplicata. Os testes foram incubados em 27 °C e UR > 80%, e após 48 h, a eclodibilidade dos ovos foram analisadas em microscópio invertido. Os dados foram analisados pelo software GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Inc., San Diego, CA, USA), obtendo a concentração inibitória para 50% (CI₅₀%) das populações estudadas. O OE de *D. riparius* foi considerado significativo ($P \leq 0,05$) quando não houve sobreposição entre os intervalos de confianças (ICs) dos valores de CI₅₀ (Roditakis et al., 2005).

3. RESULTADOS

3.1 Análise de composição do óleo essencial

O rendimento do OE de *D. riparius* foi de 1,64% para as plantas tratadas com ácido salicílico (DRA), e 1,72% para plantas sem o ácido salicílico (DR0). Os óleos essenciais foram analisados por cromatografia de fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), e seus constituintes identificados estão listados na tabela 1.

A composição química dos óleos essenciais de *D. riparius* amostras DR0 e DRA não diferiram a respeito dos constituintes majoritários. Os principais constituintes de *D. riparius* (>2%), amostra DR0 e DRA foram: endo-fencol (36,13%; 35,88%) endo-acetato de fenchila

(39,82%; 38,41%), (E)-cariofileno (7,93%; 6,66%) e óxido de cariofileno (3,16%; 2,85%) totalizando 87,04 e 83,8% da composição do OE, respectivamente.

Tanto nas amostras das plantas tratadas como as não tratadas com AS, os monoterpenos oxigenados endo-acetato de fenchila e endo-fenchol foram os constituintes majoritários, seguidos do hidrocarboneto sesquiterpênico (E)- cariofileno e o sesquiterpênico oxigenado óxido de cariofileno. Em geral as amostras de DR0 apresentaram 49 constituintes, enquanto DRA apresentou 54 (tabela1). Apesar disso, foi possível observar variações nos constituintes minoritários das amostras estudadas tal como, os constituintes álcool: hexenol e terpinem-1-ol, monoterpenos: α -pinene, sabineno, aldeído: neral e geranial, sesquiterpeno: β -elemeno, epóxido: Cis – epóxido de piperitona, estão presentes apenas na amostra DRA, enquanto o sesquiterpeno (Z) -cariofileno apenas em DR0

Tabela 1. Constituintes dos óleos de *Dizygostemon riparius* com aplicação foliar de ácido salicílico (100 μ M) (DRA) e sem aplicação de ácido salicílico (DRO).

Rendimento do óleo essencial (%)	1,72			1,64		
	DR0			DRA		
Constituintes do óleo (%)	RI _{calc}	RI _{Lit}	%	RI _{calc}	RI _{Lit}	%
Hexenol	-	-	-	850	850	0,01
Santolina Triene	907	906	0,01	907	906	0,25
α -Thujene	926	925	0,03	926	925	0,28
α -Pinene	-	-	-	933	932	0,08
NI	-	-	-	943	-	0,02
α -Fencheno	946	945	0,17	946	945	1,61
Sabineno	-	-	-	972	972	0,02
α -Terpineno	1016	1014	0,03	1016	1014	0,10
<i>p</i> -Cymeno	1023	1020	0,72	1023	1020	1,7
NI	1025	-	0,17	1025	-	0,20
Limoneno	1027	1024	0,09	1025	1024	0,23
NI	1046	-	0,05	1046	-	0,06
γ -Terpineno	1057	1054	0,17	1057	1054	0,33
<i>Cis</i> -Sabineno	1065	1065	0,08	1065	1065	0,13
Fenchone	1087	1087	0,33	1087	1087	0,39
<i>Trans</i> -Sabineno	1098	1098	0,33	1098	1098	0,38
endo-Fenchol	1116	1114	36,13	1116	1114	35,88
<i>Trans</i> - <i>p</i> -Mentha-2,8-dien-1-ol	1120	1119	0,15	1120	1119	0,16
<i>Trans</i> -Pineno hidratado	1121	1119	0,11	1121	1119	0,11
Terpinen-1-ol	-	-	-	1133	1130	0,03
NI	1138	-	0,03	-	-	-
Eucarvona	1153	1150	0,04	1153	1150	0,05
NI	1167	-	0,13	1167	-	0,14
NI	1169	-	0,06	1169	-	0,06
Terpinen-4-ol	1176	1174	1,07	1176	1174	1,02

