



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



FABRÍCIO CUSTÓDIO DE MOURA GONÇALVES

**MENTA (*Mentha x piperita* L.) CULTIVADA COM APLICAÇÃO DE ÁCIDO
SALICÍLICO: AVALIAÇÕES FOTOSSINTÉTICAS E BIOQUÍMICAS**

Botucatu
2017

FABRÍCIO CUSTÓDIO DE MOURA GONÇALVES

**MENTA (*Mentha x piperita* L.) CULTIVADA COM APLICAÇÃO DE ÁCIDO
SALICÍLICO: AVALIAÇÕES FOTOSSINTÉTICAS E BIOQUÍMICAS**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agronômicas da Unesp Campus
de Botucatu, para obtenção do título de
Mestre Agronomia (Horticultura).

Orientador (a): Profa Dra Carmen Sílvia Fernandes
Boaro

Botucatu
2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO -
DIRETORIA TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

G635m Gonçalves, Fabrício Custódio de Moura, 1987 -
Menta (*Mentha x piperita* L.) cultivada com aplicação de ácido salicílico:
avaliações fotossintéticas e bioquímicas / Fabrício Custódio de Moura
Gonçalves. - Botucatu:[s.n.] , 2017
127 p.:il., color., grafs., tabs.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2017
Orientador: Carmen Sílvia Fernandes Boaro
Inclui bibliografia

1. Plantas medicinais. 2. Menta (planta). 3. Reguladores de crescimento.
4. Ácido salicílico. I. Boaro, Carmen Sílvia Fernandes. II. Universidade
Estadual Pau- lista "Júlio de Mesquita Filho" (Câmpus de Botucatu). Faculdade
de Ciências Agrônômicas. III. Título.

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte."

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

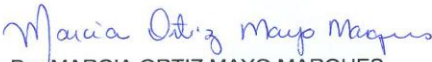
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: MENTA (*Mentha x piperita* L.) CULTIVADA COM APLICAÇÃO DE ÁCIDO SALICÍLICO: AVALIAÇÕES FOTOSSINTÉTICAS E BIOQUÍMICAS

AUTOR: FABRÍCIO CUSTÓDIO DE MOURA GONÇALVES

ORIENTADORA: CARMEN SILVIA FERNANDES BOARO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AGRONOMIA (HORTICULTURA), pela Comissão Examinadora:


Profa. Dra. CARMEN SILVIA FERNANDES BOARO
Deptº de Botânica / Instituto de Biociências de Botucatu


Dra. MARCIA ORTIZ MAYO MARQUES
IAC / Instituto Agronômico de Campinas


Prof. Dr. LUIZ FERNANDO ROLIM DE ALMEIDA
Dep Botânica / Instituto de Biociências de Botucatu

Botucatu, 02 de março de 2017

***Aos meus pais,
Francisco e Isabel,
Dedico.***

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelas oportunidades que ele semeia em meu caminho, por guiar meus passos, pela chance de mais uma conquista e por todas as lições que aprendo por meio dos obstáculos que enfrento.

Aos meus pais, Francisco e Isabel, que dignamente me ensinaram agir com respeito, simplicidade, dignidade, honestidade e amor ao próximo. E graças aos senhores, os obstáculos foram ultrapassados e vitórias foram conquistadas.

Aos meus irmãos e demais familiares, que sempre me incentivaram.

À Faculdade de Ciências Agronômicas e ao Instituto de Biociências - Universidade Estadual Paulista - Júlio de Mesquita Filho, pela oportunidade.

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

À Profa Dra Carmen Sílvia Fernandes Boaro, pela orientação, ensinamentos e paciência. A você Profa Carmen Boaro, meu respeito e admiração!

À banca examinadora, composta pelos professores Márcia Ortiz Mayo Marques, Luiz Fernando Rolim de Almeida, Gisela Ferreira e Maria Aparecida Ribeiro Vieira, pelo aceite do convite e contribuições.

À Profa Dra Gisela Ferreira pela atenção, disposição e por ter cedido espaço para uso de seu laboratório.

À Profa Dra Márcia Ortiz Mayo Marques, pela atenção, gentileza e por permitir o uso do laboratório para determinação das substâncias voláteis.

À Maria Aparecida Ribeiro Vieira, pela amizade e ajuda na identificação e interpretação das análises dos perfis de substâncias voláteis.

Ao Prof. Luiz Fernando Rolim, pela disposição e gentileza.

À Profa Dra Elizabeth Oriko Ono, pela atenção e por permitir o uso do laboratório para análises de pigmentos e fenóis totais.

À Nathália Parreiras, Luiz Mantoan e Felipe Giroto pela amizade e colaboração durante esse trabalho.

Aos amigos do curso de Pós-graduação da Faculdade de Ciências Agronômicas, em especial Rafael Bibiano, Gean Monteiro, Lucas Lencioni, Maurício Nasser, Bruno

Novaes, Lucas Ferenzini, Giovanna Lundgren, Carla Correa, Rúbia Camargo, Rafael Ferraz, Flávia Nasser, Hector, Jordany Oliveira, Aline Mendes, Daniela Teixeira, Natália Lanna, Thais Botamede, Marcelo Souza e Bernardo Tomchinsky, pela amizade e apoio.

Aos amigos da Pós-Graduação da Botânica: Samanta Dalanhof, Marília Caixeta, Janaina Oliveira, Ricardo, Angélica e Danilo, pela amizade e apoio.

A todos os professores do curso de Pós-graduação em Agronomia (Horticultura) pela disponibilidade e ensinamentos adquiridos durante essa trajetória.

Aos funcionários da Botânica, em especial ao Sr. Zé Eduardo, Sr. Aureo, Maria Helena e Helena Campos, pelo apoio prestado e atenção.

A todos os funcionários do departamento de Produção Vegetal - Horticultura, pela disponibilidade em ajudar.

Ao Prof. Eliesé Idalino pela elaboração do mapa do local do experimento.

Finalmente, a todos que participaram direta e indiretamente dessa fase importante da minha vida, a qual fiz sem medir forças para realizar de melhor maneira possível.

Meus sinceros agradecimentos!

RESUMO

A menta (*Mentha x piperita* L.), planta medicinal, apresenta óleo essencial empregado como aditivo em alimentos e em formulações farmacêuticas. O ácido salicílico é um composto fenólico, que distribuído por todo reino vegetal pode modificar as respostas fisiológicas e metabólicas da planta, atuando como composto sinalizador de defesa sistêmica por alterar de forma efetiva a biossíntese de metabólitos secundários. A presente proposta tem como objetivo estudar a *M. x piperita* cultivada com aplicação de ácido salicílico e a sua influência em aspectos dos metabolismos primário e especializado. O experimento foi conduzido no Departamento de Botânica, IBB, UNESP, Botucatu/SP, em casa de vegetação. As plantas foram cultivadas em solução nutritiva nº 2 de Hoagland & Arnon, com força iônica reduzida a 70%, em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, sem ácido salicílico e três concentrações desse composto aplicado via foliar, constituindo diferentes tratamentos com concentrações iguais a 0 (controle), 75, 150 e 225 mg L⁻¹. As avaliações de crescimento e trocas gasosas foram realizadas aos 45, 60 e 75 e as avaliações de pigmentos, fenóis totais e perfis de substâncias voláteis aos 45, 60, 75 e 90 dias após transplante. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância ou de regressão e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os resultados revelaram que aplicação de ácido salicílico não influenciou a produção de substâncias voláteis, a produção de folhas, matéria seca e área foliar, influenciando de modo discreto índices fisiológicos de crescimento e elevando taxas de assimilação de CO₂, carboxilação, condutância estomática, eficiência de uso da água e transpiração e antocianinas. Conclui-se que a aplicação de ácido salicílico influenciou o metabolismo primário e especializado, elevando as trocas gasosas e influenciando aspectos das rotas de síntese de antioxidantes.

Palavras-chave: Plantas medicinais. Elicitores biológicos. Produtividade.

ABSTRACT

Peppermint (*Mentha x piperita* L.), a medicinal plant, presents essential oil used as an additive in food and pharmaceutical formulations. The salicylic acid is a phenolic compound, that when distributed through all the plant kingdom can modify the plant's physiological and metabolic responses, acting as a systemic defense signaling compound for effectively altering the biosynthesis of secondary metabolites. The current proposal aims to study the *M. x piperita* cultivated with salicylic acid application and its influences on aspects of primary and specialised metabolisms. The experiment was conducted at the Botany department, IBB, UNESP, Botucatu/SP, in a greenhouse. The plants were cultivated in nutrient solution n^o 2 of Hoagland & Arnon, with ionic strength reduced to 70%, in an entirely randomised design, with four replicates, without salicylic acid and three concentrations of this compound applied through the leaves, constituting different treatments with concentrations equal to 0 (control), 75, 150 and 225 mg L⁻¹. Assessments of growth and gas exchange were performed at 45, 60 and 75 and the assessments of pigments, total phenols and profiles of volatile substances at 45, 60, 75 and 90 days after transplantation. The results obtained were submitted into analysis of variance or regression and the averages compared by the Turkey test at 5% of probability. The results revealed that salicylic acid application did not influence the production of volatile substances, leaf production, dry matter or leaf area, discretely influencing physiological growth rates and increasing assimilation rates of CO₂, carboxylation, stomatal conductance, efficiency of water use and transpiration and anthocyanins. It concludes that salicylic acid application influenced primary and specialised metabolism, elevating gas exchanges and influencing aspects of synthesis routes of antioxidant.

Key-words: Medicinal plants. Biological elicitors. Productivity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Principais rotas de síntese de metabólitos secundários em plantas. Fonte: Taiz e Zeiger (2004)	25
Figura 2 - Fatores ambientais que influenciam a síntese de metabólitos secundários em plantas. Fonte: Gobbo-Netto e Lopes (2007)	26
Figura 3 - Tricoma glandular peltado (estrutura secretora) em espécies de <i>Mentha</i> . Fonte: Turner et al. (2000).....	27
Figura 4 - Estrutura química do Ácido Salicílico. Fonte: Kerbauy (2008)	32
Figura 5 - Localização geográfica da área de estudo, mostrando o local de instalação do experimento (símbolo vermelho). Botucatu, 2016	40
Figura 6 - Valores de Umidade relativa do ar máxima (UR max), umidade relativa do ar média (UR média), umidade relativa do ar mínima (UR min) e temperatura máxima (T°C max), temperatura média (T°C média), temperatura mínima (T°C min) no período de condução do experimento. Botucatu, 2016	41
Figura 7 - Razão de área foliar de plantas de <i>Mentha x piperita</i> L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016	59
Figura 8 - Área foliar específica (dm ² g ⁻¹) de plantas de <i>Mentha x piperita</i> L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016.....	60
Figura 9 - Taxa assimilatória líquida (g/dm ² x dia) de plantas de <i>Mentha x piperita</i> L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016.....	62
Figura 10 - Taxa de crescimento relativo (g/g x dia) de plantas de <i>Mentha x piperita</i> L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016.....	64
Figura 11 - Biossíntese dos constituintes do óleo essencial de <i>Mentha piperita</i> L. As enzimas atuantes rota são: 1) limoneno sintase; 2) limoneno-3-hidroxilase; 3) <i>trans</i> -isopiperitenol desidrogenase; 4) isopiperitenona	

redutase; 5) *cis*-isopulegona isomerase; 6) pulegona redutase; 7) *neo*-mentol redutase; 8) mentol desidrogenase; 9) mentofurano sintase; 10) pulegona redutase; 11) *neo*-mentol redutase; 12) mentona redutase. O local de atuação das enzimas metabólicas está indicado entre parênteses. Fonte: Croteau et al. (2005) e Rios-Esteva et al. (2008) citados por Búfalo (2011)..... 90

Figura 12 - Análise dos Componentes Principais das substâncias voláteis (%), de plantas de *Mentha x piperita* L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016..... 99

Figura 13 - Dendograma obtido pela análise de Cluster Aglomerativa Hierárquica (CAH) em relação à proporção relativa média das substâncias voláteis (%), de plantas de *Mentha x piperita* L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas, definido pelo agrupamento UPGMA. Botucatu, 2016 100

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Análise de variância e comparação entre médias de altura, em cm, em plantas de <i>Mentha x piperita</i> L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016	50
Tabela 2 - Análise de variância e comparação entre médias de número de folhas, em plantas de <i>Mentha x piperita</i> L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016	51
Tabela 3 - Análise de variância e comparação entre médias de área foliar, em dm ² , em plantas de <i>Mentha x piperita</i> L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016	52
Tabela 4 - Análise de variância e comparação entre médias de massa seca de caule e pecíolos, em g, em plantas de <i>Mentha x piperita</i> L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016	53
Tabela 5 - Análise de variância e comparação entre médias de massa seca de raiz, em g, em plantas de <i>Mentha x piperita</i> L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016	55
Tabela 6 - Análise de variância e comparação entre médias de massa seca de lâminas foliares, em g, em plantas de <i>Mentha x piperita</i> L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016	56
Tabela 7 - Análise de variância e comparação entre médias de massa seca total, em g, em plantas de <i>Mentha x piperita</i> L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016	57
Tabela 8 - Razão de área foliar (dm ² g ⁻¹) de plantas de <i>Mentha x piperita</i> L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016.....	58

Tabela 9 - Área foliar específica ($\text{dm}^2 \text{ g}^{-1}$) de plantas de <i>Mentha x piperita</i> L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016	60
Tabela 10 - Taxa assimilatória líquida ($\text{g/dm}^2 \times \text{dia}$) de plantas de <i>Mentha x piperita</i> L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016	61
Tabela 11 - Taxa de crescimento relativo ($\text{g/g} \times \text{dia}$) de plantas de <i>Mentha x piperita</i> L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016	63
Tabela 12 - Análise de variância e comparação entre médias de assimilação de CO_2 (A , $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) em plantas de <i>Mentha x piperita</i> L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016.....	65
Tabela 13 - Análise de variância e comparação entre médias da condutância estomática (g_s , $\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) em plantas de <i>Mentha x piperita</i> L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016.....	66
Tabela 14 - Análise de variância e comparação entre médias da concentração interna de CO_2 (C_i , $\mu\text{mol mol}^{-1}$) em plantas de <i>Mentha x piperita</i> L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016.....	68
Tabela 15 - Análise de variância e comparação entre médias de eficiência de carboxilação (A/C_i) em plantas de <i>Mentha x piperita</i> L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016	69
Tabela 16 - Análise de variância e comparação entre médias de taxa de transpiração (E , $\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) em plantas de <i>Mentha x piperita</i> L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016.....	70
Tabela 17 - Análise de variância e comparação entre médias de eficiência do uso da água (A/E , $\mu\text{mol CO}_2 (\text{mmol H}_2\text{O})^{-1}$) em plantas de <i>Mentha x piperita</i> L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016	71

Tabela 18 - Análise de variância e comparação entre médias de teores médios de clorofila a ($\mu\text{g g matéria fresca}^{-1}$) em plantas de <i>Mentha x piperita</i> L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016.....	73
Tabela 19 - Análise de variância e comparação entre médias de teores médios de clorofila b ($\mu\text{g g matéria fresca}^{-1}$) em plantas de <i>Mentha x piperita</i> L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016.....	74
Tabela 20 - Análise de variância e comparação entre médias de teores médios de carotenoides ($\mu\text{g g matéria fresca}^{-1}$) em plantas de <i>Mentha x piperita</i> L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016.....	76
Tabela 21 - Análise de variância e comparação entre médias de teores médios de antocianinas ($\mu\text{g g matéria fresca}^{-1}$) em plantas de <i>Mentha x piperita</i> L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016.....	77
Tabela 22 - Análise de variância e comparação entre médias de teores de fenóis totais (%) em plantas de <i>Mentha x piperita</i> L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016	79
Tabela 23 - Composição das substâncias voláteis (%) presente em plantas de <i>Mentha x piperita</i> L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, aos 45, 60, 75 e 90 dias após transplante. Botucatu, 2016. Média de quatro repetições.....	81
Tabela 24 - Análise de variância e comparação entre médias de mentofurano nos voláteis de plantas de <i>Mentha x piperita</i> L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016	87
Tabela 25 - Análise de variância e comparação entre médias de mentona nos voláteis de plantas de <i>Mentha x piperita</i> L. cultivadas com diferentes	

concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016.....	88
Tabela 26 - Análise de variância e comparação entre médias de mentol nos voláteis de plantas de <i>Mentha x piperita</i> L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016.....	91
Tabela 27- Análise de variância e comparação entre médias de acetato de mentila nos voláteis de plantas de <i>Mentha x piperita</i> L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016.....	92
Tabela 28 - Análise de variância e comparação entre médias de neo-acetato de mentila nos voláteis de plantas de <i>Mentha x piperita</i> L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016	93
Tabela 29 - Análise de variância e comparação entre médias de 1,8 cineol nos voláteis de plantas de <i>Mentha x piperita</i> L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016.....	94
Tabela 30 - Análise de variância e comparação entre médias de pulegona nos voláteis de plantas de <i>Mentha x piperita</i> L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016.....	95
Tabela 31 - Análise de variância e comparação entre médias de limoneno nos voláteis de plantas de <i>Mentha x piperita</i> L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016.....	96

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	21
2.1	REVISÃO DE LITERATURA.....	23
2.2	Família Lamiaceae e a espécie <i>Mentha x piperita</i> L.	23
2.3	Metabolismo especializado e óleos essenciais.....	24
2.4	Cultivo hidropônico de plantas medicinais	28
2.5	Ácido salicílico como elicitor biológico do metabolismo de plantas.....	29
2.6	Análise de crescimento em plantas	33
2.7	Trocas gasosas em plantas	35
2.8	Clorofilas a, b, carotenoides e antocianinas	36
2.9	Compostos fenólicos	38
3	MATERIAL E MÉTODOS	40
3.1	Local de estudo.....	40
3.2	Material vegetal e tratamentos.....	41
3.3	Delineamento experimental	42
3.4	Tratos fitossanitários	43
3.5	Avaliação de índices fisiológicos e bioquímicos	43
3.5.1	Análise de crescimento	43
3.6	Trocas gasosas	44
3.7	Concentração de clorofila a, b, carotenoides e antocianinas	45
3.8	Teor de fenóis totais	46
3.9	Extração e caracterização química das substâncias voláteis.....	47
3.10	Análise estatística	48
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
4.1	Variáveis fisiológicas	49
4.2	Trocas gasosas	64
4.3	Concentração de clorofila a, b, carotenoides e antocianinas	72
4.4	Teor de fenóis totais	78
4.5	Teor de substâncias voláteis	79
4.5.1	Monoterpenos oxigenados	85

4.5.2	Hidrocarbonetos monoterpênicos	95
4.5.3	Análise dos componentes principais e dendograma.....	96
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	101
6	CONCLUSÕES.....	104
	REFERÊNCIAS	105
	APÊNDICE A - Estrutura química das principais substâncias voláteis de plantas de <i>Mentha x piperita</i> L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016.....	127

1 INTRODUÇÃO

As plantas medicinais têm sido usadas durante séculos na medicina tradicional devido a seu efeito terapêutico (SAHARKHIZ et al., 2012). A qualidade e quantidade dos princípios ativos refletem o valor comercial das plantas medicinais (POVH; ONO, 2006). Entre as espécies medicinais, as da família Lamiaceae possuem importância agrícola, sendo utilizadas em culinária, medicina tradicional, indústria farmacêutica e cosmética (KRUPPA; RUSSOMANNO, 2008).

A menta (*Mentha x piperita* L.) é uma espécie da família Lamiaceae que produz óleo essencial amplamente utilizado como aditivo de alimentos, em produtos de higiene bucal e em preparações farmacêuticas. Além disso, o óleo essencial da espécie possui propriedades antioxidantes e antibacterianas (SAHARKHIZ et al., 2012; SHABRANGI; BEIGIJAZI, 2014).

O óleo essencial de menta representa apenas uma pequena parcela do total da produção das espécies aromáticas no país, insuficiente para atender à demanda da indústria nacional. Assim, a obtenção de materiais genéticos com alto potencial de rendimento de óleo essencial e o conhecimento da fisiologia e manejo poderão resultar em aumento da produção da espécie (COSTA et al., 2012). No tocante aos aspectos agronômicos, as pesquisas sobre menta são insuficientes, havendo necessidades de estabelecimento de técnicas apropriadas para produção da planta, possibilitando produção de matéria prima vegetal de boa qualidade, com maior teor de óleo essencial (DAVID et al., 2006).

A resposta biológica das espécies vegetais é influenciada por fatores, como genética da planta, água, local de cultivo e solo, assim como tratamentos culturais, que junto com a herbivoria, também podem influenciar a composição e o teor de óleo essencial. Esses fatores podem apresentar interações entre si, influenciando o metabolismo secundário, mais recentemente denominado especializado (ROSA et al., 2010; MORAIS, 2009).

Muitas vezes os compostos bioativos das plantas medicinais podem ser ativados somente durante determinada fase do crescimento ou estágio de desenvolvimento,

ou ainda em épocas específicas do ano e geralmente em condições adversas (VERPOORTE; MEMELINK, 2002). Dessa forma, estudos têm sido realizados como tentativa de intensificar a produção de metabólitos de interesse alimentício e farmacêutico (LOURENÇO, 2003).

Além disso, a indução de rotas biossintéticas utilizando-se elicitores biológicos pode ser importante alternativa para produção de compostos de interesse medicinal.

Os elicitores biológicos se referem a substâncias que induzem resposta de defesa no vegetal, iniciando ou aumentando a biossíntese de compostos específicos (SILVA et al., 2015; KERBAUY, 2008). As principais moléculas elicitoras são ácido jasmônico, ácido salicílico, brassinosteroides e poliaminas (THAKUR; SOHAL, 2013). Entre os elicitores, o ácido salicílico (AS) é sinalizador de resistência de plantas a patógenos, estresses abióticos e algumas pragas (KESSMANN et al., 1994; MESCHÉDE et al., 2012), alterando de forma efetiva a biossíntese de compostos de interesse medicinal (DOUSSEAU, 2013), influenciando outros aspectos fisiológicos e bioquímicos e, desempenhando, portanto, papel chave na regulação do crescimento e na produtividade vegetal (HAYAT et al., 2010).

Pesquisas envolvendo substâncias com propriedades elicitoras também procuram identificar aquelas que interferem na produção de compostos de interesse da indústria farmacêutica, alimentícia e de cosméticos (VÁZQUEZ-FLOTA et al., 2009). Embora vários estudos com AS tenham sido desenvolvidos para a verificação de sua ação como indutor de defesa em plantas, pouco se sabe sobre sua ação na fotossíntese e na produtividade de espécies medicinais, em especial do grupo das aromáticas.

A presente proposta tem como objetivo estudar a *M. x piperita* cultivada com aplicação de AS e a sua influência em aspectos dos metabolismos primário e especializado.

2.1 REVISÃO DE LITERATURA

2.2 Família Lamiaceae e a espécie *Mentha x piperita* L.

A utilização de espécies vegetais em terapêutica é tradição milenar que compõem a cultura de várias nações, constituindo, ainda hoje, alternativa de grande aceitação (SANTOS et al., 2008). O cultivo e a importância de plantas aromáticas e medicinais vêm crescendo com o passar do tempo no mundo, com base, em especial, na demanda criada pelas indústrias (SOUZA et al., 2007; PARREIRAS, 2014).

Entre os importantes compostos do metabolismo especializado estão os constituintes dos óleos essenciais, biossintetizados por muitas espécies da família Lamiaceae (LIMA et al., 2007). Entre essas espécies, as do gênero *Mentha* foram introduzidas no Brasil ainda na época de seu descobrimento, enquanto outras vieram com japoneses e europeus no início do século XX. As mentas são utilizadas na culinária e para chás medicinais, sendo conhecidas principalmente pelo sabor característico e aroma refrescante. Entre as mais populares destacam-se hortelã japonesa ou vique (*Mentha arvensis* L.), hortelã pimenta (*Mentha x piperita* var. *piperita* L.), hortelã verde ou menta-dos-jardins (*Mentha spicata* L.), hortelã rasteira ou hortelã-de-panela (*Mentha x villosa* Huds.), hortelã limão (*Mentha x piperita* var. *citrata* (Ehrh.) Briq.), menta-do-levante (*Mentha x gracilis* Sole) e hortelã comum (*Mentha suaveolens* Ehrh.) (GARLET et al., 2008).

No gênero *Mentha*, merece destaque a espécie *Mentha x piperita* L., conhecida como hortelã pimenta, menta e hortelã-apimentada. Originária da Europa, foi trazida pelos colonizadores e cultivada no Brasil como planta medicinal em canteiros de jardins e quintais (MOREIRA et al., 2007). As plantas sobrevivem em temperaturas baixas, mas são bem adaptadas a clima tropical. Temperaturas elevadas, no entanto, podem diminuir o rendimento de óleo essencial (SOUZA et al., 2007).

A *M. x piperita* é um híbrido de hortelã verde (*Mentha spicata* L.) e a menta aquática (*Mentha aquatica* L.), cultivada na bacia do Mediterrâneo e produzida comercialmente na Inglaterra no final do século XVII (LAWRENCE, 2006). A *M. x*

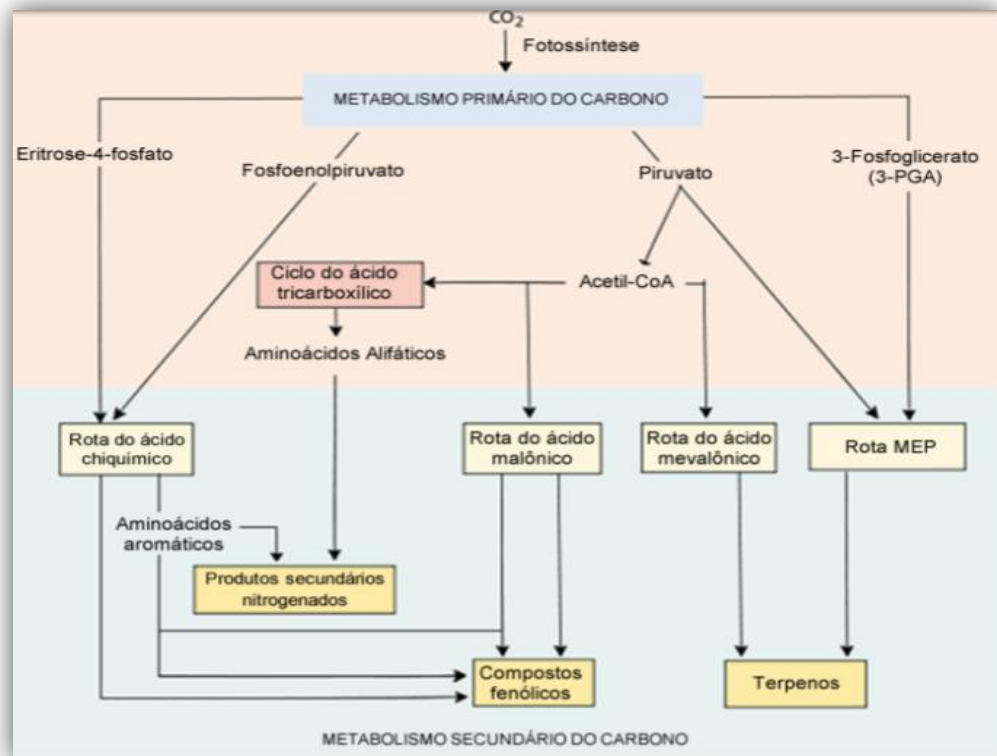
piperita é cultivada principalmente em regiões de clima temperado, na Austrália, África, Ásia, Europa e nas Américas, principalmente nos Estados Unidos (PEGORARO, 2007). Erva aromática, de mais ou menos 30 cm de altura e semiereta, possui ramos que variam do verde escuro ao roxo purpúreo e as folhas são elíptico acuminadas, denteadas e pubescentes (LORENZI; MATOS, 2002). Apresenta caule ramificado, contendo folhas opostas pecioladas ovais e com margem serrilhada, apresentando cor verde mais escura na face superior e mais pálida na inferior (HABER et al., 2005). Sua propagação pode ser sexuada ou vegetativa (ASMAR et al., 2011), sendo produzida, principalmente, a partir de estaquia de ramos foliares ou rizomas (CARVALHO et al., 2010).

O óleo essencial dessa espécie é destinado principalmente ao mercado interno do País (CERIMELE; RINGUELET, 2008). Os mais importantes constituintes do óleo essencial de *M. x piperita* são pulegona, α -pineno, sabineno, β -pineno, 3-octanol, 1,8 cineol, limoneno, piperitona, acetato de neomentila, acetato de mentila, *t*-cariofileno, farneseno, isomentona, neomentol, isomentol, mentofurano, mentol e mentona (AFLATUNI, 2005; TAVISH; HARRIS, 2002). A espécie apresenta diversas aplicações nas indústrias de alimentos, cosmética e farmacêutica, possuindo propriedades antioxidante, antitumoral, antimicrobiana, antialérgico e imunomoduladora, além de ação no trato digestivo (LV et al., 2012; MCKAY; BLUMBERG, 2006). Essas ações são suficientes para justificar desenvolvimento de tecnologias que incrementem a produtividade e a composição do óleo essencial da espécie, com o aumento de sua produção.

2.3 Metabolismo especializado e óleos essenciais

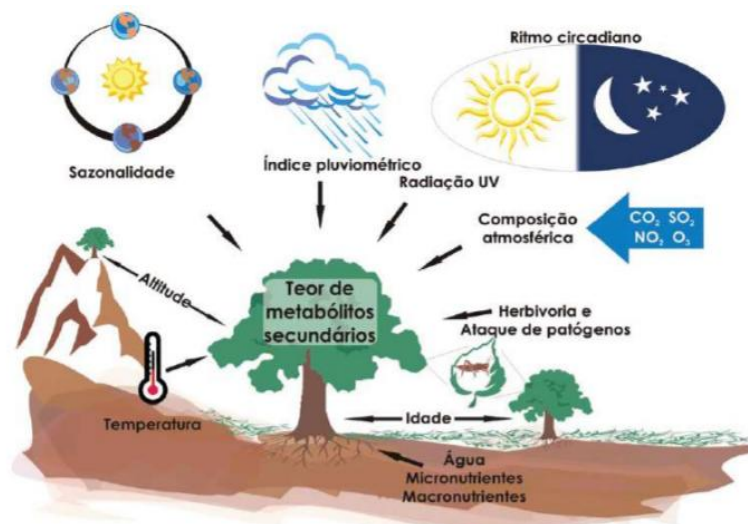
O metabolismo primário, que consome a maior parte da energia produzida pela planta, é essencial para crescimento, desenvolvimento, maturação e reprodução de qualquer vegetal. Do metabolismo primário participam a fotossíntese, a respiração e o transporte de nutrientes na planta. O metabolismo especializado origina compostos que são específicos para diferentes espécies (GONÇALVES; GUAZZELLI, 2014), dependendo do composto produzido, são originados por diferentes rotas de síntese (Figura 1).

Figura 1 - Principais rotas de síntese de metabólitos secundários em plantas. Fonte: Taiz e Zeiger (2004)



Metabólitos secundários são substâncias sempre presentes na planta ou produzidas mediante estímulos específicos. A regulação do metabolismo especializado, portanto, depende da capacidade genética da planta em responder a fatores intrínsecos ou extrínsecos e da existência desses estímulos no momento apropriado (ALVARENGA-MELO, 2005). Além disso, a produção de metabólitos especializados depende dos hormônios vegetais e das condições de cultivo (CASTRO et al., 2004). Esses fatores podem atuar isoladamente ou em conjunto na indução de rota do metabolismo especializado (Figura 2).

Figura 2 - Fatores ambientais que influenciam a síntese de metabólitos secundários em plantas. Fonte: Gobbo-Netto e Lopes (2007)



Especificamente a síntese de óleo essencial é dependente de compostos sintetizados no metabolismo primário e, portanto, pode-se inferir que ela está relacionada à produtividade das plantas determinada pela quantidade de folhas, capacidade fotossintética e disponibilidade de nutrientes que determinam a produção de biomassa (DE FAZIO, 2011).

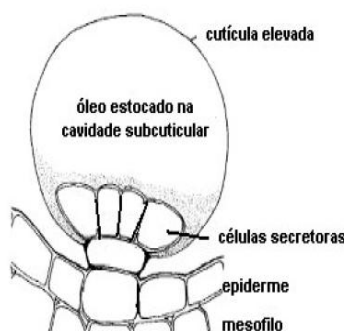
Considerando-se o metabolismo primário e especializado, a obtenção da matéria-prima de plantas medicinais, não objetiva apenas produzir grande quantidade de biomassa, mas também boa qualidade de seus princípios ativos (CAMILO et al., 2009). A avaliação da qualidade dos óleos essenciais leva em consideração a quantificação de seus componentes (PAULUS et al., 2007).

Os óleos essenciais são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, com baixo peso molecular, geralmente odoríferas e líquidas, constituídos na maioria das vezes, por moléculas de natureza terpênica, especificamente monoterpenos (C10), sesquiterpenos (C15), alguns diterpenos (C20) e grande variedade de hidrocarbonetos alifáticos de baixo peso molecular (lineares, ramificados, saturados e insaturados). Frequentemente apresentam odor agradável e marcante e são extraídos das partes vegetais hidrodestilação por arraste a vapor d'água, ou prensagem de partes vegetais, ou outros métodos como enfleurage, extração por CO₂ supercrítico, muito utilizado na indústria, e por solventes orgânicos apolares, cujos extratos não apresentam valor comercial (MORAIS et al., 2009; DORMAN;

DEANS, 2000). A identificação dos componentes químicos do óleo essencial são obtidos submetendo-se uma amostra de óleo à análise cromatográfica acoplada à espectrometria de massas (PAULUS et al., 2007).

Os óleos essenciais são geralmente produzidos por estruturas secretoras especializadas, como pelos glandulares, células parenquimáticas, canais oleíferos ou bolsas específicas (Figura 3). Tais estruturas podem estar localizadas na planta toda ou em partes específicas. Assim, os óleos essenciais podem ser encontrados em diversas partes, como nas flores, no caso da rosa e do jasmim, nas folhas, em eucalipto e capim limão, nos frutos, na laranja e limão, na madeira, em sândalo e pau rosa, nas cascas do caule, em canela, nas raízes, no vertiver, nos rizomas, no gengibre, nas sementes, na noz moscada e na parte aérea, como ocorre na menta (ALVARENGA-MELO, 2005).

Figura 3 - Tricoma glandular peltado (estrutura secretora) em espécies de *Mentha*.
Fonte: Turner et al. (2000)



O papel dos óleos essenciais encontrados nas plantas está relacionado com a sua volatilidade, por meio do que agem como sinais de comunicação química no reino vegetal e como defesa contra o reino animal (FRANCO, 2005).

O óleo essencial de menta é utilizado, em especial, na confecção de sabonetes, loções, cremes de barbear, perfumes e medicamentos. A ampla aplicação explica porque a menta é o flavorizante na preferência mundial, sendo superada pelas essências de baunilha e de *Citrus* (GARLET et al., 2007).

Fatores ambientais e de desenvolvimento têm grande influência na regulação da produção e composição do óleo essencial de menta (MAIRAPETYAN, 1999), sendo que a regulação de determinadas etapas da via biossintética dos monoterpenos é regulada por diversos estímulos ambientais e de desenvolvimento (CROTEAU et al. 2000), além disso, a composição química do óleo essencial de menta é reflexos diretos das atividades das enzimas biossintéticas presentes em determinada situação fisiológica e de desenvolvimento (DE FAZIO, 2011), sendo estas atividades enzimáticas, regulada por fatores genéticos, além disso, outros fatores podem acarretar alterações na produção de compostos ativos (MORAIS et al., 2009).

Apesar da importância e da evolução dos estudos nos últimos anos, ainda são poucos os trabalhos sobre aspectos fisiológicos e processos bioquímicos envolvidos na produção de metabólitos secundários (SOUZA et al., 2007), sendo importante a realização de estudos que auxiliem a elucidação dos fatores que influenciam quantidade e qualidade de compostos de interesse medicinal e farmacêutico em plantas medicinais. As informações são ainda mais escassas quando se considera a influência de elicitores biológicos no metabolismo especializado.

2.4 Cultivo hidropônico de plantas medicinais

Apesar de hidroponia (do grego: *hydro* = água e *ponos* = trabalho) significar trabalho com água, o termo refere o conjunto de técnicas empregadas para cultivar plantas sem o uso do solo, fornecendo-se os nutrientes minerais essenciais às plantas na forma de solução nutritiva (NETO; BARRETO, 2012).

O cultivo hidropônico de plantas no Brasil vem crescendo nos últimos anos, apresentando mercado promissor e grande número de fórmulas recomendadas para o cultivo, em especial de hortaliças. Considerando-se as plantas medicinais e aromáticas, poucas informações são disponíveis quanto ao desenvolvimento das espécies nessas condições, incluindo a menta. Os trabalhos de Leal (2001); Valmorbida et al. (2007); David et al. (2007, 2009); De Fazio (2007, 2011); Búfalo et al. (2014) e Búfalo (2015) devem ser destacados em relação ao cultivo de menta com variação de nutrientes minerais, como fósforo, potássio, cálcio, magnésio, nitrogênio, alelopatia e déficit hídrico.

Também deve ser registrado que o cultivo hidropônico pode apresentar vantagens sobre o sistema tradicional no cultivo de plantas medicinais (SOUZA et al., 2007; PAULUS et al., 2008). A hidroponia também reduz a necessidade de uso de agrotóxico, resultando em produto de melhor qualidade para consumo. Além disso, a crescente exigência dos principais mercados por produtos de boa qualidade e de origem certificada, sem agressões ao ambiente, vem oferecendo vantagens adicionais para o uso de hidroponia, principalmente quando se cultivam plantas de interesse farmacêutico (HABER et al., 2005). O desenvolvimento da parte aérea dos vegetais, como por exemplo, da menta, depende da nutrição mineral, que se torna de fundamental importância para que se possa extrair seu óleo, garantindo rendimento e qualidade (DAVID et al., 2007), o que torna necessário manter o equilíbrio entre os nutrientes como forma de obtenção de adequada produção (CORRÊA et al., 2010).

Maia em 1998 já referiu que plantas cultivadas em solução nutritiva poderiam apresentar rendimento de óleo essencial até cinco vezes superior aos encontrados naquelas produzidas em cultivos convencionais. O teor de mentol das plantas oriundas do cultivo hidropônico é superior ao encontrado em plantas cultivadas em solo. De acordo com Pichi et al. (2012), para fins comerciais, o cultivo hidropônico de menta pode proporcionar maior retorno econômico somando-se a produção de óleo essencial obtida a cada colheita, realizada a cada 60 dias, resultando em seis ciclos por ano.

2.5 Ácido salicílico como elicitor biológico do metabolismo de plantas

A expressão e a regulação dos processos fisiológicos nos vegetais dependem do balanço hormonal nas diferentes partes da planta (COSTA et al., 2010). Esses hormônios, de modo geral, apresentam seus efeitos, de forma direta ou indireta, em pequenas quantidades, nos tecidos e órgãos que os produzem, expressando respostas fisiológicas específicas. A atuação dos hormônios não depende apenas de composições químicas, mas também de como são “percebidos” pelos respectivos tecidos-alvo, e assim, a mesma substância pode determinar efeitos variáveis na

dependência do tecido ou órgão de atuação, da concentração destes hormônios e da época de desenvolvimento do referido tecido (KARLOVA; VRIES, 2006; WEI et al., 2012). Além disso, sabe-se que raramente os hormônios agem sozinhos e o tecido que recebeu a aplicação de regulador vegetal contém hormônios endógenos que contribuem para as respostas obtidas (COBUCCI et al., 2008), sendo os hormônios, os principais fatores internos que afetam o crescimento e desenvolvimento vegetal (ALBRECHT et al., 2011).

Muitos reguladores sintéticos são disponíveis no mercado e cada grupo apresenta efeito diferenciado no crescimento e desenvolvimento vegetal e, portanto, na produção (TEIXEIRA; ANDRADE, 2001). Além disso, os reguladores vegetais utilizados na agricultura podem influenciar quantidade e qualidade de produção. No entanto, pouco se conhece sobre os efeitos destas substâncias no metabolismo de plantas medicinais e aromáticas (POVH; ONO, 2008). Na dosagem correta, contribuem com o equilíbrio hormonal, trazendo resultados positivos à cultura (TEIXEIRA; ANDRADE, 2001). Storck et al. (2013) verificaram que a aplicação de reguladores vegetais direciona a rota de síntese de óleo essencial para a formação dos compostos majoritários. Sangwan (2001) reforçam que reguladores vegetais podem atuar favorecendo o rendimento e a qualidade dos óleos essenciais em espécies do gênero *Mentha*.

Dessa forma, alguns autores incluem os elicitores biológicos, ácido salicílico (AS), jasmonatos, brassinosteroides, poliaminas, oligossacarídeos e metil jasmonatos, como reguladores vegetais (TAIZ; ZEIGER, 2009; ZHAO et al., 2005).

Elicitores são produtos de origem biótica ou abiótica que aplicados em plantas induzem a expressão de genes que codificam diversas respostas de defesa a patógenos e resistência sistêmica adquirida (DURRANT; DONG, 2004), ativando ou melhorando a biossíntese de compostos específicos (RADMAN et al. (2003), que podem desencadear respostas fisiológicas e morfológicas importantes na planta (NAMDEO, 2007).

As plantas respondem aos elicitores ativando mecanismos na superfície da membrana plasmática (BAENAS et al., 2014), que podem ativar genes relacionados à defesa (ALI et al., 2007). Pode ocorrer indução de proteínas relacionadas a proteção contra o estresse oxidativo (GARCÍA-BRUGGER et al., 2006), produção de espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, mudança no potencial eletroquímico da membrana plasmática com movimentação de íons (efluxo de Cl^- e K^+ e influxo de

Ca^{2+}), fosforilação de proteínas, oxidação lipídica e ativação e biossíntese de novos fatores de transcrição, que regulam diretamente a expressão de genes envolvidos na produção de metabólitos. Além disso, barreiras estruturais defensivas, tais como reforço e deposição de lignina na parede celular podem ocorrer (FERRARI; ZHAO et al., 2005; 2010 citados por BAENAS et al., 2014).