<i>p</i> -Cymeno-8-ol	1184	1182	0,33	1184	1182	0,35
α -Terpineol	1189	1190	0,35	1190	1190	0,32
endo-acetado de fenchila	1222	1218	39,82	1222	1218	38,41
Nerol	1227	1127	0,08	1225	1127	0,04
Neral	-	-	-	1239	1235	0,06
<i>Cis</i> - epóxido de piperitona	-	-	-	1256	1253	0,04
Geranial	-	-	-	1269	1264	0,10
Timol	1285	1289	0,12	1285	1289	0,13
NI	1291	-	0,03	-	-	-
NI	1294	-	0,11	1294	-	0,09
Carvacrol	1300	1298	0,23	1300	1298	0,21
NI	1308	-	0,42	1308	-	0,44
NI	1351	-	0,11	1351	-	0,08
NI	1354	-	1,63	1354	-	1,67
NI	1386	-	0,05	1386	-	0,05
β -Elemeno	-	-	-	1391	1389	0,03
NI	1398	-	0,09	1398	-	0,09
(<i>Z</i>)- epóxido de piperitona	1406	1409	0,04	-	-	-
(E)- Cariofileno	1419	1417	7,93	1419	1417	6,66
β - Cariofileno	1426	1417	0,05	1426	1417	0,06
NI	1449	-	1,97	1449	-	1,83
α -Humuleno	1452	1452	0,80	1452	1452	0,7
Germacreno B	1551	1558	0,03	1551	1558	0,03
NI	1574	-	0,28	1574	-	0,29
Óxido de cariofileno	1582	1582	3,16	1582	1582	2,85
Epóxido II de humuleno	1607	1608	0,14	1607	1608	0,12
Cariofila -4(12),8(13)-dien-5- α -ol	1631	1639	0,30	1631	1639	0,24
Cariofila -4(12),8(13)-dien-5- β -ol	1635	1639	1,04	1635	1639	0,87
Pogostol	1653	1651	0,31	1653	1651	0,24
14- <i>hydroxy</i> -9- <i>epi</i> -(<i>E</i>)- Cariofileno	1670	1668	0,29	1670	1668	0,21
NI	1838	-	0,18	1838	-	0,12
NI	1911	-	0,07	1911	-	0,06
Fitol	2111	2114	0,07	2111	2114	0,07
Total (%)			99,9			99,6

N.I. = Não identificado; RI_{Calc}= Tempo de retenção calculado (on Rxi-5 ms column); RI_{Lit}= Tempo de retenção da literatura (adams (2007))

3.2 Atividade anti-helmíntica

Os resultados dos testes de eclodibilidade para OEs de *D. riparius* em ovos de *H. contortus* demonstraram atividade anti-helmíntica com taxa de inibição variável dependendo da dose, mas com eficácia de 100% quando usado uma concentração de 10 mg mL⁻¹ de OEs de *D. riparius* tratadas com ácido salicílico (DRA) (Figura 1). O óleo de DRA exibiu menor concentração inibitória (CI₅₀ = 0,58 mg mL⁻¹) contra ovos de *H. contortus* do que o óleo essencial das plantas DR0 (CI₅₀ = 1,99 mg mL⁻¹) (Tabela 2). Assim, nossos resultados

demonstraram que o ácido salicílico potencializa os efeitos de *D. riparius* em inibir a eclosão de ovos desse parasito e pode auxiliar em um controle eficiente da espécie.

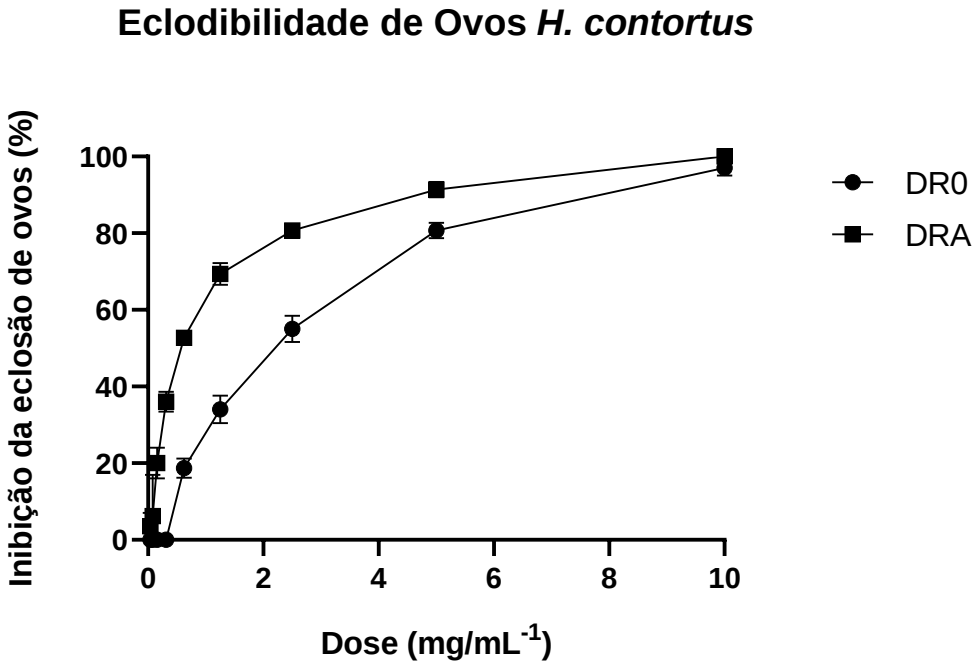


Figura1. Porcentagem inibição da eclosão de ovos de *Haemonchus contortus* em função da dose testada de *D. riparius* sem ácido salicílico (DR0) e *D. riparius* com ácido salicílico (DRA).