Assim, o principal fator determinante para a produção e qualidade do óleo essencial é o fator transcricional e traducional das enzimas que catalisam as vias metabólicas (DE FAZIO, 2011). A expressão de um gene em uma planta medicinal pode alterar o perfil de metabólitos produzidos, de tal modo que o fluxo da via seja direcionado e que uma maior quantidade de um composto ativo útil seja acumulada (FRANÇA et al., 2004). Quando as células vegetais são expostas ao tratamento de elicitor, inicia uma transdução de sinal a partir da superfície da membrana plasmática que desencadeia a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), que induz a resposta de defesa da planta e intensifica a atividade de enzimas chave que catalisam a biossíntese de metabólitos secundários (ZHAO et al., 2005). Assim, o uso de elicitores de plantas e sua concentração devem ser cuidadosamente considerados para evitar efeitos prejudiciais às células, uma vez que pode promover a geração de EROs, como superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$) e de espécies reativas de nitrogênio (ERNs) (CHEESEMAN, 2007).

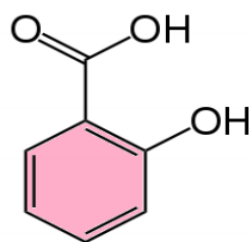
Além disso, os elicitores biológicos atuam na rota chiquimato, responsável pela formação de grande parte de compostos especializados (HERRMANN; WEAVER, 1999). Neste caso, a indução da resistência com aplicação de elicitores biológicos pode alterar a partição de carbono, o desenvolvimento vegetal (ANTONIAZZI; DESCHAMPS, 2006) e conseqüentemente a produção de metabólitos de plantas medicinais.

Com base no acima exposto, os elicitores biológicos podem estimular diferentes classes de metabólitos e influenciar a concentração de compostos de interesse medicinal e farmacêutico, dependendo da espécie e cultivar e da natureza estimuladora (BAENAS et al., 2014). A capacidade dos elicitores biológicos em estimular aumento dos teores de metabólitos, tais como componentes do óleo

essencial, em plantas aromáticas, não está totalmente esclarecida (SILVA et al., 2014).

Dentre os elicitores biológicos, o ácido salicílico (AS) pertence ao grupo dos compostos fenólicos usualmente definidos como composto com um anel aromático ligado a um grupo hidroxil ou ao seu derivado funcional. O AS, assim denominado após ter sido encontrado na casca de salix, é amplamente distribuído nas folhas e estruturas reprodutivas em plantas (KERBAUY, 2004). O AS sintético apresenta-se como pó cristalino que se funde à temperatura de 157-159°C, sendo moderadamente solúvel em água e muito solúvel em solventes orgânicos polares. Considerado substância reguladora do crescimento vegetal é ativador enzimático (MAIA et al., 2000; MEHRABIAN et al., 2011) e importante indutor de diversos processos fisiológicos, incluindo a fotossíntese (GONÇALVES, 2013).

Figura 4 - Estrutura química do Ácido Salicílico. Fonte: Kerbauy (2008)



O AS pode ser sintetizado nas plantas a partir de duas vias enzimáticas diferentes: pela via dos fenilpropanoides, a partir da L-fenilalanina que por ação da enzima fenilalanina-amoniolase, é convertida em ácido *trans*-cinâmico que irá formar o ácido benzoico e será convertido em AS por ação da enzima ácido benzoico-2-hidroxilase; e pela via do isicorismato, sendo que o corismato é convertido em isocorismato por ação da enzima isocorismato sintase e transforma-se em AS por ação da enzima isocorismato piruvato liase (KAWANO; BOUTEAU, 2013).

O AS pode interagir com citocininas, etileno, auxinas, giberelinas, ácido jasmônico e ácido abscísico, na regulação do crescimento e desenvolvimento vegetal, embora os mecanismos bioquímicos responsáveis pela maioria dessas respostas permaneçam muitas vezes desconhecidos (RIVAS-SAN VICENT; PLASENCIA, 2011; SHARAFIZAD et al., 2013). O AS induz uma cascata de eventos que provocam a produção de uma grande variedade de metabólitos com diversas

funções na planta (HARMAN et al. 2004), como compostos fenólicos e componentes de óleo essencial.

Além disso, aplicação exógena de AS aumentou o conteúdo de pigmento e taxa fotossintética em plantas de Poaceae, milho (*Zea mays* L.) (KHODARY, 2004). No entanto, aplicação exógena de AS pode inibir o crescimento da planta, reduzir a transpiração e promover abscisão das folhas (KERBAUY, 2008).

Além disso, o AS, que atua como um regulador de crescimento de plantas pode alterar a produção e qualidade de óleo essencial de menta (SAHARKHIZ; GOUDARZI, 2014).

O AS pode aumentar a fotossíntese líquida em plantas de Zingiberaceae, gengibre (*Zingiber officinale* L.) (GHASEMZADEH; JAAFAR, 2013), por sua atuação na atividade e conteúdo da enzima rubisco (VAZIRIMEHR; RIGI, 2014), afetando a condutância estomática e transpiração (SHAKIROVA; SAKHABUTDINOVA, 2003), proporcionando ainda aumento do teor de clorofila (SINGH; USHA, 2003).

2.6 Análise de crescimento em plantas

A análise de crescimento baseia-se, fundamentalmente, no fato de que cerca de 90%, em média, da matéria seca acumulada pelas plantas ao longo do seu desenvolvimento resulta da atividade fotossintética, permitindo descrever as condições morfofisiológicas da planta em diferentes intervalos de tempo e dessa forma, acompanhando seu crescimento (BENINCASA, 2003; JUNIOR et al., 2007).

A análise de crescimento, expressa condições morfofisiológicas da planta e quantifica a produção líquida, derivada do processo fotossintético, que resulta do desempenho do sistema assimilatório durante certo período de tempo e é influenciada por fatores bióticos e abióticos (LARCHER, 2004).

O crescimento vegetal pode ser medido por métodos destrutivos, em que se avalia o acúmulo de massa seca no tempo, ou por métodos não destrutivos, em que se mede, por exemplo, a altura, ou ainda a área foliar. Os índices de crescimento podem, portanto, ser calculados conhecendo-se a massa seca total da planta ou de suas partes (folhas e raízes) e a dimensão do aparelho assimilatório (área foliar),

durante certo intervalo de tempo (OLIVEIRA et al., 2000). Segundo Benincasa (2003), os principais índices de crescimento são taxa de crescimento relativo (TCR), taxa de assimilação líquida (TAL), razão de área foliar (RAF) e área foliar específica (AFE).

A denominação de análise de crescimento clássica é utilizada para designar as descrições quantitativas de crescimento realizadas por meio de colheitas periódicas uniformemente espaçadas no tempo, enquanto a análise de crescimento funcional não precisa atender a premissa de serem uniformemente espaçadas no tempo (HUNT; PARSONS, 1974). A partir dos dados de crescimento pode-se estimar de forma bastante precisa, as causas de variação em padrões de crescimento de plantas geneticamente diferentes ou crescendo em ambientes diferentes (BENINCASA, 2003).

O conhecimento dos fatores relacionados a crescimento e desenvolvimento das plantas permite o planejamento adequado de cultivo das espécies, maximizando a utilização da área de produção com vistas à maior produtividade (PEDO et al., 2014).

Uma vez que TAL e RAF são componentes da TCR, dependendo da cultura e das condições do meio no qual ela se encontra, pode-se entender qual destes índices tem maior influência na TCR (SILVA et al., 2005).

Durante o crescimento vegetal, o acúmulo de matéria seca resulta da associação de vários componentes. Pode-se distinguir uma fase inicial de crescimento lento, passando posteriormente a uma fase exponencial e, em seguida, a uma de crescimento linear e um novo período de crescimento lento, com a paralisação eventual do processo (PEIXOTO et al., 2006; PEIXOTO et al., 2011).

Considerando-se as plantas medicinais, a idade e o estágio de desenvolvimento podem influenciar não apenas a quantidade total de metabólitos secundários produzidos, mas a proporção relativa destes compostos. O estágio de desenvolvimento do tecido determina a capacidade biossintética de vários compostos, dentre estes, os óleos essenciais (MORAIS, 2009). Estudando plantas de Poaceae, capim limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf.) Leal et al. (2003) verificaram que o rendimento de óleo essencial decresceu linearmente com a idade das plantas. Oliveira et al. (2012) observaram que o teor de óleo essencial de hortelã limão (*Mentha x piperita* var. *citrata*) também variou com a idade da planta e o maior conteúdo ocorreu aos 120 dias.

2.7 Trocas gasosas em plantas

O processo fotossintético das plantas ocorre nos cloroplastos e resulta na liberação de oxigênio molecular e na captura de dióxido de carbono (CO_2) da atmosfera, que é utilizado para sintetizar carboidratos (MAJEROWICZ, 2004). Assim, por meio deste processo, os seres autotróficos, convertem a energia física da luz solar em energia química, sendo esse processo essencial para a manutenção de todas as formas de vida aqui existentes (DEL' ALAMO GUARDA, 2014).

Qualquer fator que interfere na eficiência fotossintética deverá influenciar o desenvolvimento da planta. O crescimento das plantas está condicionado à obtenção de energia proveniente da radiação solar, através da interceptação e sua utilização no processo de fotossíntese. A fotossíntese líquida do dossel resulta na produção de biomassa, que pode ser influenciada por luz, temperatura, umidade, fertilidade do solo, e manejo, como por exemplo, intensidade e frequência de corte ou pastejo, fatores que atuam como importantes condicionadores da arquitetura do dossel (LOPES et al., 2009; LOPES et al., 2013).

A avaliação das trocas gasosas por meio da utilização do IRGA (*Infrared Gas Analyzer*) e a análise de crescimento, com medidas não destrutivas, de modo rápido, pode ser técnica precisa para caracterização de fatores fisiológicos que interferem na eficiência fotossintética e partição de assimilados (VERISSIMO et al., 2010). Vilanova e Silva Junior (2010) reforçam que a melhor compreensão do metabolismo da planta pode ser realizada por meio da avaliação das trocas gasosas.

Essas avaliações podem auxiliar o estudo da capacidade fotossintética das plantas e têm sido muito utilizadas, por ser método não destrutivo. As trocas gasosas são medidas pela taxa de assimilação líquida de CO_2 , condutância estomática, concentração interna de CO_2 e taxa de transpiração (MACEDO, 2015).

A perda de água das folhas é controlada, de maneira geral, pelo déficit de pressão de vapor entre a folha e o ar. A assimilação fotossintética de CO_2 é elevada em condição de maior umidade. Observa-se também que em condição de reduzidos valores de déficit de pressão de vapor folha-ar, a condutância estomática é elevada. Baixa umidade pode causar perda de água nas folhas, levando a fechamento

estomático, influenciando trocas gasosas entre órgãos vegetais e ar (OLIVEIRA; CAMPOSTRIN, 2008).

Do ponto de vista produtivo é de grande importância informações sobre assimilação do CO₂ e da eficiência do uso da água (BRANDÃO FILHO et al., 2003), sendo a assimilação de CO₂ apenas um dos fatores que influenciam o crescimento e desenvolvimento vegetal (FOYER; GALTIER, 1996).

A eficiência do uso da água revela a capacidade da planta em abrir seus estômatos para assimilar CO₂, perdendo menos água durante esse processo e resultando em maior economia de água pela planta, podendo ter influência na produtividade (AMARO et al., 2009).

2.8 Clorofilas a, b, carotenoides e antocianinas

Os pigmentos fotossintetizantes estão inicialmente envolvidos na captação da radiação solar e na sua conversão em energia química, na forma de adenosina trifosfato (ATP) e nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH), atuando como receptores de elétrons das plantas. A fotossíntese em plantas superiores é dependente principalmente da captação da energia solar por estes pigmentos (LOKHANDE; GAIKWAD, 2014).

O nome clorofila foi proposto por Pelletier e Caventou, em 1818, para designar a substância verde que se podia extrair das folhas com o auxílio do álcool (STREIT et al., 2005). As clorofilas localizam-se nos cloroplastos, onde ocorrem reações da fotossíntese, dependentes de luz, nas membranas dos tilacoides, e a etapa bioquímica, no estroma do cloroplasto. Além das clorofilas, os cloroplastos contêm outros pigmentos chamados acessórios, como os carotenoides (carotenos e xantofilas) (VON ELBE, 2000; RASQUINHO, 2012).

As clorofilas a e b e os carotenoides absorvem luz nas membranas dos tilacoides, sendo essenciais à eficiência fotossintética de plantas, ao crescimento e adaptabilidade a diversos ambientes (VOITSEKHOVSKAJA; TYUTEREVA, 2015; VIEIRA, 1996). A alta eficiência fotossintética pode levar ao incremento de produtividade agrícola, e essa relação está diretamente relacionada com aproveitamento da radiação disponível por esses pigmentos (BERNARDES, 1987). O conteúdo de clorofila nas folhas é frequentemente utilizado para estimar o potencial fotossintético das plantas em função da sua ligação direta com a absorção

e transferência de energia luminosa e uma planta com alta concentração de clorofila é capaz de atingir altas taxas fotossintéticas (NOGUEIRA et al., 2013).

As plantas utilizam-se da radiação fotossinteticamente ativa (RFA ou PAR) que está compreendida entre 390 e 760 nm (a chamada luz visível). Cada molécula de clorofila pode absorver apenas 1 quantum de energia de cada vez, o que causa excitação de um determinado elétron de um dos átomos da molécula (ROMANO, 2001).

A clorofila a é o pigmento utilizado no primeiro estágio do processo fotossintético (TAIZ; ZIEGER, 2004), desempenhando papel primordial no processo fotossintético (LOKHANDE; GAIKWAD, 2014), sendo essencial para a produção de oxigênio e bioconversão de energia pela fotossíntese (RAVEN et al., 1999).

A clorofila b, sintetizada através da oxidação do grupo metil da clorofila a para um grupo aldeído (TANAKA et al., 1998), não é essencial para a fotossíntese, mas contribui para o processo, absorvendo luz de comprimento de onda entre 425-475 nm e transferindo sua energia para a clorofila a, que absorve pouco nesses comprimentos (BEALE, 1999; TANAKA; TANAKA, 2007).

Os carotenoides são moléculas isoprenoides comumente encontrados em tecidos fotossintetizantes, situado nas lamelas dos cloroplastos, em íntima associação com as clorofilas (TAIZ; ZEIGER, 2013). Esses pigmentos durante a fotossíntese absorvem luz, atuando como pigmentos acessórios e fotorreceptores do aparato fotoquímico (KERBAUY, 2004). Absorvem na região dos 400 a 500 nm (GROSSMAN et al., 1995), auxiliando na absorção de luz e na transferência da energia radiante para os centros de reação (STREIT et al., 2005) e liberando o excesso de energia evitando dano ao organismo (TAIZ; ZEIGER, 2011).

As antocianinas são um grupo de pigmentos vegetais hidrossolúveis, amplamente distribuídos no reino vegetal (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004). O termo antocianina, derivado do grego de flor e azul (anthos = flores; kianos = azul), foi criado por Marquart em 1853 para referir pigmentos azuis das flores, que, entretanto, dão origem às cores vermelha, rosa ou roxa (BROUILLARD, 1982; MANACH et al., 2004). Absorvem na região visível do espectro (BROUILLARD, 1982).

As funções desempenhadas pelas antocianinas nas plantas são variadas: antioxidantes, proteção à ação da luz, mecanismo de defesa, entre outras funções biológicas. As cores vivas e intensas que elas produzem têm um papel importante em vários mecanismos reprodutores das plantas, tais como a polinização e a dispersão de sementes (LOPES et al., 2007). As antocianinas podem ser usadas como corantes alimentares naturais e, ainda, apresentam potencial na promoção da saúde humana, como propriedade antioxidante (VIZZOTTO et al., 2012). Em plantas superiores é encontrada acompanhada por menores quantidades de outras clorofilas (SOARES, 2006).

2.9 Compostos fenólicos

As plantas produzem substâncias que garantem sobrevivência nos diferentes nichos ecológicos terrestres (DAAYF; LATTANZIO, 2008). Dentre elas, os compostos fenólicos, produtos do metabolismo especializado que normalmente derivam de reações de defesa contra agressões do ambiente (BRAND-WILLIAMS; CUELIE, 1995) são oriundos, principalmente das rotas da fenilalanina e tirosina (BRAVO, 1998).

Os compostos fenólicos estão amplamente distribuídos no reino vegetal (SHAHIDI; NACZK, 1995), com ocorrência restrita ou ampla, sendo que a maioria dos compostos fenólicos simples possui distribuição restrita (SIMÕES et al., 2004). Cerca de 2% do carbono fotossintetizado pelas plantas é convertido em flavonoides e compostos relacionados que atuam como reguladores do sistema antioxidante nas plantas (DAAYF; LATTANZIO, 2008).

Os compostos fenólicos de fontes vegetais podem se divididos em dois grupos: os não flavonoides (fenóis simples ou ácidos, dentre eles, o resveratrol) e os flavonoides, incluindo, substâncias como catequinas e antocianinas (CROZIER et al., 2009; BONAGA et al., 1990; DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004).

Fenólicos totais nas plantas podem ser influenciados por diversos fatores tais como maturidade, espécies, tipo de cultivo, origem geográfica, nível de crescimento e condições de colheita e estocagem (HAIDA et al., 2015). São responsáveis por proteção contra riscos de muitos processos patológicos (POVH et al., 2012). Os fenólicos são conhecidos por estarem envolvidos no sistema de defesa de plantas, direta ou indiretamente, através da oxidação de fenóis e ativação de enzimas de

defesa de plantas para limpar as espécies reativas de oxigênio (EROs) (ASKARI; EHSANZADEH, 2015).

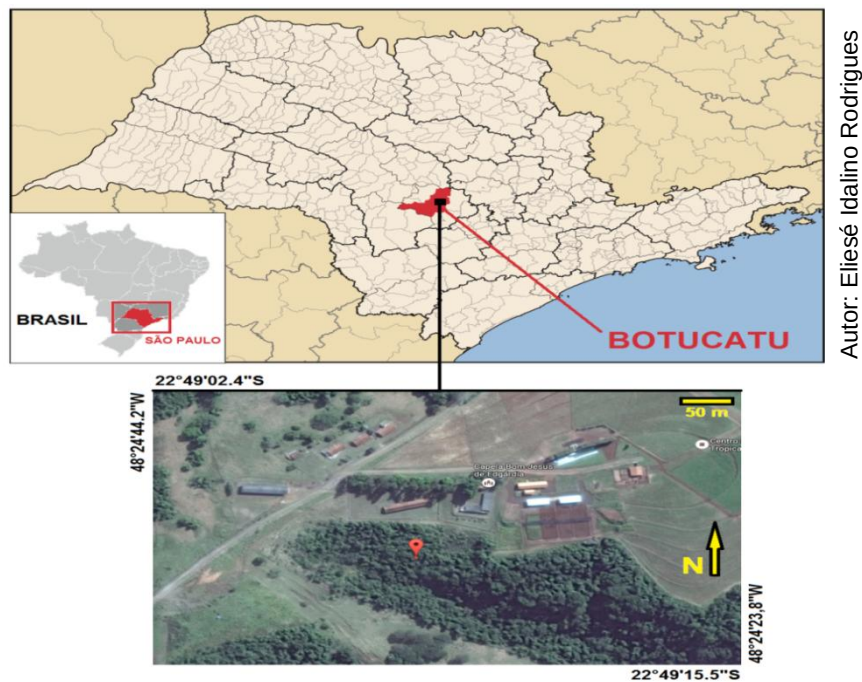
A aplicação de ácido salicílico pode aumentar a produção de EROs e síntese de diferentes compostos fenólicos (PEREZ et al., 2014; NOURAFKAN et al., 2014). Perez et al. (2014) afirmam que a síntese de vários compostos fenólicos em resposta pode ocorrer pela indução de um estado de estresse oxidativo nas plantas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local de estudo

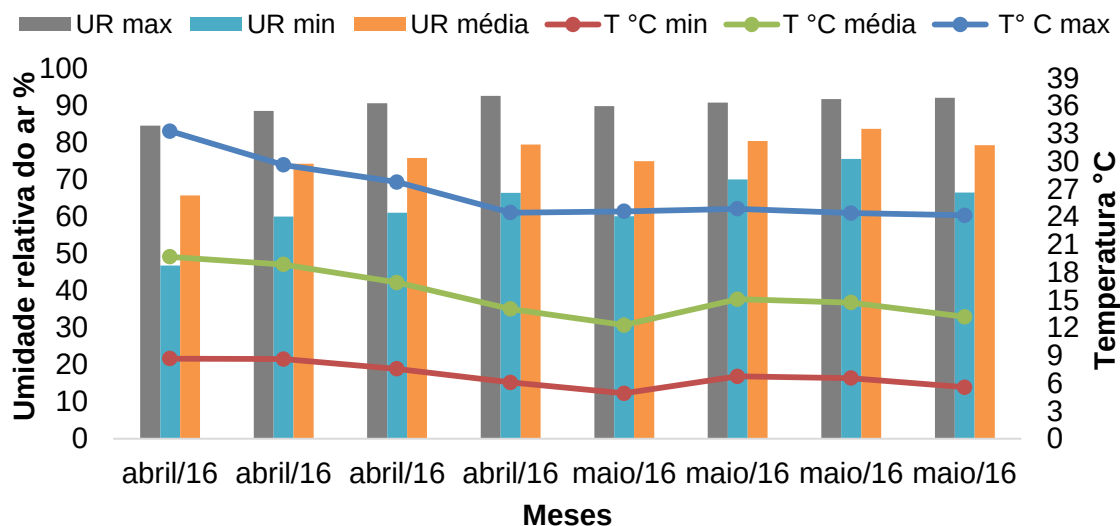
O experimento foi conduzido no Departamento de Botânica, do Instituto de Biociências, UNESP, Campus de Botucatu/SP, em casa de vegetação modelo “Paddy Fan”, com controle de umidade e temperatura, cujo localização pode ser observada na Figura 5.