Tabela 2. Concentração inibitória (CI₅₀) dos óleos essenciais de *Dizygostemon riparius* tratadas com e sem ácido salicílico.

Compostos	CI ₅₀ (mg mL ⁻¹)	CI95%	R ²
<i>Dizygostemon riparius</i>	1,997	1,878-2,124	0,99
<i>Dizygostemon riparius</i> / Ácido salicílico	0,5792	0,5310-0,6320	0,98

4. DISCUSSÃO

Os principais constituintes presentes nas amostras aqui estudadas são os mesmos encontrados em OE de *D. riparius* coletadas no local de origem (Brandão et al, 2020; Galvão et al., 2023). Brandão et al (2020), no entanto, conseguiram identificar apenas 34 constituintes incluindo os majoritários e minoritários, enquanto Galvão et al (2023) identificaram 46 constituintes e nesse trabalho foram identificados 41. É importante salientar que fatores ambientais, como disponibilidade de água e nutrientes no solo, luz solar, os efeitos circadianos e sazonais, entre outros podem alterar a composição química do OE (Cruz et al., 2023; Galvão et al., 2023). Além dos fatores ambientais, a aplicação de elicitores exógenos podem alterar o

metabolismo secundários das plantas (Mohammadi et al., 2019). O AS é um elicitor naturalmente encontrado nas plantas e atua principalmente na produção de compostos de defesa e outros metabólitos secundários (Chaichana; Dheeranupattana, 2012).

A aplicação do AS na *D. riparius* contribuiu para uma modificação na composição química do OE, porém, não afetou os principais constituintes. Estes resultados estão de acordo com os encontrados em outras espécies como *Mentha piperita* que ao receber tratamento com AS (0,5 e 1 mM) apresentou alteração na quantidade e na composição dos OEs, como o aumento nos níveis de compostos como mentol e mentofurano, que são conhecidos por suas propriedades antimicrobiana (Afkar 2023). Em *Thymus vulgaris* as plantas estressadas pela seca de 25% de capacidade de campo, a aplicação foliar de AS (2,0mM) aumentou o conteúdo ainda mais o rendimento do OE ($1 \pm 0,06$ %v/p) no qual foi significativo em comparação ao controle ($0,7 \pm 0,08$ %v/p), além disso, o AS (até 2mM) aumentou o conteúdo de timol e p-cimeno em comparação as plantas estressadas sem o AS (Khalil et al., 2018).

Em *Eryngium foetidum* o AS (100 µM) modulou o perfil químico do OE em plantas bem irrigadas, nesse caso, o AS pode ajudar a aumentar a produção de um composto de interesse (Santos et al., 2024). Em *Plectranthus tenuiflorus* o AS (0,5 mM) aumentou o rendimento do OE e as concentrações de timol, carvacrol e terpenos em comparação as plantas sem AS (Jalal et al., 2012). A modulação do perfil de OEs pelo AS também foi observada em *Thymus kotschyanus* e *Thymus vulgaris* (Mohammadi et al., 2019), *Thymus daenensis* Celak. (Pirbalouti et al., 2013)

Essas variações acontecem devido ao AS desempenhar um papel de ação nas respostas de defesa das plantas, através de sinalização que provoca a síntese e acumulação de muitos metabólitos secundários (Ma et al., 2017; Golkar et al, 2019). A aplicação exógena do AS aumenta a expressão gênica nas vias de biossíntese desses compostos, e esse aumento pode influenciar na qualidade e quantidade dos OEs e melhorar as propriedades de bioatividade (Ali 2021).

Em estudos anteriores, foi demonstrado que o OE de *D. riparius* apresenta bioatividade contra fungos da espécie *Colletotrichum gloeosporioides* (Corrêa et a., 2023), ácaros *Tetranychus neocaledonicus* (Ferreira et al., 2024) e larvas de *Aedes albopictus* (Brandão et al., 2020). Estes trabalhos demonstram o potencial inseticida e antiparasitário do OE de *D. riparius*, porém, ainda não há relatos sobre a sua bioatividade contra helmintos. O efeito anti-helmíntico dos OEs de *D. riparium* em inibir a eclosão de ovos de *H. contortus* observado aqui pode estar associado ao caráter hidrofóbico e baixa polaridade do OE, que pode permitir uma melhor

penetração nos tecidos dos parasitos (Brandão et al., 2020), e assim romper as membranas celulares e interferi no funcionamento celular dos helmintos (Goel et al., 2020).

O uso de OEs de outras espécies de plantas já foram testados em helmintos resistentes aos anti-helmínticos presente no mercado, e foi confirmado que o seu uso é seguro para a saúde dos animais e humanos (Abubakar et al., 2024; Kandil et al., 2024). O OE de *Boswellia dalzielii* testado contra *H. contortus*, teve resposta de 90% em inibir a eclosão dos ovos ($LC_{50} = 25 \text{ mg mL}^{-1}$) e efeito de 100% na atividade larvicida contra larvas L3 ($LC_{50} = 21 \text{ mg mL}^{-1}$) (Abdulazeez et al., 2024). *Arisaema franchetianum* ($IC_{50} = 1,63 \text{ mg mL}^{-1}$) e *Arisaema lobatum* ($IC_{50} = 0,73 \text{ mg mL}^{-1}$) foi eficiente também na eclodibilidade dos ovos ($IC_{50} = 1,10 \text{ mg mL}^{-1}$) e $IC_{50} = 0,48 \text{ mg mL}^{-1}$ foram eficazes contra as larvas de *H. contortus* (Zhu et al., 2013).

Nossos resultados também demonstraram que os OEs de *D. riparius* foram eficazes na inibição da eclodibilidade dos ovos de *H. contortus* com taxa de inibição de 100% quando usado uma concentração de 10 mg mL^{-1} . Além disso, o OE de plantas tratadas com AS ($100 \mu\text{M}$) exibiu menor concentração inibitória ($CI_{50} = 0,58 \text{ mg mL}^{-1}$) do que o OE das plantas que não receberam AS ($CI_{50} = 1,99 \text{ mg mL}^{-1}$), portanto, tanto o OE de *D. riparius* com AS como o sem AS pode oferecer uma alternativa viável para o controle de nematódeos *H. contortus*, com destaque para o OE com AS sendo mais eficiente. Tais mudanças na concentração de compostos bioativos deste OE podem ter sido devido a alterações na composição química do OE após o tratamento das plantas com AS, todavia, não foi possível identificar qual composto melhorou as propriedades anti-helmínticas do OE de *D. riparius*, sendo necessários outros estudos para avaliar os efeitos dos compostos aqui encontrados separadamente. Porém, compostos como timol, carvacrol e limoneno demonstraram eficácia contra *H. contortus* e podem ser considerados promissores no controle de nematódeos gastrointestinais (Katiki et al., 2016).

5. CONCLUSÃO

Os nossos resultados demonstraram que o OE de *D. riparius* é eficiente contra *H. contortus*. Além disso, o ácido salicílico, alterou a composição do óleo essencial de *D. riparius*, porém não alterou seus constituintes majoritários, e ao alterar a composição do OE, potencializou suas propriedades anti-helmíntica. A redução significativa no CI_{50} após a elicitação com AS sugere que esse tratamento induziu a produção de metabólitos secundários com maior atividade antiparasitária em *D. riparius* contra *H. contortus*. A comparação direta das concentrações inibitórias aponta para a elicitação como uma estratégia promissora para aumentar a eficácia de compostos naturais no controle de *H. contortus*.

REFERÊNCIAS

- ABDULAZEEZ, M. T.; MOHAMMED, M.; SULEIMAN, N.; SUDAWWA, R. H. Anthelmintic Activity of Essential Oils from *Boswellia dalzielli* against *Haemonchus contortus* isolated from Sheep Sold in Gusau Market, Zamfara State Nigeria. **Bulletins of Natural and Applied Sciences**, v. 1, n. 1, p. 204-211, 2024.
- ABUBAKAR, M.; ONEEB, M.; RASHID, M.; ASHRAF, K.; CHISTI, G.A.; AWAN, F.; SARWAR, N.U.A. In vitro anthelmintic efficacy of three plants extracts against various developmental stages of *Haemonchus contortus*. **Pakistan Veterinary Journal**, 2024. doi: 10.29261/pakvetj/2024.174.
- ADDUCI, I.; SAJOVITZ, F.; HINNEY, B.; LICHTMANNSPERGER, K.; JOACHIM, A.; WITTEK, T.; YAN, S. Haemonchosis in Sheep and Goats, Control Strategies and Development of Vaccines against *Haemonchus contortus*. **Animals**, v. 12, p. 2339, 2022. doi: 10.3390/ani12182339.
- AFKAR, S. Assessment of chemical compositions and antibacterial activity of the essential oil of *Mentha piperita* in response to salicylic acid. **Natural Product Research**, 2023. doi: 10.1080/14786419.2023.2256020.
- ALI, B. Salicylic Acid: An Efficient Elicitor of Secondary Metabolite Production in Plants. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 31, p. 101884, 2021. doi: 10.1016/j.bcab.2020.101884.
- ANDRÉ, W. P. P.; RIBEIRO, W. L. C.; OLIVEIRA, L. M. B.; MACEDO, I. T. F.; RONDON, F. C. M.; BEVILAQUA, C. M. L. Óleos essenciais e seus compostos bioativos no controle de nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 46, p. 1522, 2018. doi: 10.22456/1679-9216.81804.
- ANJALI; KUMAR, S.; KORRA, T.; THAKUR, R.; ARUTSELVAN, R.; KASHYAP, A. S.; NEHELA, Y.; CHAPLYGIN, V.; MINKINA, T.; KESWANI, C. Role of Plant Secondary Metabolites in Defence and Transcriptional Regulation in Response to Biotic Stress. **Plant Stress**, v. 8, p. 100154, 2023. doi: 10.1016/j.stress.2023.100154.
- AQEEL, U.; AFTAB, T.; KHAN, M.M.A.; NAEEM, M. Regulation of essential oil in aromatic plants under changing environment. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 32, p. 100441, 2023. doi: 10.1016/j.jarmap.2022.100441
- ARIF, Y.; SAMI, F.; SIDDIQUI, H.; BAJGUZ, A.; HAYAT, S. Salicylic acid in relation to other phytohormones in plant: A study towards physiology and signal transduction under challenging environment. **Environmental and Experimental Botany**, v. 175, p. 104040, 2020. doi: 10.1016/j.envexpbot.2020.1040403.
- BRANDÃO, C. M.; CAVALCANTE, K. S. B.; TELES, R. M.; MARQUES, G. E. C.; MONTEIRO, O. S.; ANDRADE, E. H. A.; MAIA, J. G. S. Composition and Larvicidal Activity of the Oil of *Dizygostemon riparius* (Plantaginaceae), a New Aromatic Species Occurring in Maranhão, Brazil. **Chem. Biodivers.**, v. 17, n. 11, e2000462, 2020. doi: 10.1002/cbdv.202000462.