Figura 5 - Localização geográfica da área de estudo, mostrando o local de instalação do experimento (símbolo vermelho). Botucatu, 2016



Os valores diários da temperatura e da umidade relativa do ar no período de condução do experimento foram obtidos por meio de datalogger instalado na casa de vegetação. As temperaturas médias máxima e mínima foram iguais a 26,64°C e 17,12°C e a umidade relativa máxima e mínima do ar iguais a 90,19% e 63,40% (Figura 6).

Figura 6 - Valores de Umidade relativa do ar máxima (UR max), umidade relativa do ar média (UR média), umidade relativa do ar mínima (UR min) e temperatura máxima (T°C max), temperatura média (T°C média), temperatura mínima (T°C min) no período de condução do experimento. Botucatu, 2016



3.2 Material vegetal e tratamentos

As estacas de *Mentha x piperita* L. foram obtidas de plantas matrizes cultivadas em vasos com substratos contendo mistura de solo + substrato Carolina®, na proporção de 1:1.

Ramos aéreo das plantas foram selecionados e a partir deles, estacas com 10 cm de comprimento e com os quatros primeiros pares de folhas mantidos foram confeccionadas e em seguida colocadas em bandejas de poliestireno expandido contendo substrato comercial Carolina®. Essas estacas foram mantidas em câmara de nebulização intermitente até o enraizamento.

Após o enraizamento as estacas foram transferidas para solução nutritiva com força iônica de 1/4 durante quatro dias e, a seguir, de 1/2, durante mais quatro dias para aclimatização das mudas em solução. Aclimatadas foram levadas para solução nutritiva com 3/4 da força iônica, onde permaneceram até o final do experimento.

As plantas foram cultivadas conforme Búfalo (2011) em casa de vegetação em condições controladas de umidade e temperatura, em vasos contendo solução nutritiva completa nº 2 de Hoagland e Arnon (1950). Durante esse período as soluções foram continuamente arejadas, utilizando-se um soprador rotatório e renovadas a cada duas semanas (DANTAS et al., 1979). Sempre que necessário, o volume da solução dos vasos foi completado com água deionizada, mantendo o volume de 6 litros. O controle diário do pH da solução nutritiva foi feito com a utilização de um medidor de pH e ajustado para 5,5 - 6,5, faixa ideal para o desenvolvimento da maioria das espécies, de acordo com as preconizações de Taiz e Zeiger (2013). A condutividade elétrica da solução foi controlada, com a utilização de um condutímetro e mantida entre 1,5 - 2,5 mS cm⁻¹, de acordo com as especificações de Carmello (1992).

A primeira aplicação do ácido salicílico (AS) foi realizada 30 dias após o enraizamento e transferência das estacas para a solução nutritiva com 3/4 da força iônica. As concentrações de AS (ácido orto-hidroxibenzóico) utilizadas foram iguais a 0; 75; 150 e 225 mg L⁻¹, preparadas a partir da pesagem do AS Dinâmica[®], PM 138,12 g, (fórmula química C₇H₆O₃) em balança analítica, diluído em 10 mL de etanol 90% e a seguir dissolvido em um litro de água destilada.

As pulverizações das quatro soluções foram realizadas via foliar com uso de pulverizador manual de CO₂ pressurizado, utilizando como agente espalhante adesivo o produto comercial Haiten[®] na proporção de 2 mL da solução por litro de solução de AS.

3.3 Delineamento experimental

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, com quatro repetições em arranjo fatorial 4x4, sem AS e três concentrações desse composto, constituindo diferentes tratamentos com concentrações iguais a 0 (controle), 75, 150 e 225 mg L⁻¹. As colheitas de material vegetal foram realizadas aos 45, 60, 75 e 90 dias após transplante (DAT), totalizando 16 parcelas experimentais. Cada parcela experimental foi constituída de um vaso contendo uma planta.

3.4 Tratos fitossanitários

O controle de pulgões foi realizado com produtos naturais aplicados por meio de pulverização. Três aplicações de calda de fumo de corda, macerado de pimenta vermelha e alho, no óleo mineral foram realizadas.

3.5 Avaliação de índices fisiológicos e bioquímicos

3.5.1 Análise de crescimento

As plantas foram separadas em lâminas foliares, caules e raízes. As lâminas foliares foram imediatamente submetidas à determinação da área foliar em dm^2 , com auxílio do integralizador de área foliar LI 3100 da LI-COR. A seguir, todo o material foi acondicionado em sacos de papel, etiquetado e colocado para secar em estufa de circulação forçada de ar, a 40°C , até obtenção de matéria seca constante. Após a secagem, o material foi pesado em balança analítica Ohaus tipo Analytical Standard com sensibilidade de até 0,1 mg para determinação da massa seca e, após a pesagem.

A área foliar (AF) foi definida como a somatória da área de todas as lâminas foliares da planta, em decímetros quadrados.

A massa seca das lâminas foliares (MSF) foi definida como o peso de todas as folhas da planta, expresso em gramas.

A massa seca total (MST) correspondeu à soma das massas secas de folhas, caules e raízes, em cada época de colheita, expressa em gramas.

A razão de área foliar (RAF) que expressa a área foliar útil para fotossíntese (BENINCASA, 2003) foi obtida a partir de valores instantâneos de AF, responsável pela interceptação de energia luminosa, e MST, resultado da fotossíntese, segundo a equação:

$$RAF (\text{dm}^2 \text{ g}^{-1}) = AF / MST$$

A área foliar específica (AFE) reflete o inverso da espessura da folha (BENINCASA, 2003) e foi obtida pela razão entre a AF e a MSF:

$$AFE (dm^2 g^{-1}) = AF / MSF$$

A taxa assimilatória líquida (TAL) expressa a taxa de fotossíntese líquida, em termos de massa seca produzida, em gramas, por decímetro quadrado de AF, por unidade de tempo (BENINCASA, 2003), foi obtida pela seguinte equação:

$$TAL (g/dm^2 \cdot dia) = \frac{(b + 2ct) \cdot a \cdot e^{(bt+ct^2)}}{a_1 \cdot e^{(b_1+c_1t^2)}}$$

A taxa de crescimento relativo (TCR) de uma planta ou de qualquer órgão da planta é função de tamanho inicial, isto é, o aumento em gramas, no caso de massa seca, está relacionado ao peso de massa seca no instante em que se inicia o período de observação (BENINCASA, 2003).

Essa taxa foi calculada pela equação: a, b e c são constantes e t é o tempo.

$$TCR (g/g \cdot dia) = d \ln \frac{a \cdot e^{(bt+ct^2)}}{dt}$$

3.6 Trocas gasosas

As avaliações de trocas gasosas foram determinadas conforme metodologia utilizada por Búfalo (2011) e Amaro (2011) foram realizadas utilizando-se equipamento com sistema aberto portátil de fotossíntese com analisador de CO₂ e vapor d'água por radiação infravermelha (*"Infra Red Gas Analyser – IRGA"*, modelo GFS-3000 - Walz). Tais medidas foram estimadas a partir da diferença entre a concentração de CO₂ e vapor d'água do ar da referência (valor presente na câmara sem a folha) e da amostra (valor com a folha presente na câmara), obtendo-se as concentrações de vapor d'água e CO₂ que foram liberados (transpiração - vapor d'água) e assimilados (assimilação de CO₂) pelos estômatos das folhas.

As avaliações de trocas gasosas foram realizadas entre 09:00 e 11:00 horas da manhã, selecionando-se uma planta por repetição, de cada tratamento, nas quais

foram escolhidas e padronizadas as 2ª ou 3ª folhas, com o limbo completamente expandido e fotossinteticamente ativas. As características de trocas gasosas avaliadas foram: taxa de assimilação de CO₂ (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$), taxa de transpiração (E , $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$), condutância estomática (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$) e concentração interna de CO₂ na folha (C_i , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$), adotando-se 1700 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa (PAR) de luminosidade. Essas variáveis foram calculadas pelo programa de análise de dados do equipamento medidor de fotossíntese, que utiliza a equação geral de trocas gasosas de Caemmerer e Farquhar (1981).

A eficiência de uso da água (EUA , $\mu\text{mol CO}_2 (\text{mmol H}_2\text{O})^{-1}$) foi determinada pela relação entre assimilação de CO₂ e taxa de transpiração (A/E) e calculada de acordo com Berry e Downton (1983). Já a eficiência instantânea de carboxilação da enzima ribulose 1,5 - difosfato carboxilase (Rubisco) foi calculada pela relação da taxa de assimilação de CO₂ e concentração interna de CO₂ na folha (A/C_i), de acordo com Zhang et al. (2001).

3.7 Concentração de clorofila a, b, carotenoides e antocianinas

As clorofilas (a e b), carotenoides e antocianinas foram determinados segundo metodologia descrita por Sims e Gamon (2002). Num almofariz foram colocadas folhas frescas congeladas (0,020 a 0,050 g), que foram maceradas em nitrogênio líquido. O macerado foi homogeneizado em 3 mL de solução de acetona/tampão Tris-HCl (80:20, v/v, pH 7,8, 0,2 M) e transferido para tubos falcon com capacidade de 15 mL e mantida em freezer a -20°C por 1 hora. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 10000 x g durante 5 minutos a 4° C. Para as leituras de absorbância no espectrofotômetro, foram utilizados 1000 μL do sobrenadante + 1000 μL de solução de acetona/tampão Tris-HCl utilizando-se os comprimentos de onda (λ) iguais a 663, 647, 537 e 470 nm. As concentrações de clorofilas a e b, carotenoides e antocianinas foram calculadas segundo as equações abaixo e expressas em μg de pigmento por g de matéria fresca:

- ✓ Clorofila a = 0,01373. (A663) - 0,000897. (A537) - 0,003046. (A 647);
- ✓ Clorofila b = 0,02405. (A647) - 0,004305. (A537) - 0,005507. (A663);
- ✓ Carotenoides = (A470 - (17,7. (Cla-Clb) - 9,479 x (antocianina)) /119,26;
- ✓ Antocianinas = 0,08173. (A537) - 0,00697. (A647) - 0,002228. (A663).

3.8 Teor de fenóis totais

Os teores de fenóis totais presentes nas amostras de folhas da espécie estudada foram determinados seguindo a metodologia de Blainski et al. (2013) modificada. Para tanto, pesou 0,15 g da amostra. Em seguida foi transferida para um tudo de ensaio de 250 mL e adicionado 20 mL de água destilada. O material foi aquecido em banho-maria durante 30 minutos à temperatura de 80°C. Após resfriado, a mistura foi transferida para um balão volumétrico de 50 mL e o tubo de ensaio lavado com água destilada e transferido para o balão volumétrico, e o volume completado. Após a decantação do material, o mesmo foi filtrado em papel de filtro, desprezando os primeiros 10 mL do filtrado.

Para a reação utilizou-se 0,4 mL do extrato, 0,2 mL de reagente fosfomolibdotúngstico (Folin-Ciocalteu), 2 mL de água destilada e 2,4 mL de solução de carbonato de sódio a 29% (p/v).

As leituras de absorvância das amostras foram determinadas utilizando água destilada como branco e Pirogalol como solução padrão. A absorbância foi lida em 760 nm após 30 minutos de reação.

Os teores de fenóis totais foram calculados segundo a equação abaixo e expressos em porcentagens (BRASIL, 2010).

$$\text{Fenóis Totais (\%)} = \frac{62,5 \times A1 \times m2}{A2 \times m1}$$

Onde:

A1 - absorvância amostra menos o branco;

A2 - absorvância solução padrão menos o branco;

m1 - massa da amostra;

m2 - massa do padrão.

3.9 Extração e caracterização química das substâncias voláteis

As folhas das plantas de *M. x piperita* foram acondicionada em sacos de papel devidamente identificados e colocada para secar em estufa de aeração forçada a temperatura de 40°C até obtenção da matéria seca constante. Em seguida o material vegetal seco foi submetido à determinação de seu perfil químico no Laboratório de Produtos Naturais, do Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Recursos Genéticos Vegetais do Instituto Agronômico de Campinas, Campinas - SP.

A captura das substâncias voláteis foi realizada conforme Campos (2014) por meio de microextração em fase sólida em modo headspace (HS-SPME), utilizando-se *Fiber Assembly 75 um CarboxenTM - PDMS for Manual Holder-SUPELCO*. Para tanto, 25 mg de massa seca de folhas foram acondicionadas em frasco de vidro de 10 mL. A seguir, 5 mL de água destilada foram adicionados e o frasco foi vedado, utilizando-se septo e tampa de rosca. A solução foi aquecida em banho-maria durante 25 minutos em temperatura igual a 90°C. Após esse período o frasco foi removido do banho-maria e a fibra foi introduzida para a captura dos voláteis durante 3 minutos.

O tempo de captura das substâncias voláteis foi otimizado com pré-testes. A seguir a fibra foi introduzida no injetor do cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massas (CG - EM, Shimadzu modelo QP - 5000) para a dessorção dos compostos voláteis e análise da composição química.

As substâncias foram separadas em coluna capilar de Sílica fundida DB - 5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) e empregadas as vazão seguintes condições: hélio como gás de arraste (vazão: 1,0 mL min⁻¹), modo de injeção Split (1/20), injetor a 240°C, detector a 230°C, e temperatura programada (60°C - 240°C, 3°C/min). Para a identificação das substâncias, os espectros de massas das substâncias foram comparados com o banco de dados do sistema CG-EM (Nist. 62 Libr.), índice de retenção (IR), comparando os mesmos com a literatura (ADAMS, 2007).

3.10 Análise estatística

Pigmentos fotossintéticos, fenóis totais e substâncias voláteis extraídos de folhas de menta foram avaliados em esquema fatorial 4x4, ou seja, quatro concentrações de AS e quatro épocas do ciclo de desenvolvimento. Trocas gasosas e índices fisiológicos de crescimento foram avaliados em esquema fatorial 4x3.

Os índices fisiológicos de crescimento foram submetidos à análise de regressão por meio do programa computacional ANACRES, de acordo com as especificações de Portes e Castro Junior (1991).

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância, sendo suas médias comparadas pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

As substâncias voláteis foram submetidas à análise multivariada utilizando-se Análise de Componentes Principais (PCA) e análise de Cluster Aglomerativa Hierárquica (CAH), construído por meio de matriz de similaridade, calculada pelo coeficiente de correlação de Pearson e utilizando-se o método de aglomeração UPGMA (*Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Averages*). Empregou-se o software XLSTAT - versão 2012 (Addinsoft, França).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Variáveis fisiológicas

Índices fisiológicos indicativos de crescimento foram determinados segundo David e Boaro (2009). Altura de plantas e número de folhas foram avaliados a cada quinze dias. Nessa ocasião a planta submetida às diferentes concentrações de AS foi separada em raiz, caule, pecíolos e lâminas foliares. Todas as partes, inclusive as lâminas foliares, após a determinação da área foliar, foram acondicionados em sacos de papel etiquetados e colocados para secar em estufa com circulação forçada de ar, a uma temperatura de 40°C, até obtenção de massa constante. Após a secagem completa o material foi pesado em balança analítica Ohaus tipo Analytical Standard com sensibilidade de até 0,1 mg, para determinação da sua massa seca.

A inexistência de trabalhos envolvendo plantas medicinais e aplicação de ácido salicílico (AS) levou muitas vezes a necessidade de comparação dos resultados do presente estudo, com espécies não medicinais e não herbáceas mesmo aquelas cultivadas sem aplicação de elicitores vegetais. Quando essas comparações foram realizadas objetivaram avaliar a fisiologia da planta.

Altura de plantas (cm)

A comparação de médias, que pode ser observada na tabela 1, mostra que houve interação entre concentração de AS e colheita. Verifica-se, aos 45 e 75 dias após transplante (DAT) das mudas para a solução de cultivo, que a aplicação de AS não influenciou a altura de plantas de menta. Aos 60 DAT as plantas cultivadas com a maior concentração de AS (225 mg L⁻¹) apresentaram menor altura. Kerbauy (2008) relata que o AS quando aplicado exogenamente, pode inibir o crescimento da planta. Além disso, quando AS é aplicado exogenamente, sendo antagônico às auxinas reduz a sua concentração e conseqüentemente o alongamento celular

(RODRIGUES-BRANDAO et al., 2016). O AS pode agir de modo isolado, associado ou controlar os efeitos de outros hormônios (SOARES; MACHADO, 2007).

Embora esse resultado discorde dos observados por Storck et al. (2013), que verificaram em plantas da família Lamiaceae, patchouli (*Pogostemon cablin* Benth.) cultivadas com aplicação de 200 mg L⁻¹ de ácido giberélico (GA₃), aos 75 DAT, aumento na altura das plantas. Brandão (2012) observou em plantas da família Amaranthaceae, apaga-fogo (*Alternanthera tenella* Colla.) cultivadas com 400 µM de AS diminuição de 81% da altura das plantas. Os resultados de Costa et al. (2015) com plantas de Leguminosae, feijoeiros (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivados com diferentes concentrações de AS (0,1; 0,5; 1,0; 2,0 mM) revelaram resposta linear inversa entre concentração e altura, aos 32 dias após emergência.

Vanacker et al. (2001) e Naghavi (2016) reforçam que os efeitos do AS dependem das concentrações utilizadas e podem influenciar a produção de pigmentos, ligados à eficiência fotossintética e ao crescimento vegetal.

Tabela 1 - Análise de variância e comparação entre médias de altura, em cm, em plantas de *Mentha x piperita* L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016

Análise de variância (teste F)				
Ácido salicílico (AS)	Colheita	AS x Colheita		
0,70 ^{ns}	9,92 ^{**}	2,90 [*]		
^{ns} = não significativo ^{**} = significativo ao nível de 1% de probabilidade [*] = significativo ao nível de 5% de probabilidade				
Comparação entre médias (teste Tukey)				
Ácido salicílico (mg L ⁻¹)	Colheita (dias após transplante)			Médias
	1 ^a (45)	2 ^a (60)	3 ^a (75)	
0	45,33 aB	67,00 aA	62,50 aA	58,27
75	52,00 aB	61,25 abAB	69,16 aA	60,80
150	53,75 aA	66,00 aA	56,00 aA	58,58
225	53,25 aAB	49,66 bB	65,00 aA	55,97
Médias	51,10	60,97	63,16	
CV (%)	14,00			
Dms tratamento dentro colheita = 15,56		Dms colheita dentro tratamento = 14,11		

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade. As letras minúsculas nas colunas comparam médias de diferentes concentrações de ácido salicílico e as maiúsculas nas linhas comparam médias das épocas de colheitas.

Número de folhas

A comparação de médias, que pode ser observada na tabela 2, revela que não houve interação entre concentração de AS e colheita. A aplicação de AS não influenciou o número de folhas, o que condiz com os resultados encontrados para massa seca de lâminas foliares.

Este resultado concorda com os observados por Sadeghian et al. (2013) com plantas de Laminaceae, *Satureja khuzistanica* Jamzad. com aplicação de 50, 100, 200 e 400 mg L⁻¹ de AS e aos de Gorni (2015) verificaram em plantas da família Asteraceae, mil folhas (*Achillea millefolium* L.) que aplicação de 0,25 e 1,00 mM de AS não diferiu das plantas controle. Neste mesmo estudo, observaram redução de área foliar com 0,50 mM de AS.

Embora os resultados acima não tenham revelado efeito do AS, este elicitador biológico é sintetizado a partir do aminoácido fenilalanina e encontrado em folhas, atuando como hormônio no crescimento, desenvolvimento e formação de folhas (KELBAURY, 2008; PACHECO et al., 2007).

Tabela 2 - Análise de variância e comparação entre médias de número de folhas, em plantas de *Mentha x piperita* L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016

Análise de variância (teste F)				
Ácido salicílico (AS)	Colheita		AS x Colheita	
0,99 ^{ns}	2,20 ^{ns}		2,13 ^{ns}	
^{ns} = não significativo				
Comparação entre médias (teste Tukey)				
Ácido salicílico (mg L ⁻¹)	Colheita (dias após transplante)			Médias
	1 ^a (45)	2 ^a (60)	3 ^a (75)	
0	157,00	173,75	219,00	183,25 A
75	147,75	193,75	147,25	162,91 A
150	188,50	209,75	170,00	189,41 A
225	160,25	165,50	243,00	189,58 A
Médias	163,37 A	185,68 A	194,81 A	
CV (%)	24,36			
Dms tratamento dentro colheita = 50,02		Dms colheita dentro tratamento = 39,30		

Área foliar (dm²)

A comparação de médias, que pode ser observada na tabela 3, revela que não houve interação entre concentração de AS e colheita. Apesar da aplicação de AS ter elevado as taxas de assimilação e carboxilação (Tabela 12 e 15), não interferiu com a área foliar das plantas de menta (Tabela 3), resultado que concorda em parte com os observados por Farooq et al. (2010), quando aplicação de AS elevou a assimilação de carbono e síntese de metabólitos, com aumento de área foliar. No entanto, estes resultados discordam dos observados por Sadeghian et al. (2013) que verificaram em plantas de *S. khuzestanica* com aplicação de 100 mg L⁻¹ de AS aumento de área foliar e dos de Hayat e Ahmad (2007), que estudando plantas de Gesneriaceae, gloxínia (*Gloxinia* sp.) e violeta (*Saintpaulia* sp.) verificaram que aplicação de AS aumentou o número de folhas e da área foliar.