CHAICHANA, N.; DHEERANUPATTANA, S. Effects of Methyl Jasmonate and Salicylic Acid on Alkaloid Production from in vitro Culture of *Stemona* sp. **International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics**, v. 2, n. 3, p. 146-150, 2012.

COLES, G. C.; BAUER, C.; BORGSTEEDE, F. H.; GEERTS, S.; K.T.; TAYLOR, M. A.; WALLER, P. J. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. **Veterinary Parasitology**, v. 44, p. 35-44, 1992.

CORRÊA, L. A. D.; RODRIGUES, A. A. C.; DIAS, L. R. C.; SILVA, E. K. C. e; MONTEIRO, O. dos S.; OLIVEIRA, L. de J. M. G. de. Antifungal potential of essential oils from *Pectis brevipedunculata* and *Dizygostemon riparius* in anthracnose control in mango. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 45, e-889, 2023. doi: 10.1590/0100-29452023889.

CRUZ, E.d.N.S.d.; BARROS, L.d.S.P.; GUIMARÃES, B.d.A.; MOURÃO, R.H.V.; MAIA, J.G.S.; SETZER, W.N.; da SILVA, J.K.d.R.; FIGUEIREDO, P.L.B. Seasonal Variation in Essential Oil Composition and Antioxidant Capacity of Aniba canelilla (Lauraceae): A Reliable Source of 1-Nitro-2-phenylethane. **Molecules**, v. 28, p. 7573, 2023. doi: 10.3390/molecules2822757

EL-ZIAT, R.A.M.; SAUDY, H.S.; HEWIDY, M. The Alteration in Physiological Status, Growth and Essential Oil Profile of French Marigold (*Tagetes patula* L.) Owing to Seaweed Extract and Salicylic Acid Application. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 24, p.3909-3922, 2024. doi: 10.1007/s42729-024-01811-z.

EMERY, D. L.; HUNT, P. W.; LE JAMBRE, L. F. *Haemonchus contortus*: the then and now, and where to from here? **International Journal for Parasitology**, v. 46, n. 12, p. 755-769, 2016. doi: 10.1016/j.ijpara.2016.07.001.

FERREIRA, M. C.; NOJOSA, E. C. N.; MARQUES, I. S.; SANTOS, D. R. d.; MARQUES, G. E. de C.; CAVALCANTE, K. S. B.; TELES, R. de M.; BARBOSA, D. R. e S. Bioactivity of essential oils of *Dizygostemon riparius* (Plantaginaceae) on *Tetranychus neocaledonicus* (Acari: Tetranychidae). Available at Search Square, v. 1, p. 1-16, 2024. doi: 10.21203/rs.3.rs-4396767/v1.

GALVÃO, F. S.; DA ROCHA, C. Q.; MONTEIRO, O. S.; FIGUEIREDO, P. L. B.; SANTOS, P. V. L.; MAIA, J. G. S. Seasonal and Circadian Evaluation of the Essential Oil of *Dizygostemon riparius* (Plantaginaceae), a Wild Flavoring Herb from East Maranhão, Brazil. **Chemistry & Biodiversity**, v. 20, p. e202300864, 2023. doi: 10.1002/cbdv.202300864

GHASEMI, M.; MODARRESI, M.; BABAEIAN JELODAR, N.; BAGHERI, N.; JAMALI, A. The Evaluation of Exogenous Application of Salicylic Acid on Physiological Characteristics, Proline and Essential Oil Content of Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) under Normal and Heat Stress Conditions. **Agriculture**, v. 6, n. 3, p. 31, 2016. doi: 10.3390/agriculture6030031.

GOEL, V.; SINGLA, L. D.; CHOUDHURY, D. Cuminaldehyde induces oxidative stress-mediated physical damage and death of *Haemonchus contortus*. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 130, p. 110411, 2020. doi: 10.1016/j.biopha.2020.110411.