Charlo (2008) relata que a área foliar varia de acordo com as características específicas de crescimento de cada espécie e cultivar. Além disso, Aftab et al. (2011) relatam que doses elevadas de AS podem provocar redução de área foliar, e em alguns casos, promover o aparecimento de folhas anormais.

Tabela 3 - Análise de variância e comparação entre médias de área foliar, em dm², em plantas de *Mentha x piperita* L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016

Análise de variância (teste F)				
Ácido salicílico (AS)	Colheita		AS x Colheita	
0,39 ^{ns}	2,70 ^{ns}		1,16 ^{ns}	
^{ns} = não significativo				
Comparação entre médias (teste Tukey)				
Ácido salicílico (mg L ⁻¹)	Colheita (dias após transplante)			Médias
	1 ^a (45)	2 ^a (60)	3 ^a (75)	
0	28,63	32,92	28,11	29,88 A
75	28,01	40,23	24,85	31,03 A
150	34,97	45,62	21,99	34,19 A
225	25,91	26,64	32,14	28,23 A
Médias	29,38 A	36,35 A	26,77 A	
CV (%)	39,10			
Dms tratamento dentro colheita = 13,24 Dms colheita dentro tratamento = 10,40				

Massa seca de caule (g)

A comparação de médias, que pode ser observada na tabela 4, mostra que houve interação entre concentração de AS e colheita. As plantas pulverizadas com a maior concentração de AS não diferiram das plantas não pulverizadas. Aos 45, 60 e 75 DAT as diferentes concentrações não influenciaram a massa seca de caule, embora se atribua ao AS papel chave na regulação do crescimento, na produtividade vegetal (HAYAT et al., 2010; HESAMI et al., 2012) e na formação de caule (CARVALHO JÚNIOR, 2013).

A eliciação é um processo complexo e a resposta depende de vários fatores, como concentração do elicitor, tempo de contato e fase de crescimento do órgão vegetal (NAGHAVI, 2016; BHAGWATH; HJORTS, 2000). Rivas San Vicente e Plasencia (2011), afirmam que conforme a concentração utilizada, o efeito promovido pelo AS de atuar como promotor ou inibidor de crescimento é modificado.

Tabela 4 - Análise de variância e comparação entre médias de massa seca de caule e pecíolos, em g, em plantas de *Mentha x piperita* L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016

Análise de variância (teste F)				
Ácido salicílico (AS)	Colheita			AS x Colheita
0,21 ^{ns}	26,01 ^{**}			5,63 ^{**}
^{ns} = não significativo				
^{**} = significativo ao nível de 1% de probabilidade				
Comparação entre médias (teste Tukey)				
Ácido salicílico (mg L ⁻¹)	Colheita (dias após transplante)			Médias
	1 ^a (45)	2 ^a (60)	3 ^a (75)	
0	1,72 aB	3,13 abA	4,16 abA	3,00
75	2,50 aA	3,62 abA	3,24 bA	3,12
150	2,03 aB	4,36 aA	2,86 bB	3,08
225	2,00 aB	2,73 bB	4,98 aA	3,23
Médias	2,06	3,46	3,81	
CV (%)	23,28			
Dms tratamento dentro colheita = 0,79		Dms colheita dentro tratamento = 0,62		

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si ao nível de 1% de probabilidade. As letras minúsculas nas colunas comparam médias de diferentes concentrações de ácido salicílico e as maiúsculas nas linhas comparam médias das épocas de colheitas.

Massa seca de raiz (g)

A comparação de médias, que pode ser observada na tabela 5, revela que houve interação entre concentração de AS e colheita. No entanto, a aplicação de AS nas plantas não revelou diferença de massa seca de raiz, com as plantas não pulverizadas. Apesar do AS, atuar como um importante regulador do crescimento e desenvolvimento das plantas (HEGAZI; EL-SHRAYI, 2007), além de proporcionar estímulo no desenvolvimento de raiz (SINGH; USHA, 2003).

Esse resultado pode ter refletido nos demais parâmetros de crescimento, uma vez que, de acordo com Gorni (2015) plantas com maior volume de raízes podem ser beneficiado pelo aumento de absorção de água e nutrientes, o que em última análise influencia os demais processos fisiológicos do vegetal, incluindo massa seca de raiz.

Este resultado discorda dos observados por Gorni e Pacheco (2016) que verificaram incremento de 83,11% na massa seca de raízes em plantas de mil folhas (*A. millefolium*) pulverizadas com 0,50 mM de AS, que contribuiu com aumento de 61,93% de massa seca total das plantas e dos de Brandão (2012) que observou redução de 53% de massa seca de raiz de apaga-fogo (*A. tenella*) com aplicação de 100 μ M de AS, chegando a 91% de redução quando as plantas foram pulverizadas com 400 μ M de AS. Agostini et al. (2013) em plantas de feijoeiros (*P. vulgaris*), o AS proporcionou resultados satisfatórios em massa seca total de raiz das plântulas.

Tabela 5 - Análise de variância e comparação entre médias de massa seca de raiz, em g, em plantas de *Mentha x piperita* L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016

Análise de variância (teste F)				
Ácido salicílico (AS)	Colheita			AS x Colheita
0,39 ^{ns}	1,13 ^{ns}			3,71 ^{**}
^{ns} = não significativo				
^{**} = significativo ao nível de 1% de probabilidade				
Comparação entre médias (teste Tukey)				
Ácido salicílico (mg L ⁻¹)	Colheita (dias após transplante)			Médias
	1 ^a (45)	2 ^a (60)	3 ^a (75)	
0	0,50 aA	0,41 aA	0,56 aA	0,49
75	0,57 aA	0,49 aAB	0,33 aB	0,46
150	0,56 aA	0,64 aA	0,33 aB	0,51
225	0,42 aA	0,42 aA	0,56 aA	0,46
Médias	0,51	0,49	0,45	
CV (%)	26,43			
Dms tratamento dentro colheita = 0,14		Dms colheita dentro tratamento = 0,11		

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si ao nível de 1% de probabilidade. As letras minúsculas nas colunas comparam médias de diferentes concentrações de ácido salicílico e as maiúsculas nas linhas comparam médias das épocas de colheitas.

Massa seca de lâminas foliares (g)

A comparação de médias, que pode ser observada na tabela 6, revela que não houve interação entre concentração de AS e colheita. A aplicação de AS nas plantas não interferiu na produção de massa seca de lâminas foliares. Além disso, é importante ressaltar que aos 60 DAT apesar da maior concentração ter reduzido altura das plantas (Tabela 1), isso não refletiu em diminuição de massa seca de lâminas foliares (Tabela 6).

Este resultado concorda com os observados por Gorni e Pacheco (2016) que verificaram que a aplicação de 0,25, 0,50 e 1,00 mM de AS em plantas de mil folhas (*A. millefolium*) não interferiu com a produção de massa seca da parte aérea. Hegazi e El-Shrayi (2007) verificaram que baixa concentração de AS (0,01 mM) elevou os valores de massa seca de parte aérea de plantas de feijoeiros (*P. vulgaris*). Maia et

al. (2000) referem, no entanto, que o AS pode diminuir a massa seca da parte aérea e de raiz.

A falta de resposta acima observada pode ser devido ao fato de muitos fatores interferirem no efeito do AS, como, estágio de desenvolvimento e nível endógeno de AS nas plantas, além do modo de aplicação (HORVATH et al., 2007).

Tabela 6 - Análise de variância e comparação entre médias de massa seca de lâminas foliares, em g, em plantas de *Mentha x piperita* L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016

Análise de variância (teste F)		
Ácido salicílico (AS)	Colheita	AS x Colheita
0,39 ^{ns}	1,12 ^{ns}	3,71 ^{**}

^{ns} = não significativo

^{**} = significativo ao nível de 1% de probabilidade

Comparação entre médias (teste Tukey)				
Ácido salicílico (mg L ⁻¹)	Colheita (dias após transplante)			Médias
	1 ^a (45)	2 ^a (60)	3 ^a (75)	
0	0,82	1,16	1,14	1,04 A
75	0,88	1,40	0,83	1,04 A
150	0,89	1,45	0,88	1,07 A
225	0,74	1,00	1,48	1,07 A
Médias	0,83 B	1,25 A	1,08 AB	
CV (%)	34,50			
Dms tratamento dentro colheita = 0,40		Dms colheita dentro tratamento = 0,31		

Massa seca total (g)

A comparação de médias, que pode ser observada na tabela 7, revela que houve interação entre concentração de AS e colheita. Embora as plantas pulverizadas com as diferentes concentrações de AS, não tenham apresentado diferença de massa seca total, deve ser ressaltado comportamento das plantas pulverizadas com 225 mg L⁻¹ de AS de apresentar aumento de massa seca total.

Apesar de não verificar incremento de massa seca total. No entanto, esse resultado não condiz com os de trocas gasosas. Neste caso, pode-se inferir que o CO₂ assimilado e os fotoassimilados produzidos estão sendo utilizados pela atividade da enzima rubisco para manutenção dos processos fisiológicos das plantas.

Este resultado difere dos observados por Pacheco et al. (2013) que verificaram em plantas de Asteraceae, calêndula (*Calêndula officinalis* L.) pulverizadas com 0,25, 0,50 e 1,00 mM de AS aumento no acúmulo de biomassa total, no entanto, não observaram mudanças nas taxas fotossintéticas. Antoniazzi e Deschamps (2006) constataram em plantas de Poaceae, cevada (*Hordeum vulgare* L.) que os diferentes tratamentos com elicitores e fungicidas não alteraram o acúmulo de massa seca total.

Tabela 7 - Análise de variância e comparação entre médias de massa seca total, em g, em plantas de *Mentha x piperita* L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016

Análise de variância (teste F)		
Ácido salicílico (AS)	Colheita	AS x Colheita
0,107 ^{ns}	16,381 ^{**}	5,266 ^{**}

^{ns} = não significativo

^{**} = significativo ao nível de 1% de probabilidade

Comparação entre médias (teste Tukey)				
Ácido salicílico (mg L ⁻¹)	Colheita (dias após transplante)			Médias
	1 ^a (45)	2 ^a (60)	3 ^a (75)	
0	3,05 aB	4,71 abAB	5,86 abA	4,54
75	3,96 aA	5,52 abA	4,41 bA	4,63
150	3,49 aB	6,46 aA	4,08 bB	4,68
225	3,16 aB	4,16 bB	7,03 aA	4,78
Médias	3,41	5,21	5,35	
CV (%)	22,87			
Dms tratamento dentro colheita = 2,02		Dms colheita dentro tratamento = 1,84		

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si ao nível de 1% de probabilidade. As letras minúsculas nas colunas comparam médias de diferentes concentrações de ácido salicílico e as maiúsculas nas linhas comparam médias das épocas de colheitas.

Razão de área foliar (RAF)

A razão de área foliar (RAF) é a medida que expressa a área foliar útil para a fotossíntese. Representa a razão entre a área foliar e a massa seca total (MAGALHÃES, 1979).

De forma geral, a RAF decresceu durante o desenvolvimento das plantas em todas as concentrações, de modo mais expressivo naquelas plantas sem aplicação e com 150 e 225 mg L⁻¹ de AS (Tabela 8 e Figura 7). As plantas pulverizadas com 75 mg L⁻¹ apresentaram decréscimo mais lento. Deve-se ser registrado o decréscimo mais lento da RAF é indicativo de crescimento mais lento. As plantas pulverizadas e não pulverizadas revelaram valores mais elevados de RAF no início do ciclo, época em que ocorre investimento em produção de folhas. As plantas cultivadas com 150 mg L⁻¹ aos 45 DAT apresentaram RAF elevado (Figura 7), ou seja, área foliar útil para a fotossíntese elevada. Isto talvez justifique a elevação da eficiência na assimilação e no uso de CO₂ (12 e 15), que, no entanto, não resultou em incremento de área foliar e massa seca total (Tabela 3 e 7).

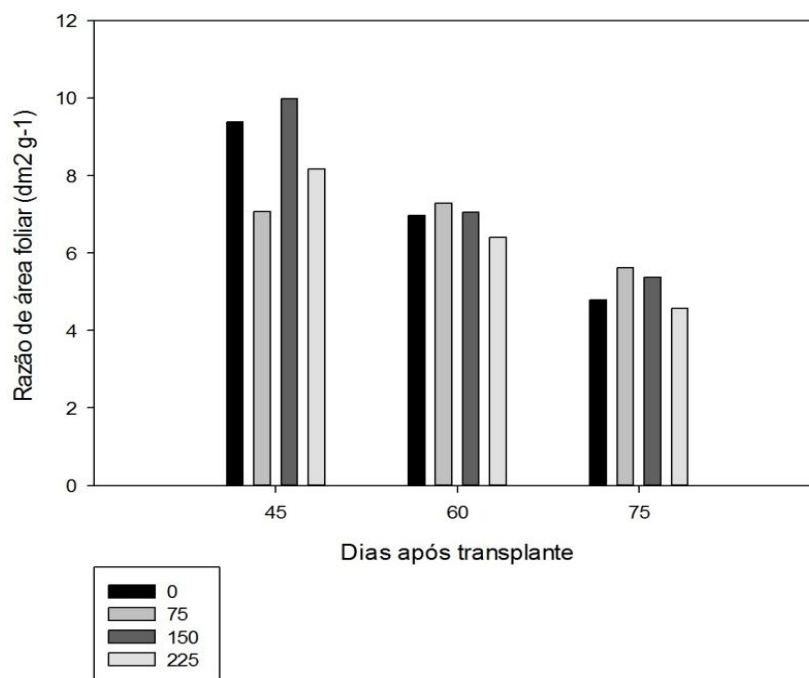
Esses resultados concordam em parte com os observados por Búfalo (2011), que testando efeitos alelopáticos do extrato de Lamiaceae, erva de Macaé (*Leonurus sibiricus* L.) em *M. x piperita* verificou diminuição da razão de área foliar, devido ao auto sombreamento de folhas. Povh et al. (2008) observaram elevação da razão de área foliar no início do ciclo vegetativo de Lamiaceae, sálvia (*Salvia officinalis* L.) época em que as plantas investem em área foliar para a captação de luz e CO₂, decrescendo com desenvolvimento da planta. Stefanini et al. (1998) estudaram efeito de reguladores vegetais no desenvolvimento de Verbenaceae, erva-cidreira (*Lippia alba* (Mill) N. E. Brown.) e observaram máxima razão de área foliar, na primeira colheita, inclusive nas plantas testemunhas, decrescendo nos períodos seguintes.

Antoniazzi (2005) relata que o declínio da razão de área foliar ocorre principalmente devido à senescência das folhas inferiores e menor área foliar para produzir matéria seca.

Tabela 8 - Razão de área foliar (dm² g⁻¹) de plantas de *Mentha x piperita* L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016

Ácido salicílico (mg L ⁻¹)	Épocas (dias após transplante)			Médias
	1 ^a (45)	2 ^a (60)	3 ^a (75)	
0	9,390	6,971	4,788	7,049
75	7,073	7,289	5,622	6,660
150	9,994	7,052	5,376	7,474
225	8,173	6,406	4,573	6,384
Médias	8,657	6,929	5,089	

Figura 7 - Razão de área foliar de plantas de *Mentha x piperita* L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016



Área foliar específica (AFE)

A área foliar específica (AFE) é a relação entre área foliar e a massa seca de lâminas foliares (DE FAZIO, 2007) e reflete o inverso da espessura foliar.

De maneira geral, as plantas submetidas aplicação de AS apresentaram pequena variação de AFE ao longo do desenvolvimento (Tabela 9), comportamento que coincide com a área foliar e matéria seca de lâminas foliares, que não variaram entre as plantas pulverizadas e não pulverizadas (Tabela 3 e 6). Deve ser registrado que as plantas com aplicação de 150 mg L⁻¹ apresentaram AFE discretamente mais elevada (Figura 9), o que coincide com a RAF (Figura 7) e que, no entanto, não se traduziu em maior desenvolvimento.

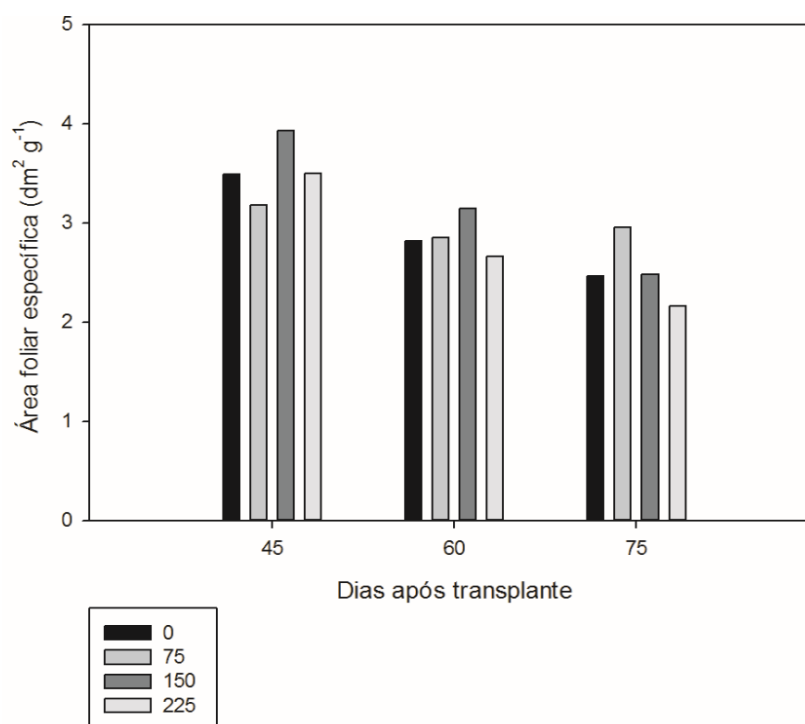
Farias (2012) verificou que aplicação de 5,75 mM de AS em plantas de Malvaceae, algodoeiro cultivar BRS 8H diminuiu a AFE, entretanto, aplicação 15 mM de AS promoveu incremento de AFE.

Durante a fase inicial as plantas aumentam a área foliar e a massa seca das folhas, que decrescem ao longo do desenvolvimento da planta (RODRIGUES, 1990; POVH, 2004), refletindo a AFE.

Tabela 9 - Área foliar específica ($\text{dm}^2 \text{g}^{-1}$) de plantas de *Mentha x piperita* L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016

Ácido salicílico (mg L^{-1})	Épocas (dias após transplante)			Médias
	1 ^a (45)	2 ^a (60)	3 ^a (75)	
0	3,492	2,813	2,465	2,923
75	3,182	2,853	2,958	2,997
150	3,930	3,146	2,478	3,184
225	3,501	2,665	2,157	2,774
Médias	3,526	2,869	2,514	

Figura 8 - Área foliar específica ($\text{dm}^2 \text{g}^{-1}$) de plantas de *Mentha x piperita* L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016



Taxa assimilatória líquida (TAL)

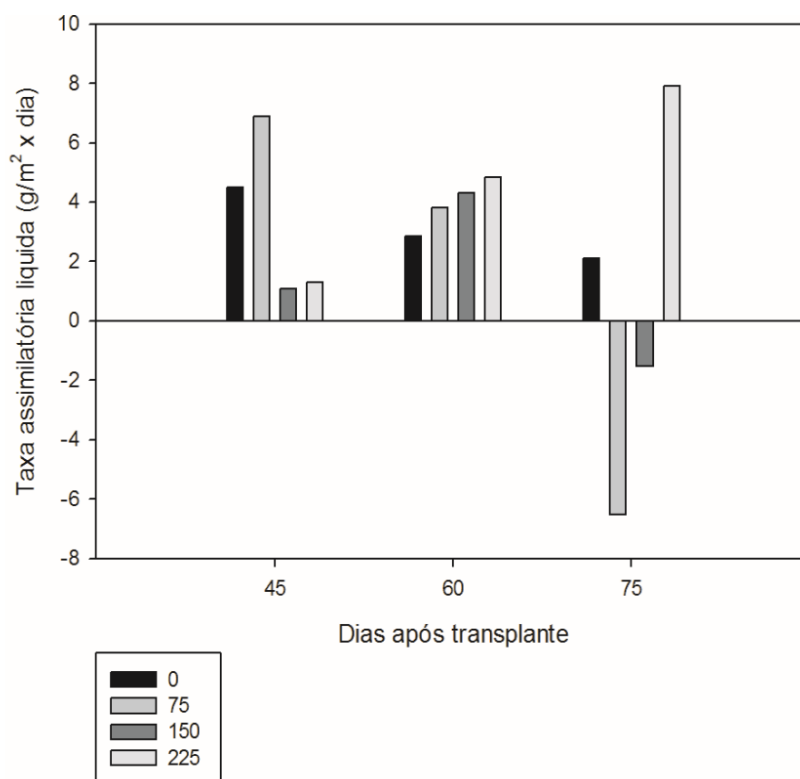
A taxa assimilatória líquida (TAL) representa o balanço entre o material produzido pela fotossíntese e o perdido pela respiração (BENINCASA, 2003), expressando a eficiência das plantas em produzir massa seca e tende ao decréscimo, indicativo de auto sombreamento. Dessa forma o maior declínio expressa crescimento mais rápido, o que se verifica para as plantas que não foram pulverizadas e naquelas com aplicação de 75 mg L⁻¹ de AS. As plantas cultivadas com 150 e 225 mg L⁻¹ revelaram TAL com menor decréscimo, devendo ser destacado a elevação desse índice nas plantas cultivadas com 225 mg L⁻¹, comprovando a rebrota verificada nessas plantas aos 75 DAT (Tabela 10 e Figura 9).

Os resultados observados concordam com registros encontrados na literatura consultada. A TAL apresenta valores elevados no início do ciclo vegetativo devido a menor área foliar existente e a elevada capacidade fotossintética das folhas (ANTONIAZZI, 2005). Andrade et al. (2005) relatam que a TAL reduz com o aumento da idade da planta, o que se deve ao sombreamento de folhas inferiores. Além disso, Rodrigues (1990) refere que a TAL pode ser influenciado por fatores climáticos e condições intraespecíficas desse índice.

Tabela 10 - Taxa assimilatória líquida (g/dm² x dia) de plantas de *Mentha x piperita* L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016

Ácido salicílico (mg L ⁻¹)	Épocas (dias após transplante)			Médias
	1 ^a (45)	2 ^a (60)	3 ^a (75)	
0	4,492	2,855	2,111	3,152
75	6,877	3,810	-6,518	4,169
150	1,075	4,309	-1,532	3,852
225	1,288	4,827	7,900	4,671
Médias	3,433	3,950	1,961	

Figura 9 - Taxa assimilatória líquida ($\text{g/dm}^2 \times \text{dia}$) de plantas de *Mentha x piperita* L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016



Taxa de crescimento relativo (TCR)

A taxa de crescimento relativo (TCR) reflete crescimento em função do material vegetal pré-existente e de modo geral, coincide com a TAL. Dessa forma o maior declínio expressa crescimento mais rápido, o que se verifica para as plantas que não foram pulverizadas e naquelas com aplicação de 75 mg L^{-1} de AS. As plantas cultivadas com 150 e 225 mg L^{-1} revelaram TCR com menor decréscimo, devendo ser destacado a elevação desse índice nas plantas cultivadas com 225 mg L^{-1} , comprovando a rebrota verificada nessas plantas aos 75 DAT (Tabela 11 e Figura 10).

Os resultados observados concordam com registros encontrados na literatura consultada.

Magalhães e Montojos (1971) verificaram para cultivares de feijão (*P. vulgaris*) que a TAL e a TCR apresentou correlação positiva. Milthorpe e Moorby (1974)

relataram que durante a ontogenia de uma cultura no último período, o crescimento se torna negativo.

Antoniazzi e Deschamps (2006) relatam que a diminuição da taxa média de crescimento relativo ao longo do desenvolvimento é devido ao acúmulo contínuo de matéria seca no decorrer do período e pela diminuição da capacidade relativa da planta em produzir material novo.

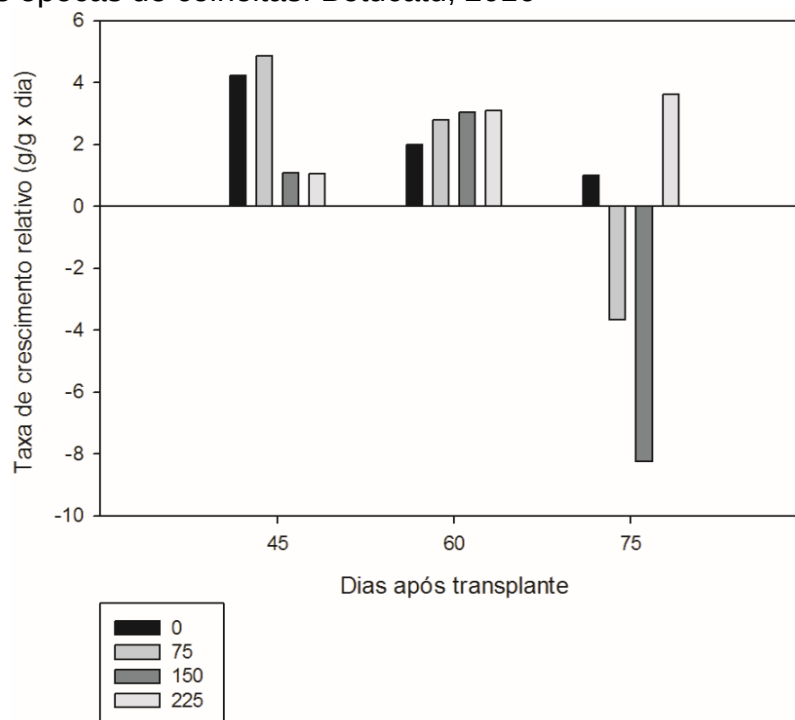
A taxa média de crescimento relativo indica o quanto o vegetal cresceu em biomassa, em um intervalo de tempo, em relação à biomassa inicial e a taxa média de assimilação líquida (HUNT, 1982; BARBIERI-JUNIOR et al., 2007).

Não foram identificados na literatura consultada estudos que avaliam a TCR de espécies da família Lamiaceae submetidas aplicação de AS. No entanto, os resultados do presente estudo estão de acordo com os encontrados por De Fazio et al. (2007), Leal (2001), Valmorbida (2003), David et al. (2007), que independente de tratamento estudado observaram em plantas de menta elevação da taxa média de crescimento relativo no início do ciclo vegetativo, com decréscimo no final.

Tabela 11 - Taxa de crescimento relativo (g/g x dia) de plantas de *Mentha x piperita* L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016

Ácido salicílico (mg L⁻¹)	Épocas (dias após transplante)			Médias
	1^a (45)	2^a (60)	3^a (75)	
0	4,218	1,991	1,010	2,406
75	4,864	2,777	-3,664	3,977
150	1,075	3,039	-8,238	-4,124
225	1,062	3,092	3,613	2,589
Médias	2,804	2,724	-8,237	

Figura 10 - Taxa de crescimento relativo (g/g x dia) de plantas de *Mentha x piperita* L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016



4.2 Trocas gasosas

Assimilação de CO₂ (A, $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)

A comparação de médias, que pode ser observada na tabela 12, revela que houve interação entre concentração de AS e colheita. Aos 45 DAT as plantas pulverizadas com AS apresentaram maior taxa de assimilação de CO₂. Com o passar do tempo, aos 60 e 75 DAT, respectivamente, a concentração igual a 75 e as 150 e 225 mg L⁻¹ de AS aumentaram a assimilação de CO₂.

Esses resultados concordam com os observados por Sahu et al. (2002) que verificaram em plantas de Poaceae, trigo (*Triticum aestivum* L.) aumento da atividade fotossintética quando a menor concentração de AS (50 μM) foi utilizada e com os de Fahad e Bano (2012), que verificaram em plantas de Poaceae, milho (*Zea mays* L.) com 10⁻⁵ M de AS incremento da atividade da enzima rubisco e da taxa fotossintética. Ghasemzadeh e Jaafar (2013) afirmam que o AS é um importante composto que atua incrementando a taxa fotossintética em plantas. No entanto, os resultados obtidos discordam dos observados por Ananieva et al. (2002) que verificaram que aplicação de 500 $\mu\text{mol/L}$ de AS em plantas de cevada (*H.*

vulgare) causou diminuição na assimilação de CO₂ e dos de Wu et al. (2013) que referem que o AS em condições normais pode causar diminuição da atividade fotossintética.

Quando as plantas foram pulverizadas com AS aos 45 DAT a concentração interna de CO₂ (Tabela 14) foi menor, indicativo de que o CO₂ presente na câmara subestomática foi utilizado para assimilação de CO₂ por ação da enzima ribulose 1,5-difosfato carboxilase (RuBP).

Tabela 12 - Análise de variância e comparação entre médias de assimilação de CO₂ (A, $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) em plantas de *Mentha x piperita* L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016

Análise de variância (teste F)		
Ácido salicílico (AS)	Colheita	AS x Colheita
19,33**	16,94**	16,05**

** = significativo ao nível de 1% de probabilidade

Comparação entre médias (teste Tukey)				
Ácido salicílico (mg L ⁻¹)	Colheita (dias após transplante)			Médias
	1 ^a (45)	2 ^a (60)	3 ^a (75)	
0	2,93 cB	5,65 bA	2,69 cB	3,76
75	8,24 aA	7,84 aA	3,82 bcB	6,63
150	5,11 bA	5,18 bA	5,84 aA	5,38
225	8,50 aA	3,94 bB	4,84 abB	5,76
Médias	6,19	5,65	4,30	
CV (%)	17,61			
Dms tratamento dentro colheita = 1,80		Dms colheita dentro tratamento = 1,63		

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si ao nível de 1% de probabilidade. As letras minúsculas nas colunas comparam médias de diferentes concentrações de ácido salicílico e as maiúsculas nas linhas comparam médias das épocas de colheitas.

Condutância estomática (g_s , mol m⁻²s⁻¹)

A comparação de médias, que pode ser observada na tabela 13, revela que não houve interação entre concentração de AS e colheita. No entanto, os valores médios de concentrações de AS mostram que aplicação de 75 e 225 mg L⁻¹ elevam a abertura estomática das plantas. Este resultado concorda em parte com o observado por Noreen e Ashraf (2008) que verificaram que as aplicações de 200 e 300 mg L⁻¹

de AS em folhas de Asteraceae, girassol (*Helianthus annuus* L.) estressadas e não estressadas, apresentaram aumento da condutância estomática. Os resultados discordam, no entanto, daqueles observados por Poór et al. (2011) que registraram em plantas de Solanaceae, tomate (*Lycopersicon esculentum*. Mill.) com aplicação de 10^{-3} M de AS diminuição na abertura estomática.

É importante ressaltar que o acesso de CO_2 às células fotossintéticas do mesófilo ocorre através da abertura estomática e, portanto, variações na condutância estomática podem afetar a assimilação de CO_2 (HABERMANN, 2004) e a transpiração (RASCHKE, 1979). Deste modo, quando o tratamento proporciona condições de elevada condutância estomática, a taxa de assimilação de CO_2 é elevada, mas depende da utilização do CO_2 interno para a síntese orgânica, o que manterá a variação do gradiente químico do CO_2 , garantindo sua aquisição pela folha (BARON, 2010).

Tabela 13 - Análise de variância e comparação entre médias da condutância estomática (g_s , $\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) em plantas de *Mentha x piperita* L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016

Análise de variância (teste F)				
Ácido salicílico (AS)	Colheita		AS x Colheita	
6,93**	1,77 ^{ns}		1,42 ^{ns}	
** = significativo ao nível de 1% de probabilidade				
^{ns} = não significativo				
Comparação entre médias (teste Tukey)				
Ácido salicílico (mg L ⁻¹)	Colheita (dias após transplante)			Médias
	1 ^a (45)	2 ^a (60)	3 ^a (75)	
0	30,38	32,30	20,33	27,67 B
75	45,18	48,75	36,99	43,64 A
150	32,34	37,73	37,52	35,86 AB
225	45,36	34,28	37,88	39,17 A
Médias	38,31 A	38,26 A	33,18 A	
CV (%)	24,24			
Dms tratamento dentro colheita = 9,74		Dms colheita dentro tratamento = 7,65		

Concentração interna de CO₂ (C_i , $\mu\text{mol mol}^{-1}$)

A comparação de médias, que pode ser observada na tabela 14, revela que houve interação entre concentração de AS e colheita. Aos 45 DAT as plantas pulverizadas com 75, 150, 225 mg L⁻¹ apresentaram baixa concentração interna de CO₂. Aos 60 DAT, a concentração interna de CO₂ aumentou quando a maior concentração de AS foi aplicada. Já aos 75 DAT não houve diferença de concentração interna de CO₂ nas plantas que receberam aplicação de AS.

Os resultados obtidos, dependendo da época avaliada concordam com os de Khan et al. (2003) que verificaram em plantas de milho (*Z. mays*) e de plantas de Fabaceae, soja (*Glycine max* L.) com aplicação de 10⁻⁵ mol/L de AS diminuição das concentrações intercelulares de CO₂ e com os de Pacheco et al. (2013) que verificaram em plantas de calêndula (*C. officinalis*) tratadas com 0,25, 0,50 e 1,00 mM de AS não apresentaram mudanças da concentração interna de CO₂.

A redução da concentração interna de CO₂ e o aumento das taxas de assimilação desse gás (Tabela 14 e 12) indicam maior atividade metabólica das plantas, o que pode ser explicado também pela elevação da taxa de carboxilação observada nas plantas cultivadas com aplicação de AS (Tabela 15).

Tabela 14 - Análise de variância e comparação entre médias da concentração interna de CO₂ (C_i , $\mu\text{mol mol}^{-1}$) em plantas de *Mentha x piperita* L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016

Análise de variância (teste F)				
Ácido salicílico (AS)	Colheita		AS x Colheita	
1,16 ^{ns}	1,54 ^{ns}		6,83 ^{**}	
^{ns} = não significativo				
^{**} = significativo ao nível de 1% de probabilidade				
Comparação entre médias (teste Tukey)				
Ácido salicílico (mg L ⁻¹)	Colheita (dias após transplante)			Médias
	1 ^a (45)	2 ^a (60)	3 ^a (75)	
0	228,17 aA	116,64 bB	183,91 aA	176,24
75	123,24 bB	150,26 abAB	199,05 aA	157,51
150	149,16 bA	161,41 abA	139,36 aA	149,98
225	110,92 bB	201,67 aA	172,85 aA	161,81
Médias	152,87	157,49	173,79	
CV (%)	21,92			
Dms tratamento dentro colheita = 126,83 Dms colheita dentro tratamento = 99,64				

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si ao nível de 1% de probabilidade. As letras minúsculas nas colunas comparam médias de diferentes concentrações de ácido salicílico e as maiúsculas nas linhas comparam médias das épocas de colheitas.

Eficiência de carboxilação (A/C_i)

A comparação de médias, que pode ser observada na tabela 15, revela que houve interação entre concentração de AS e colheita. Aos 45 DAT as plantas pulverizadas com 75, 150 e 225 mg L⁻¹, apresentaram maiores taxas de carboxilação. Aos 60 DAT houve diminuição do uso de CO₂ pelas plantas com aplicação da maior concentração de AS, verificando-se também elevada concentração de carbono interno, o que significa que a fonte de carbono assimilado está sendo efetivamente utilizado e não se acumulou (Tabela 15 e 14). Aos 75 DAT a concentração de 150 mg L⁻¹ pulverizada favoreceu a atividade da RuBP (Tabela 15). Cairo et al. (2009) referem que aplicação de AS tem reflexo importante na atividade fotossintética, o que está de acordo com os resultados observados no presente estudo.

A elevada eficiência de carboxilação demonstra o funcionamento da RuBP tão importante na fixação do CO₂ para o processo da fotossíntese, que junto com a adequada abertura estomática proporciona elevados valores de assimilação de CO₂ (MACEDO, 2015).

Tabela 15 - Análise de variância e comparação entre médias de eficiência de carboxilação (A/C_i) em plantas de *Mentha x piperita* L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016

Análise de variância (teste F)				
Ácido salicílico (AS)	Colheita	AS x Colheita		
7,89**	14,46**	16,42**		
** = significativo ao nível de 1% de probabilidade				
Comparação entre médias (teste Tukey)				
Ácido salicílico (mg L ⁻¹)	Colheita (dias após transplante)			Médias
	1 ^a (45)	2 ^a (60)	3 ^a (75)	
0	0,01 cB	0,05 aA	0,02 bB	0,02
75	0,07 aA	0,05 aA	0,02 bB	0,04
150	0,03 bA	0,03 abA	0,04 aA	0,03
225	0,07 aA	0,02 bB	0,03 abB	0,04
Médias	0,04	0,03	0,02	
CV (%)	29,41			
Dms tratamento dentro colheita = 0,02		Dms colheita dentro tratamento = 0,01		

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si ao nível de 1% de probabilidade. As letras minúsculas nas colunas comparam médias de diferentes concentrações de ácido salicílico e as maiúsculas nas linhas comparam médias das épocas de colheitas.

Transpiração (E , mmol m⁻²s⁻¹)

A comparação de médias, que pode ser observada na tabela 16, revela que não houve interação entre concentração de AS e colheita. A aplicação de 75 e 225 mg L⁻¹ de AS elevou, em média, a taxa de transpiração, da mesma forma que observado para condutância estomática (Tabela 16 e 13). Essas concentrações também elevaram a taxa de assimilação e carboxilação (Tabela 12 e 15) o que indica que regularam possíveis perdas decorrentes do aumento da transpiração.

Rao et al. (2012) verificaram que aplicação foliar de 100 ppm de AS em plantas de milho (*Z. mays*) regulou condutância estomática, reduzindo a perda de água por transpiração, em condições de seca, auxiliando a manutenção de turgor, fotossíntese e produção em condições de déficit hídrico. Pacheco et al. (2011) observaram em plantas de calêndula (*C. officinalis*) que receberam a dose 100 µM do elicitador ácido abscísico, reduções de transpiração, condutância estomática e assimilação.

Além disso, diversas pesquisas com culturas de interesse agrícola revelam efeitos da aplicação de AS na transpiração, como observado por Vicente e Plasencia (2011), que verificaram em mudas de cevada (*H. vulgare*) diminuição de transpiração com aplicação de 0,5 mM de AS. Khan et al. (2003) não observaram modificação da transpiração em plantas de soja (*G. max*) com aplicação de 10^{-3} mol/L e de 10^{-5} mol/L de AS. Soares (2016) verificaram em plantas de Poaceae, arroz (*Oryza sativa* L.) e cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) que pulverização de 100 μ M não modificou a transpiração. Habibi (2012) observaram aumento da taxa fotossintética, transpiração e condutância estomática em plantas de cevada (*H. vulgare* cv Nosrat) com aplicação de 500 μ M de AS e Singh e Usha (2003) observaram em plantas de trigo (*T. aestivum*) que aplicação de 1,0 mM de AS reduziu a taxa de transpiração.

O AS é um hormônio que desempenha papel importante na regulação do crescimento e desenvolvimento, além disso, eleva índices fotossintéticos, como condutância estomática e transpiração de plantas (ERASLAN et al. 2007).

Tabela 16 - Análise de variância e comparação entre médias de taxa de transpiração (E , $\text{mmol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) em plantas de *Mentha x piperita* L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016

Análise de variância (teste F)				
Ácido salicílico (AS)	Colheita	AS x Colheita		
6,25**	9,90**	1,08 ^{ns}		
** = significativo ao nível de 1% de probabilidade				
^{ns} = não significativo				
Comparação entre médias (teste Tukey)				
Ácido salicílico (mg L ⁻¹)	Colheita (dias após transplante)			Médias
	1 ^a (45)	2 ^a (60)	3 ^a (75)	
0	0,93	0,56	0,45	0,65 B
75	1,24	1,02	0,90	1,06 A
150	0,94	0,99	0,71	0,88 AB
225	1,35	0,79	0,87	1,00 A
Médias	1,12 A	0,84 B	0,73 B	
CV (%)	27,92			
Dms tratamento dentro colheita = 0,27		Dms colheita dentro tratamento = 0,21		

Eficiência do uso da água (A/E , $\mu\text{mol CO}_2$ ($\text{mmol H}_2\text{O}$)⁻¹)

A comparação de médias, que pode ser observada na tabela 17, revela que houve interação entre concentração de AS e colheita. Aos 45 DAT as plantas com 75 e 225 mg L⁻¹ apresentaram aumento da eficiência de uso da água. Essas concentrações também elevaram as taxas de transpiração (Tabela 16) e a de taxa de assimilação de CO₂, mediada pela atividade da RuBP, o que resultou em maior eficiência de uso da água (Tabela 12, 15 e 17). Aos 60 DAT a aplicação de AS não influenciou a eficiência de uso da água, enquanto, aos 75 DAT as plantas pulverizadas com 150 mg L⁻¹ também apresentaram maior eficiência de uso da água (Tabela 17).

Esses resultados concordam em parte com os observados por Khan et al. (2013) que verificaram que aplicação de 0,5 mM de AS aumentou a eficiência de uso da água em plantas de trigo (*T. aestivum* cv WH 711).

Baron (2010) relata que a diminuição da atividade da RuBP resultou em menor síntese orgânica e a elevação da taxa de transpiração, levou a redução da eficiência de uso da água.