GOLKAR, P.; TAGHIZADEH, M.; YOUSEFIAN, Z. The effects of chitosan and salicylic acid on elicitation of secondary metabolites and antioxidant activity of safflower under *in vitro*

salinity stress. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 1, n. 3, p. 1-15, 2019. doi: 10.1007/s11240-019-01592-9.

GRAPH PAD PRISM. Versão 8.0.0. San Diego, Califórnia: GraphPad Software, 2018. Disponível em: <<https://www.graphpad.com>>. Acesso em: 02 nov. 2024.

HAYAT, Q.; HAYAT, S.; IRFAN, M.; AHMAD, A. Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: A review. **Environmental and Experimental Botany**, v. 68, p. 14-25, 2010. Disponível em: <<https://www.elsevier.com/locate/envexpbot>>. Acesso em: 3 nov. 2024

HUMBAL, A.; PATHAK, B. Influence of Exogenous Elicitors on the Production of Secondary Metabolite in Plants: A Review ("VSI: Secondary Metabolites"). **Plant Stress**, v. 8, p. 100166, 2023. doi: 10.1016/j.stress.2023.100166.

JALAL, R. S.; BAFEEL, S. O.; MOFTAH, A. E. Effect of salicylic acid on growth, photosynthetic pigments and essential oil components of Shara (*Plectranthus tenuiflorus*) plants grown under drought stress conditions. **International Research Journal of Agricultural Science and Soil Science**, v. 2, n. 6, p. 252-260, j2012

KANDIL, O. M.; SHALABY, H. A.; HASSAN, N. M. F.; HENDAWY, S. H. M.; EL NAMAKY, A. H.; TAIE, H. A. A.; ELSAWY, B. S. M.; HELAL, M.A.; KANDIL, O.M. Comparative Nematocidal Efficacy of Coriander Oils Against *Haemonchus Contortus*. **International Journal of Veterinary Science**, v. 13, n. 1, p. 17-26, 2024. doi: 10.47278/journal.ijvs/2023.062.

KHALIL, N.; FEKRY, M.; BISHR, M.; EL-ZALABANI, S.; SALAMA, O. Foliar spraying of salicylic acid induced accumulation of phenolics, increased radical scavenging activity and modified the composition of the essential oil of water stressed *Thymus vulgaris* L. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 123, p. 65-74, 2018. doi: 10.1016/j.plaphy.2017.12.007

LIMA, A. S.; FERNANDES, Y. M. L.; SILVA, C. R.; COSTA-JUNIOR, L. M.; FIGUEIREDO, P. L. B.; MONTEIRO, O. S.; MAIA, J. G. S.; ROCHA, C. Q. da Anthelmintic evaluation and essential oils composition of *Hyptis dilatata* Benth. and *Mesosphaerum suaveolens* Kuntze from the Brazilian Amazon. **Acta Tropica**, v. 228, p. 106321, 2022. doi: 10.1016/j.actatropica.2022.106321.

MA, X.; ZHENG, J.; ZHANG, X.; HU, Q.; QIAN, R. Salicylic Acid Alleviates the Adverse Effects of Salt Stress on *Dianthus superbus* (Caryophyllaceae) by Activating Photosynthesis, Protecting Morphological Structure, and Enhancing the Antioxidant System. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, art. 600, 2017. doi:10.3389/fpls.2017.00600/full

MOHAMMADI, H.; AMIRIKIA, F.; GHORBANPOUR, M.; FATEHI, F.; HASHEMPOUR, H. Salicylic acid induced changes in physiological traits and essential oil constituents in different ecotypes of *Thymus kotschyanus* and *Thymus vulgaris* under well-watered and water stress conditions. **Industrial Crops & Products**, v. 129, p. 561-574, 2019. doi: 10.1016/j.indcrop.2018.12.046

OTÁLORA, G.; PIÑERO, M. C.; COLLADO-GONZÁLEZ, J.; LÓPEZ-MARÍN, J.; DEL AMOR, F. M. Exogenous salicylic acid modulates the response to combined salinity-temperature stress in pepper plants (*Capsicum annuum* L. var. Tamarin). **Plants**, v. 9, n. 12, p. 1790, 2020. doi: 10.3390/plants9121790.

PIRBALOUTI, A. G.; SAMANI, M. R.; HASHEMI, M.; ZEINALI, H. Salicylic acid affects growth, essential oil and chemical compositions of thyme (*Thymus daenensis* Celak.) under reduced irrigation. **Plant Growth Regulation**, p.1-13, 2013. doi: 10.1007/s10725-013-9860-1

RODITAKIS, E.; RODITAKIS, N. E.; TSAGKARAKOU, A. Insecticide resistance in *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) populations from Crete. **Pest Management Science**, v. 61, p. 577-582, 2005. doi:10.1002/ps.1029.