Tabela 17 - Análise de variância e comparação entre médias de eficiência do uso da água (A/E , $\mu\text{mol CO}_2$ ($\text{mmol H}_2\text{O}$)⁻¹) em plantas de *Mentha x piperita* L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016

Análise de variância (teste F)				
Ácido salicílico (AS)	Colheita	AS x Colheita		
0,98 ^{ns}	8,98 ^{**}	14,05 ^{**}		
^{ns} = não significativo				
^{**} = significativo ao nível de 1% de probabilidade				
Comparação entre médias (teste Tukey)				
Ácido salicílico (mg L ⁻¹)	Colheita (dias após transplante)			Médias
	1 ^a (45)	2 ^a (60)	3 ^a (75)	
0	3,23 bC	10,02 aA	5,70 bB	6,32
75	6,61 aAB	8,08 aA	5,07 bB	6,59
150	5,42 abB	5,23 bB	8,21 aA	6,28
225	6,30 aA	5,17 bA	5,91 bA	5,79
Médias	5,39	7,13	6,22	
CV (%)	18,54			

Dms tratamento dentro colheita = 2,20	Dms colheita dentro tratamento = 2,00
--	--

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si ao nível de 1% de probabilidade. As letras minúsculas nas colunas comparam médias de diferentes concentrações de ácido salicílico e as maiúsculas nas linhas comparam médias das épocas de colheitas.

4.3 Concentração de clorofila a, b, carotenoides e antocianinas

Clorofila a

A comparação de médias, que pode ser observada na tabela 18, revela que não houve interação entre concentração de AS e colheita. Provavelmente esse resultado de clorofila a explique a ausência de variação de número de folhas, área foliar, produção de massa seca de folhas, caule e raiz (Tabela 2, 3, 6, 4 e 5). No entanto, não refletiu nas trocas gasosas, pois as plantas pulverizadas com AS revelaram, de maneira geral, maiores taxas de assimilação de CO₂, condutância estomática, transpiração, carboxilação e eficiência de uso de água (Tabela 12, 13, 16, 15 e 17).

Esse resultado concorda com os observados por Pacheco et al. (2013) que verificaram que aplicação de 0,25, 0,50 e 1,00 mM de AS em plantas de calêndula (*C. officinalis*) não interferiram com os teores de clorofila a e com os de Liu et al. (2011) em que aplicação de AS em plantas de feijoeiros (*P. vulgaris*) revelou incremento nos teores de clorofila. Os resultados discordam, no entanto, daqueles observados por Kováčik et al. (2009) que verificaram que aplicação de 0,25 e 1 mM de AS em plantas de Asteraceae, camomila (*Matricaria chamomilla* L.), reduziu os teores de clorofila a e dos de Zahra et al. (2010) que verificaram que aplicação de 1 e 1,5 mM de AS em plantas de tomate (*L. esculentum*), respectivamente, aumentou e diminuiu a concentração de clorofila a.

O AS exerce diversas funções fisiológicas nas plantas, como aumento dos teores de pigmentos fotossintéticos (a e b) e carotenoides (HAYAT; AHMAD, 2007). Abdollahi et al. (2011) retratam que o AS exerce estreita relação na síntese de clorofilas com incrementos na fotossíntese. Porém, Borsatti et al. (2015) afirmam que o AS reduz atividade do metabolismo primário, levando redução na síntese de pigmentos fotossintéticos.

Tabela 18 - Análise de variância e comparação entre médias de teores médios de clorofila a ($\mu\text{g g matéria fresca}^{-1}$) em plantas de *Mentha x piperita* L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016

Análise de variância (teste F)					
Ácido salicílico (AS)		Colheita		AS x Colheita	
0,31 ^{ns}		4,65 ^{**}		1,20 ^{ns}	
^{ns} = não significativo					
^{**} = significativo ao nível de 1% de probabilidade					
Comparação entre médias (teste Tukey)					
Ácido salicílico (mg L ⁻¹)	Colheita (dias após transplante)				Médias
	1 ^a (45)	2 ^a (60)	3 ^a (75)	4 ^a (90)	
0	1317,05	1157,44	1596,67	1116,17	1296,83 A
75	1369,21	1373,45	1306,32	1176,38	1306,34 A
150	1470,99	1205,27	1277,55	997,74	1237,89 A
225	1255,96	1126,10	1417,70	1235,30	1258,76 A
Médias	1353,30 A	1215,56 AB	1399,56 A	1131,40 B	
CV (%)	17,98				
Dms tratamento dentro colheita = 215,71			Dms colheita dentro tratamento = 215,71		

Clorofila b

A comparação de médias, que pode ser observada na tabela 19, revela que não houve interação entre concentração de AS e colheita. As plantas pulverizadas com as diferentes concentrações de AS não apresentaram diferenças de clorofila b. Talvez este resultado de clorofila b explique a ausência de variação de produção de massa seca (Tabela 4, 5, 6 e 7). No entanto, deve ser ressaltado que as plantas pulverizadas com AS apresentaram elevadas taxas de assimilação e carboxilação (Tabela 12 e 15).

A clorofila b é essencial para a fotossíntese, absorvendo luz de comprimento de onda entre 425-475 nm e transferindo sua energia para a clorofila a (TANAKA; TANAKA, 2007) assumindo papel primordial na produtividade vegetal.

Pesquisas com diferentes espécies revelam respostas variáveis das plantas pulverizadas com AS quanto à concentração de clorofila b, como observado por

Askari e Ehsanzadeh (2015) que verificaram em plantas de Apiaceae, erva-doce (*Foeniculum vulgare* Mill.) cultivadas em condições de seca com 1 mM de AS revelaram aumento dos teores de clorofila b e os de Khan et al. (2017) que verificaram em plantas de trigo (*Triticum* sp.) cultivadas com 0,5 mM de AS aumento do teor de clorofila b. Chaparzadeh e Hosseinzad-Behboud (2015) verificaram diminuição do conteúdo de clorofila b em folhas de Brassicaceae, rabanete (*Raphanus sativus* L.) com aplicação de 0,20 mM de AS. Dawood et al. (2012) observaram que aplicação de AS em plantas de girassol (*H. annuus*) aumentou o teor de clorofila b. Já Kabiri et al. (2014) verificaram que o estresse provocado pela seca causou redução de clorofila b em plantas de Ranunculaceae, Habbatus sauda (*Nigella sativa* L.) cultivadas em hidroponia, mas o pré-tratamento com aplicação de 5 e 10 μmol de AS aumentou os teores de clorofila b.

Com base nos resultados das pesquisas acima referidas, pode-se inferir que as respostas das plantas aos elicitores biológicos dependem de vários fatores, tais como concentração do elicitor, tempo de contato e fase de crescimento (BHAGWATH; HJORTS, 2000). Naghavi (2016) afirma que dependendo da concentração utilizada de AS pode influenciar a produção de pigmentos.

Tabela 19 - Análise de variância e comparação entre médias de teores médios de clorofila b ($\mu\text{g g matéria fresca}^{-1}$) em plantas de *Mentha x piperita* L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016

Análise de variância (teste F)					
Ácido salicílico (AS)		Colheita		AS x Colheita	
0,53 ^{ns}		17,39 ^{**}		1,42 ^{ns}	
^{ns} = não significativo					
^{**} = significativo ao nível de 1% de probabilidade					
Comparação entre médias (teste Tukey)					
Ácido salicílico (mg L ⁻¹)	Colheita (dias após transplante)				Médias
	1 ^a (45)	2 ^a (60)	3 ^a (75)	4 ^a (90)	
0	552,57	386,77	563,38	347,20	462,48 A
75	605,23	583,40	467,05	337,47	498,29 A
150	578,04	495,89	454,30	329,04	464,32 A
225	553,15	490,65	502,39	371,72	479,48 A
Médias	572,25 A	489,18 A	496,78 A	346,36 B	
CV (%)	19,00				
Dms tratamento dentro colheita = 85,13			Dms colheita dentro tratamento = 85,13		

Carotenoides

A comparação de médias, que pode ser observada na tabela 20, revela que não houve interação entre concentração de AS e colheita. A aplicação de AS não influenciou a concentração de carotenoides.

Pesquisas com diferentes espécies revelam respostas variáveis das plantas pulverizadas com AS quanto à concentração de carotenoides, como observado por Diva et al. (2014) em plantas de Apiaceae, coentro (*Coriandrum sativum* L.) cultivadas com aplicação de 500 mmol/L de AS em que verificaram aumento dos teores de carotenoides totais. Os autores atribuíram esse aumento de carotenoides totais como resposta de defesa das plantas. Farouk et al. (2011) verificaram em plantas de feijoeiros (*P. vulgaris*) cultivadas com 100 mg L⁻¹ de AS aumento da concentração de carotenoides. Cag et al. (2009) cultivaram girassol (*H. annuus*) com aplicação de 1 mM de AS e observaram diminuição do teor de carotenoides totais. Carvalho Júnior (2013) verificaram redução dos teores de carotenoides de Euphorbiaceae, mamoneira (*Ricinus communis* L. cv BRS Energia) com aplicação de 0,02 mg L⁻¹, evidenciando elevada sensibilidade dessa cultivar ao elicitor.

As médias de concentrações de carotenoides diminuíram no decorrer das avaliações realizadas durante o ciclo da espécie de 584,69 aos 45 para 441,97 (µg g matéria fresca⁻¹) aos 90 dias após transplante (Tabela 20). Esses resultados observados tanto para clorofila b e carotenoides concordam com os observados por Jakhar e Sheokand (2015) em plantas de soja (*G. max*) que apresentaram diminuição nos teores desses pigmentos no final de ciclo.

Tabela 20 - Análise de variância e comparação entre médias de teores médios de carotenoides ($\mu\text{g g matéria fresca}^{-1}$) em plantas de *Mentha x piperita* L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016

Análise de variância (teste F)					
Ácido salicílico (AS)		Colheita		AS x Colheita	
0,52 ^{ns}		9,95 ^{**}		1,85 ^{ns}	
^{ns} = não significativo					
^{**} = significativo ao nível de 1% de probabilidade					
Comparação entre médias (teste Tukey)					
Ácido salicílico (mg L ⁻¹)	Colheita (dias após transplante)				Médias
	45	60	75	90	
0	599,11	516,21	663,25	428,99	551,89 A
75	643,01	590,28	547,77	459,75	560,20 A
150	621,34	549,46	527,51	405,75	526,01 A
225	475,31	585,78	603,53	473,38	534,50 A
Médias	584,69 A	560,43 A	585,52 A	441,97 B	
CV (%)	15,98				
Dms tratamento dentro colheita = 81,69			Dms colheita dentro tratamento = 81,69		

Antocianinas

A comparação de médias, que pode ser observada na tabela 21, revela que houve interação entre concentração de AS e colheita. A aplicação de AS não influenciou a concentração de antocianinas.

Aos 60 e 90 DAT, as plantas cultivadas com AS apresentaram maiores concentrações de antocianinas, dependendo da concentração desse elicitor. Uma vez que o AS pode influenciar a fotossíntese em plantas (DIVYA et al. (2014), podendo-se esperar aumento de antocianinas, que atuam na absorção da radiação e regulam o sistema antioxidante nas células, eliminando várias espécies reativas de oxigênio formadas continuamente durante a fotooxidação (GOBBO NETO; LOPES, 2007).

Esses resultados concordam com os de Ali et al. (2012) quando verificaram que aplicação de 10^{-5} M de AS em folhas de Zingiberaceae, *Halia bara* (*Zingiber officinale* var. *rubrum*.) aumentou os teores de antocianinas. No entanto, Gorni e Pacheco (2016) constataram em plantas de mil folhas (*A. millefolium*) pulverizadas com 0,25, 0,50 e 1,00 mM que não houve variação do conteúdo de antocianinas e

Chaparzadeh e Hosseinzad-behboud (2015) verificaram que aplicação de 0,20 mM de AS em folhas de Rabanete (*R. sativus*) resultou na diminuição desse pigmento.

Lopes et al. (2007) referem as antocianinas como uma classe de composto fenólico, que desempenha diversas funções nas plantas, incluindo mecanismo de defesa. Neste caso, a aplicação de AS em plantas pode elevar a produção de antocianinas como resposta de defesa.

De forma geral, como verificado para os demais pigmentos observa-se comportamento de diminuição das concentrações de antocianinas ($\mu\text{g g matéria fresca}^{-1}$) no decorrer do tempo, independentemente da aplicação de AS (Tabela 21). Taiz e Zeiger (2010) relatam que os teores de pigmentos diminuem ao longo do tempo.

Tabela 21 - Análise de variância e comparação entre médias de teores médios de antocianinas ($\mu\text{g g matéria fresca}^{-1}$) em plantas de *Mentha x piperita* L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016

Análise de variância (teste F)		
Ácido salicílico (AS)	Colheita	AS x Colheita
12,86**	5,13**	3,39**

** = significativo ao nível de 1% de probabilidade

Comparação entre médias (teste Tukey)					
Ácido salicílico (mg L ⁻¹)	Colheita (dias após transplante)				Médias
	1 ^a (45)	2 ^a (60)	3 ^a (75)	4 ^a (90)	
0	323,11 aB	192,45 bB	363,83 aA	257,89 bAB	284,32
75	502,46 aA	355,41 aB	315,00 aB	300,84 bB	447,28
150	312,83 bA	280,23 abA	241,70 aA	237,46 bA	327,42
225	411,01 abA	399,39 aA	320,12 aA	445,71 aA	394,06
Médias	387,35	306,87	310,16	310,47	
CV (%)	21,00				
Dms tratamento dentro colheita = 64,98			Dms colheita dentro tratamento = 64,98		

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si ao nível de 1% de probabilidade. As letras minúsculas nas colunas comparam médias de diferentes concentrações de ácido salicílico e as maiúsculas nas linhas comparam médias das épocas de colheitas.

4.4 Teor de fenóis totais

A comparação de médias, que pode ser observada na tabela 22, revela que houve interação entre concentração de AS e colheita. Aos 45 DAT a aplicação de 225 mg L⁻¹ elevou os teores de fenóis totais das plantas de menta. Já aos 75 DAT a aplicação dessa concentração diminuiu os teores de fenóis totais. No entanto, não houve incremento de biomassa nas plantas, conforme refere Naczek e Shahidi (2004).

Outros resultados de pesquisas indicam influência positiva da aplicação de AS na produção de compostos fenólicos, como aqueles observados por Kováčik et al. (2009) que cultivaram plantas de camomila (*M. chamomilla*) com concentração de AS (250 mM) e verificaram efeito tóxico com aumento da atividade da enzima fenilalanina-amoníaco-liase, seguido por acúmulo de compostos fenólicos. Shabrangi e Beigijazi (2014) verificaram em plantas de menta cultivadas com 50 e 100 µM de AS aumento do teor de fenóis totais. Gorni e Pacheco (2016) verificaram em plantas de mil folhas (*A. millefolium*) pulverizadas com 0,50 e 1,00 mM de AS aumento no conteúdo de fenóis totais. Brandão (2012) avaliando efeitos da aplicação de AS como elicitor no cultivo *in vitro* de plantas de *A. tenella* verificaram aumento de fenóis totais quando 300 mM de AS foram utilizados. Kowalska e Smoleń (2013) referem que a influência da aplicação exógena de AS em plantas, pode variar com a espécie e concentração utilizada.

Os elicitores biológicos podem desencadear respostas no metabolismo especializado das plantas, interagindo com receptores de membrana (KLEINOWSKI et al., 2014). No entanto, a eficácia do uso de elicitores biológicos no aumento de síntese de metabólitos secundários, nos vegetais, depende de uma complexa rede de interação fisiológica entre a molécula utilizada e o metabolismo especializado (RODRIGUES-BRANDÃO, 2016). O AS pode apresentar efeito sobre a produção de compostos do metabolismo especializado, operando em vias de sinalização e ativando genes específicos da maquinaria enzimática envolvida na biossíntese de metabólitos secundários (NAMEDO, 2007; SAVITHA et al., 2006). A produção de fenóis totais é acompanhada pela indução de enzimas e regulação da expressão de genes relacionados à defesa das plantas (YU et al., 2006). Por outro lado, elevadas concentrações de AS, pode diminuir atividades de enzimas associadas à produção

de fenóis totais (PACHECO et al., 2011), o que talvez explique os resultados encontrados no presente estudo.

Diferentemente dos resultados de clorofila a, b, carotenoides e antocianinas, observa-se comportamento de elevação dos teores de fenóis totais com o passar do tempo (Tabela 22).

Tabela 22 - Análise de variância e comparação entre médias de teores de fenóis totais (%) em plantas de *Mentha x piperita* L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016

Análise de variância (teste F)					
Ácido salicílico (AS)	Colheita			AS x Colheita	
2,95*	57,68**			3,51**	
* = significativo ao nível de 5% de probabilidade					
** = significativo ao nível de 1% de probabilidade					
Comparação entre médias (teste Tukey)					
Ácido salicílico (mg L ⁻¹)	Colheita (dias após transplante)				Médias
	1 ^a (45)	2 ^a (60)	3 ^a (75)	4 ^a (90)	
0	4,24 bC	7,55 aB	8,70 aAB	10,34 abA	7,71
75	5,27 abC	6,13 aBC	8,00 abAB	9,01 bA	7,10
150	5,43 abC	7,21 aBC	8,03 abB	12,30 aA	8,24
225	6,75 aB	7,84 aB	6,50 bB	10,73 abA	7,95
Médias	5,42	7,18	7,81	10,59	
CV (%)	14,58				
Dms tratamento dentro colheita = 2,12			Dms colheita dentro tratamento = 2,12		

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si ao nível de 1% de probabilidade. As letras minúsculas nas colunas comparam médias de diferentes concentrações de ácido salicílico e as maiúsculas nas linhas comparam médias das épocas de colheitas.

4.5 Teor de substâncias voláteis

Nas condições experimentais em que o presente estudo foi conduzido durante os meses de abril a maio não foi possível à obtenção de material vegetal suficiente para rendimento de óleo essencial, condição semelhante à de Búfalo (2011) quando avaliou o efeito da aplicação de extratos de erva de Macaé (*L. sibiricus*) em plantas de menta, em época semelhante. Deschamps et al. (2008) estudando avaliação

sazonal do rendimento de óleo essencial em espécimes de menta verificaram que os genótipos avaliados apresentaram melhor rendimento, quando colhidos nos meses de janeiro e julho. Esses autores ainda observaram reduções de rendimento de óleo essencial entre as estações de verão e inverno em plantas de Lamiaceae, *Mentha suaveolens* (cv. Hillarys Sweet Lemon Mint), *Mentha arvensis* (cv. Banana Mint) e *Mentha x piperita* cv. Grape fruit Mint, indicando menor adaptação desses genótipos a baixas temperaturas.

Foram identificadas 24 substâncias voláteis, com os seguintes teores em ordem crescente: *z*- β -farneseno (0,03%), α -terpineno (0,03%), 3-octanol (0,06%), terpen-4-ol (0,08%), γ -terpineno, (0,08%), *e*- β -ocimeno (0,11%), *z*- β -ocimeno (0,15%), *iso*-mentol (0,18%), sabineno (0,22%), α -pineno (0,24%), *trans*-cariofileno (0,26%), γ -gurjuneno (0,34%), mirceno (0,48%), β -pineno (0,50%), *iso*-acetato de mentila (0,61%), pulegona (1,02%), 1,8 cineol (1,15%), limoneno (1,89%), *neo*-acetato de mentila (1,95%), mentol (8,01%), mentona (8,49%), acetato de mentila (23,28%) e mentofurano (49,93%) (Tabela 23).

Tabela 23 - Composição das substâncias voláteis (%) presente em plantas de *Mentha x piperita* L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, aos 45, 60, 75 e 90 dias após transplante. Botucatu, 2016. Média de quatro repetições.