ROWSHAN, V.; KHOSH KHOI, M.; JAVIDNIA, K. Effects of Salicylic Acid on Quality and Quantity of Essential oil Components in *Salvia macrosiphon*. **Journal of Biological and Environmental Sciences**, v. 4, n. 11, p. 77-82, 2010.

SAHARKHIZ, M. J.; GOUDARZI, T. Foliar Application of Salicylic Acid Changes Essential Oil Content and Chemical Compositions of Peppermint (*Mentha piperita* L.). **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 17, n. 3, p. 435-440, 2014. doi: 10.1080/0972060X.2014.892839.

SALLÉ, G.; DOYLE, S. R.; CORTET, J.; CABARET, J.; BERRIMAN, M.; HOLROYD, N.; COTTON, J. A. The global diversity of *Haemonchus contortus* is shaped by human intervention and climate. **Nature Communications**, v. 10, p. 4811, 2019. doi: 10.1038/s41467-019-12695-4.

SANTOS, S. K. dos; GOMES, D. dos S.; SOARES, V. dos A.; DANTAS, E. F. O.; DE OLIVEIRA, A. F. P.; GUSMÃO, M. H. A.; DE MATOS, E. M.; SOUZA, T.; VICCINI, L. F.; GRAZUL, R. M.; et al. Salicylic Acid and Water Stress: Effects on Morphophysiology and Essential Oil Profile of *Eryngium foetidum*. **Metabolites**, v. 14, p. 241, 2024. doi: 10.3390/metabo14040241.

SCATIGNA, A. V.; BRANDÃO, C. M.; COLLETTA, G. D.; TELES, R. de M.; CAVALCANTE, K. S. B.; SOUZA, V. C.; SIMÕES, A. O. *Dizygostemon riparius* (Plantaginaceae, Gratioleae), a new species from Maranhão, northeastern Brazil. **Willdenowia**, v. 49, p. 177–186, 2019. doi: 10.3372/wi.49.49206.

SCATIGNA, A.V.; COLLETTA, G.D.; Souza, V.C. 2020. *Dizygostemon* in **Flora do Brasil 2020**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil2020.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB619096>>. Acesso em: 15 nov. 2024

ŠTRBAC, F.; BOSCO, A.; MAURELLI, M.P.; RATAJAC, R.; STOJANOVIĆ, D.; SIMIN, N.; ORŠIĆ, D.; PUŠIĆ, I.; KRNJAJIĆ, S.; SOTIRAKI, S.; ET AL. Anthelmintic Properties of Essential Oils to Control Gastrointestinal Nematodes in Sheep—In Vitro and In Vivo Studies. **Veterinary Sciences**. v. 9, p. 93. 2022. doi:10.3390/vetsci9020093

ZHU, L.; DAI, J.; YANG, L.; QIU, J. Anthelmintic activity of *Arisaema franchetianum* and *Arisaema lobatum* essential oils against *Haemonchus contortus*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 148, n. 2, p. 311-316, 2013. doi: 10.1016/j.jep.2013.04.034.

KATIKI, L.M.; BARBIERI, A.M.E.; ARAUJO, R.C.; VERÍSSIMO, C.J.; LOUVANDINI, H.; FERREIRA, J.F.S. Synergistic interaction of ten essential oils against *Haemonchus contortus* in vitro. **Veterinary Parasitology**, v. 243, p. 47-51, 2017. doi: 10.1016/j.vetpar.2017.06.008.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A aplicação de ácido salicílico (SA) a 100 μ M efetivamente mitiga alguns dos impactos prejudiciais da salinidade em plantas de *D. riparius*, particularmente sob salinidade moderada (200 mM NaCl) e potencializa a produção de metabólitos secundários com maior inibição de eclosão dos ovos de *H. contortus*.

O tratamento com AS manteve a biomassa seca, melhorou o teor relativo de água e aumentou a eficiência da carboxilação, sugerindo que o AS suporta o aparato fotossintético e o balanço hídrico sob estresse de salinidade. Além disso, a aplicação de AS reduziu a perda de água por transpiração e melhorou a eficiência intrínseca do uso da água, que são essenciais para manter a homeostase celular em condições salinas.

O AS alterou a composição do óleo essencial de *D. riparius*, porém não alterou seus constituintes majoritários, e ao alterar a composição do OE, melhorou suas propriedades anti-helmínticas, mas é importante ressaltar que o OE de *D. riparius* sem o tratamento com AS já apresenta propriedades anti-helmínticas contra *H. contortus*. A comparação direta dos IC₅₀ e IC_{95%} aponta para a elicitação como uma estratégia promissora para aumentar a eficácia de compostos naturais no controle de *H. contortus*.

Este estudo, portanto, destaca o potencial do AS como biorregulador para o cultivo de plantas de *D. riparius* em ambientes salinos e como pode potencializar a produção de compostos de interesse em óleos essenciais.

Anexos

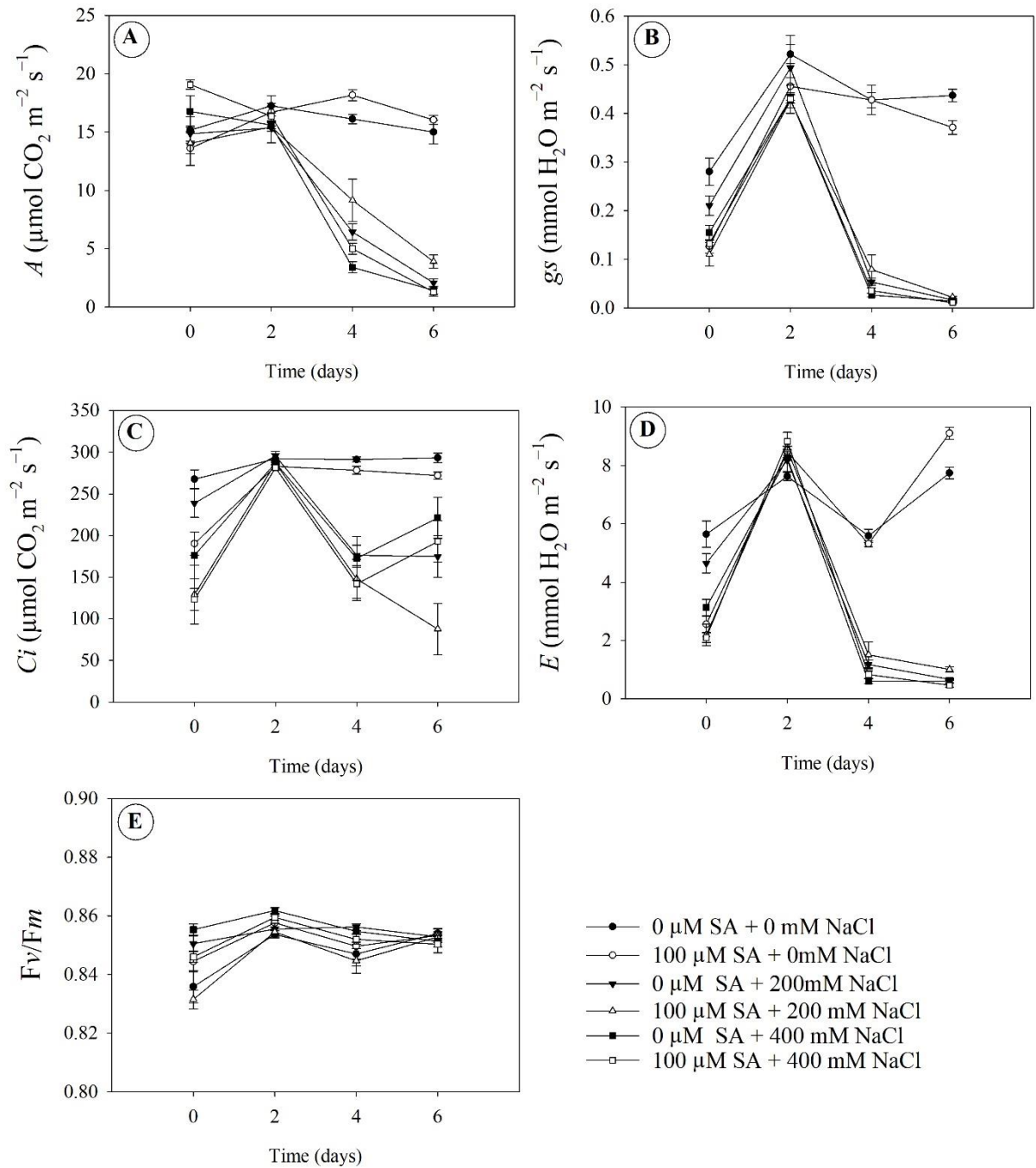


Figure S1. Gas exchange parameters and maximum quantum yield of photosystem II of *Dzygostemon riparius* plants treated without and with salicylic acid (0 and 100 μM for twenty-one days), and grown under different salinity levels (0, 200, and 400 mM NaCl for six days). Values represent means $\pm$ standard error (n=5). A) Net carbon assimilation – A ; B) Stomatal conductance – g_s ; C) Internal CO_2 concentration – C_i ; D) Transpiration rate – E ; and E) Maximum quantum yield of photosystem II – F_v/F_m .

Table S1. Macronutrient and micronutrient composition (%) of fertigation solutions Plantpar Red Flex and Blue Flex. Manufacturer’s recommendation: Add 4.2 g of Blue Flex and 4.2 g of Red Flex per 10 liters of water.

Fertigation Plantpar			
Red Flex		Blue Flex	
Nutrients	Quantity (%)	Nutrients	Quantity (%)
N	9.0	N	13.0
Mg	0.6	Ca	15.5
S	3.0	Mg	2.85
P ₂ O ₅	9.0		
K ₂ O	37.0		
Mn	0.048		
Cu	0.031		
Co	0.002		
Zn	0.019		
B	0.048		
Mo	0.009		
Fe	0.148		
Ni	0.006		