Substâncias	IR _C	IR _L	1ª (45 DAT)				2ª (60 DAT)				3ª (75 DAT)				4ª (90 DAT)			
			T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
α-pineno	928	939	0,33	0,29	0,35	0,35	0,29	0,24	0,27	0,36	0,17	0,19	0,16	0,20	0,19	0,20	0,19	0,16
sabineno	968	975	0,34	0,30	0,33	0,37	0,26	0,22	0,25	0,37	0,18	0,18	0,14	0,17	0,13	0,14	0,12	0,11
β-pineno	972	979	0,71	0,63	0,76	0,77	0,55	0,46	0,51	0,71	0,35	0,38	0,31	0,35	0,40	0,44	0,35	0,32
mircenol	985	990	0,80	0,68	0,69	0,76	0,51	0,45	0,50	0,65	0,36	0,36	0,35	0,38	0,34	0,34	0,32	0,26
3-octanol	989	991	0,10	0,10	0,10	0,17	0,04	0,04	0,03	0,08	0,04	0,03	0,06	0,05	0,06	0,06	0,04	0,04
α-terpineno	1012	1017	0,06	0,07	0,04	0,02	0,02	0,03	0,03	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,06	0,06	0,05
limoneno	1024	1029	2,08	1,31	1,66	2,88	1,67	1,74	1,72	2,33	1,40	1,50	1,58	1,10	2,38	2,63	2,68	1,66
1,8 cineol	1026	1031	1,45	1,85	1,73	1,81	1,41	0,95	0,96	1,83	1,41	1,10	0,78	1,06	0,50	0,57	0,41	0,60
z-β-ocimeno	1032	1037	0,26	0,20	0,20	0,27	0,16	0,13	0,14	0,26	0,13	0,14	0,15	0,13	0,08	0,07	0,08	0,07
e-β-ocimeno	1053	1050	0,18	0,15	0,14	0,19	0,07	0,11	0,09	0,11	0,09	0,08	0,08	0,09	0,09	0,18	0,14	0,11
γ-terpineno	1061	1059	0,09	0,15	0,14	0,10	0,04	0,08	0,04	0,02	0,06	0,03	0,05	0,08	0,12	0,12	0,10	0,08
mentona	1048	1152	13,64	19,31	19,37	8,36	0,71	1,81	0,95	1,80	0,27	0,46	0,99	0,25	15,56	22,87	16,60	12,88
mentofurano	1160	1164	46,81	47,10	48,87	42,11	53,54	43,45	52,25	45,67	44,04	45,32	37,45	43,49	56,20	61,05	69,47	62,07
mentol	1168	1171	14,36	16,25	14,96	19,19	5,75	5,98	3,90	5,96	6,15	5,19	6,47	6,13	6,66	3,57	2,79	4,96
terpen-4-ol	1172	1177	0,07	0,10	0,24	0,13	0,02	0,06	0,02	0,06	0,07	0,02	0,05	0,05	0,08	0,11	0,08	0,12
iso-mentol	1178	1182	0,22	0,21	0,27	0,32	0,17	0,22	0,12	0,23	0,16	0,18	0,25	0,21	0,15	0,06	0,10	0,11
pulegona	1232	1237	1,06	1,39	1,55	1,80	0,39	0,17	0,27	0,40	0,21	0,11	0,13	0,15	1,07	2,78	3,09	1,87
neo-acetato de mentila	1269	1273	1,11	0,42	0,31	0,85	2,03	4,25	2,53	4,05	2,78	3,77	4,05	2,48	1,15	0,26	0,21	1,05
acetato de mentila	1288	1295	14,01	7,73	6,65	14,13	30,22	37,09	33,54	32,08	39,60	38,67	44,34	41,64	13,81	3,89	2,64	12,58
iso-acetato de mentila	1301	1305	0,34	0,16	0,15	0,32	0,67	1,18	0,85	1,05	1,06	1,03	1,25	1,00	0,40	0,09	0,06	0,25
trans-cariofileno	1411	1419	0,54	0,41	0,38	0,41	0,20	0,34	0,21	0,35	0,29	0,24	0,27	0,23	0,08	0,08	0,09	0,09
z-b-farneseno	1448	1442	0,08	0,08	0,06	0,02	0,02	0,06	0,03	0,02	0,02	0,02	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
γ-gurjuneno	1471	1477	0,68	0,64	0,50	0,54	0,26	0,41	0,26	0,41	0,34	0,32	0,37	0,27	0,14	0,14	0,14	0,15

Total identificado	99,32	99,53	99,45	95,87	99,00	99,47	99,47	98,83	99,20	99,34	99,33	99,55	99,64	99,73	99,78	99,61
--------------------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

IRc = índice de retenção calculado e IR_L = índice de retenção da literatura. **Legenda:** T1 - 0 mg L⁻¹ de AS; T2 - 75 mg L⁻¹ de AS; T3 - 150 mg L⁻¹ de AS e T4 - 225 mg L⁻¹ de AS.

As substâncias identificadas foram distribuídas em quatro classes. A classe dos monoterpenos foi a mais expressiva, composta de monoterpenos oxigenados (41,66%), representados por 1,8 cineol, mentona, mentofurano, mentol, terpen-4-ol, *iso*-mentol, pulegona, *neo*-acetato de mentila, acetato de mentila, *iso*-acetato de mentila, hidrocarbonetos monoterpênicos (37,5%), representados por *a*-pineno, sabineno; *b*-pineno, mirceno, *a*-terpineno, limoneno, *z*-*b*-ocimeno, *e*-*b*-ocimeno e *y*-terpineno; hidrocarbonetos sesquiterpênicos (12,5%), representados por *trans*-cariofileno, *z*-*b*-farneseno e *y*-gurjuneno e álcool (4,16%), representado por 3-octanol (Tabela 23). Estes resultados concordam com os observados por Costa et al. (2012) que verificaram na análise química do óleo essencial de menta predominância de monoterpenos.

EL-Gohary et al. (2014) verificaram no óleo essencial de menta predominância de mentol (45,30%-66,80%), mentona (7,80% - 25,50%), *iso*-mentona (4,40% - 11,80%) e 1,8 cineol (2,60% - 4,10%) e dos de Mahboubi e Kazempour (2014), cujos principais constituintes identificados no óleo essencial de menta foram: mentol (36,90%), mentona (28,80%) e acetato de mentila (4,50%), *neo*-mentol (3,80%), 1,8 cineol (3,80%) e limoneno (3,29%). No entanto, trabalhos indicam que o perfil de voláteis varia conforme localização geográfica de cultivo ou o resultado da combinação de diversos outros fatores, tais como genótipo, ontogenia, luz, temperatura, água, nutrientes e fotoperíodo (AFLATUNI, 2005; GRAHLE; HOLTZEL, 1963).

Trabalhos relatam que aplicação de AS altera a porcentagem relativa de algumas substâncias presentes no perfil químico de plantas medicinais, como observado por Nourafcan et al. (2014) que verificaram em plantas de cidrão (*L. citriodora*) com aplicação exógena de 2,5 a 20 mM de AS redução dos teores de α -pineno, sabineno, limoneno, pinocarveol e citronelal, enquanto as concentrações de 10 e 20 mM reduziram o teor de β -pineno. Silva et al. (2014) observaram em plantas de erva-cidreira (*M. officinalis*) submetidas a 1,5 mM de AS diminuição dos teores de geraniol e nerol. Ram et al. (1997) verificaram que plantas de hortelã japonesa (*Mentha arvensis* L.) cultivadas com 100 mg L⁻¹ de AS não apresentaram variação da produção de óleo essencial.

O óleo essencial de menta de elevada qualidade é caracterizado por elevado teor de mentol, moderado de mentona e baixa quantidade de pulegona e mentofurano (GUENTHER, 1972; COURT et al., 1993 citados por BÚFALO, 2011). Mentol é considerado o principal componente, no entanto, não é a única substância que define a qualidade do óleo (PAULUS et al., 2007). Na presente pesquisa, houve predominância das substâncias acetato de mentila (23,28%) e mentofurano (49,93%). Pode ser sugerido que aumento da expressão de enzimas envolvidas na biossíntese de terpenos tiveram sua atividade inibida e outras foram ativadas, resultando na alteração do perfil químico de voláteis.

Zhaao et al. (2013) verificaram que a variação de rendimento de óleo essencial de menta (*Mentha haplocalyx* Briq.) coletadas em diferentes regiões e transplantadas em condições semelhantes apresentaram variação nos teores dos constituintes. Os autores atribuíram esses resultados aos efeitos decorrentes do material genético.

Os resultados encontrados na presente pesquisa talvez se justifiquem pelo potencial genético uma vez que, a espécie foi propagada e estudada e revelou também em pesquisas anteriores as mesmas características de composição de óleo com predominância de mentofurano e acetato de mentila. Como exemplo, os trabalhos desenvolvidos por David (2004, 2007) avaliando plantas de *M. x piperita* em solução nutritiva com variação de fósforo e com variação de N, P e K, em diferentes épocas do ciclo de desenvolvimento, revelaram elevado conteúdo de mentofurano e acetato de mentila. De Fazio (2007) avaliando *M. x piperita* cultivada com variação de cálcio obtiveram elevado teor de mentofurano. Scavroni et al. (2005) avaliando rendimento e composição do óleo essencial de *M. x piperita* cultivado com biossólido, verificaram valores de 40,55% de acetato de mentila no óleo essencial de menta. Todos esses estudos foram conduzidos com plantas propagadas a partir das mesmas plantas matrizes.

Scavroni et al. (2005) consideram a elevação dos teores de acetato de mentila e mentofurano resultado do fotoperíodo e da época de colheita, com início em maio. Deve-se considerar que a menta é uma planta de dia longo.

O óleo essencial de menta considerado de elevada qualidade apresenta como constituintes majoritários mentol e mentona. O mentol tem aplicação em produtos de higiene bucal, flavorizantes, aromatizantes de alimentos, perfumarias, confeitarias e produtos farmacêuticos (DOMIJAN et al., 2005). A mentona possui atividades na

inibição de crescimento de vários tipos de larvas (SIMÕES, 1999), além do uso, na perfumaria, como aromatizantes e na indústria de cosméticos (ADAMS, 2009).

No entanto, outras substâncias presentes no perfil químico de voláteis foliares de menta podem agregar valor, como o próprio mentofurano que representa uma substância interessante para a indústria de perfumes por não intensificarem o aroma da essência, além do que, é uma substância de custo elevado, devido a sua limitada disponibilidade e baixa produção pelas plantas (0 a 6%) (KHANUJA et al., 2003). Destaca-se ainda o acetato de mentila, que é utilizado em perfumaria, enfatizando notas florais, especialmente de rosas, e seu uso em águas sanitárias, com odor de lavanda e aromatizante de extratos de alcarávia (THE MERCK INDEX, 1996), além de ser um monoterpeno que apresenta atividade contra ovos, larvas e adultos de drosófilas (ADDOR, 1994).

A seguir serão discutidas as oito substâncias majoritárias verificadas no perfil químico das plantas submetidas à pulverização com diferentes concentrações de AS que apresentaram teores médios superiores a 1% e observadas nas classes de monoterpenos oxigenados e de hidrocarbonetos monoterpênicos.

4.5.1 Monoterpenos oxigenados

A comparação de médias, que pode ser observada na tabela 24, 25, 26, 27, 28, 29 e 30 revela que aplicação de AS não interferiu na produção de substâncias voláteis. A época foi determinante na variação de substâncias majoritárias.

Sete substâncias da classe dos monoterpenos oxigenados apresentaram teores médios superiores a 1%, pulegona (1,02%), 1,8 cineol (1,15%), *neo*-acetato de mentila (1,95%), mentol (8,01%), mentona (8,49%), acetato de mentila (23,28%) e mentofurano (49,93%) (Tabela 23).

Mentofurano

A comparação de médias, que pode ser observada na tabela 24, revela que não houve interação entre concentração de AS e colheita. É possível, observar que aplicação de AS não afetou a produção de mentofurano.

Em média os componentes mentofurano e acetato de mentila, representam cerca de 73,21% do perfil químico das substâncias voláteis no presente estudo (Tabela 23).

Um desvio importante na rota biossintética do mentol é a transformação de (+) pulegona em (+) mentofurano catalisada pela enzima mentofurano sintase. A supressão desta rota ou de seus agentes causais representa uma das possibilidades de aumentar a produção de mentol (SANTOS, 2012). Assim, elevados teores de pulegona podem desviar a rota de produção do mentol, pela síntese do mentofurano, por ação da enzima mentofurano sintase (CROTEAU et al., 2005). Na presente pesquisa, verifica-se baixa produção de mentol, o que pode ser justificado, pelos baixos teores de pulegona, além do desvio da rota de biossíntese do mentol, em favorecimento a produção de mentofurano (Tabela 26, 30 e 24).

A inexistência de estudos que avaliem a influência da aplicação de AS no teor de mentofurano de plantas medicinais e aromáticas, impede a comparação dos resultados obtidos na presente pesquisa com de outros autores. Uma vez mais, deve ser registrado que as condições de cultivo podem em interação com outras condições ter influenciado o perfil químico de substâncias voláteis.

Tabela 24 - Análise de variância e comparação entre médias de mentofurano nos voláteis de plantas de *Mentha x piperita* L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016

Análise de variância (teste F)					
Ácido salicílico (AS)		Colheita		AS x Colheita	
0,56 ^{ns}		16,65 ^{**}		1,23 ^{ns}	
^{ns} = não significativo					
^{**} = significativo ao nível de 1% de probabilidade					
Comparação entre médias (teste Tukey)					
Ácido salicílico (mg L ⁻¹)	Colheita (dias após transplante)				Médias
	45	60	75	90	
0	46,81	53,54	44,04	56,20	50,15 A
75	47,09	43,44	45,32	61,05	49,22 A
150	48,87	52,25	37,45	69,46	52,01 A
225	42,10	45,67	43,49	62,07	48,33 A
Médias	46,22 B	48,72 B	42,57 B	62,19 A	
CV (%)	14,55				
Dms tratamento dentro colheita = 16,05			Dms colheita dentro tratamento = 16,05		

Mentona

A comparação de médias, que pode ser observada na tabela 25, revela que não houve interação significativa entre concentração de AS e colheita. A aplicação de AS não afetou a produção de mentona.

Aos 45 DAT, as plantas apresentaram maiores teores de mentona, em comparação as plantas com 60 e 75 DAT (Tabela 25). Esses resultados concordam em parte aos observados por Scavroni et al. (2005) que verificaram em plantas de menta diminuição dos teores de mentona à medida que as plantas se desenvolveram. Além disso, De Fazio (2011) afirma que a variação dos componentes do óleo essencial de menta pode ocorrer de acordo com a época de avaliação.

Aos 90 DAT, as plantas também apresentaram aumento de mentona. Em épocas anteriores as plantas apresentaram folhas mais velhas, que no decorrer do tempo, foram renovadas, ocorrendo incremento de produção de mentona (Tabela

25). Burbott e Loomis (1967) relatam que durante o florescimento das plantas de menta, encontra-se nas folhas maior teor de mentol e mentona. No entanto, na presente pesquisa as plantas não floresceram o que provavelmente influenciou a produção de mentol e de mentona (Tabela 26 e 25).

Em relação às épocas de colheitas, verifica-se aos 60 e 75 DAT, tendência de queda dos valores de pulegona. Aos 90 DAT novo aumento de mentona foi identificado, quando as folhas brotaram e estavam mais jovens (Tabela 25).

Tabela 25 - Análise de variância e comparação entre médias de mentona nos voláteis de plantas de *Mentha x piperita* L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016

Análise de variância (teste F)					
Ácido salicílico (AS)	Colheita				AS x Colheita
1,86 ^{ns}	27,29 ^{**}				0,73 ^{ns}
^{ns} = não significativo					
^{**} = significativo ao nível de 1% de probabilidade					
Comparação entre médias (teste Tukey)					
Ácido salicílico (mg L ⁻¹)	Colheita (dias após transplante)				Médias
	45	60	75	90	
0	13,63	0,71	0,26	15,55	7,54 A
75	19,30	1,80	0,46	22,87	11,11 A
150	19,37	0,95	0,99	16,60	9,47 A
225	8,36	1,80	0,25	12,88	5,82 A
Médias	15,17 A	1,31 B	0,49 B	16,97 A	
CV (%)	68,70				
Dms tratamento dentro colheita = 12,88			Dms colheita dentro tratamento = 12,88		

Mentol

A comparação de médias, que pode ser observada na tabela 26, revela que não houve interação entre concentração de AS e colheita. A aplicação de AS não influenciou a produção de mentol.

O mentol é o componente mais abundante (e característico) do óleo essencial de plantas de menta, além de conferir qualidade ao óleo (GUENTHER, 1961). O seu teor aumenta com a maturidade foliar e uma gama de condições de estresse (BURBOTT; LOOMIS, 1967). Shukla e Farooqi (1990) afirmam que reguladores vegetais podem aumentar ou diminuir o teor de óleo essencial e seus constituintes.

Apesar disto, verifica-se que aplicação de AS não influenciou a produção de mentol. Búfalo (2011) verificou que o teor de mentol predominou no óleo essencial de menta, independente dos tratamentos aos quais as plantas foram submetidas.

Conforme a rota metabólica (Figura 11), os principais determinantes da produção final de mentol são a presença de seus precursores (pulegona e mentona) intermediárias de seus subprodutos (BERTEA et al., 2001). No presente estudo, a redução de pulegona e mentona aos 60 e 75 DAT (Tabela 30 e 25), se correlacionou com a redução nos teores de mentol (Tabela 26). Aos 90 DAT, os valores de mentol se mantiveram e provavelmente os elevados teores de mentofurano atuaram desviando a rota de síntese, interferindo no teor de mentol (Tabela 24 e 26) (CROTEAU et al., 2005). Rabak (1917) descreve que o rendimento de óleo em plantas de menta diminui com a maturação, aumentando a porcentagem de ésteres, enquanto o teor de mentol, um importante componente de óleo, está relacionado ao teor desses ésteres.

Figura 11 - Biossíntese dos constituintes do óleo essencial de *Mentha x piperita* L. As enzimas atuantes rota são: 1) limoneno sintase; 2) limoneno-3-hidroxilase; 3) *trans*-isopiperitenol desidrogenase; 4) isopiperitenona redutase; 5) *cis*-isopulegona isomerase; 6) pulegona redutase; 7) *neo*-mentol redutase; 8) mentol desidrogenase; 9) mentofurano sintase; 10) pulegona redutase; 11) *neo*-mentol redutase; 12) mentona redutase. O local de atuação das enzimas metabólicas está indicado entre parênteses. Fonte: Croteau et al. (2005) e Rios-Esteva et al. (2008) citados por Búfalo (2011).

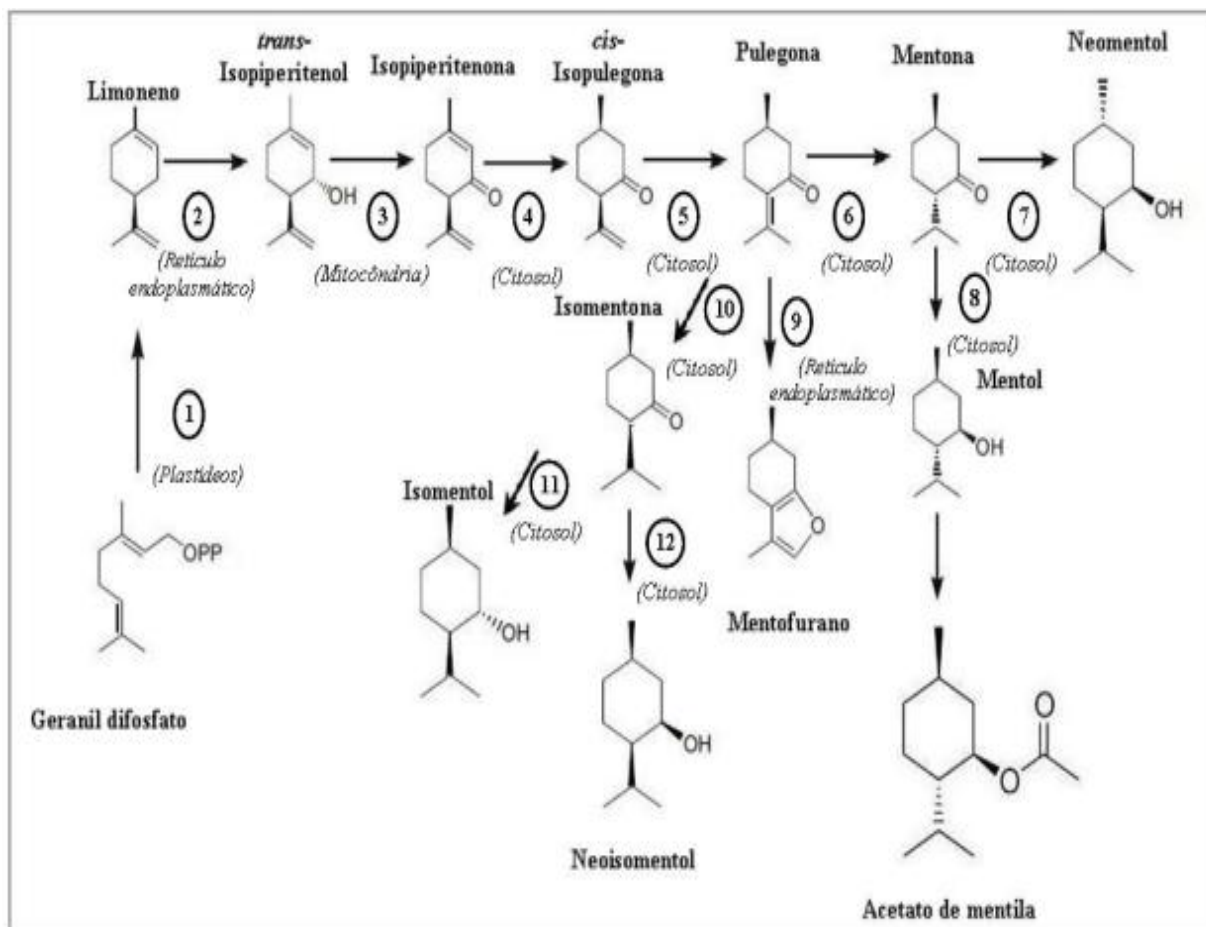


Tabela 26 - Análise de variância e comparação entre médias de mentol nos voláteis de plantas de *Mentha x piperita* L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016

Análise de variância (teste F)					
Ácido salicílico (AS)	Colheita			AS x Colheita	
1,18 ^{ns}	48,90 ^{**}			0,79 ^{ns}	
^{ns} = não significativo					
^{**} = significativo ao nível de 1% de probabilidade					
Comparação entre médias (teste Tukey)					
Ácido salicílico (mg L ⁻¹)	Colheita (dias após transplante)				Médias
	45	60	75	90	
0	14,36	5,75	6,15	6,65	8,23 A
75	16,25	5,97	5,19	3,57	7,74 A
150	14,96	3,90	6,46	2,79	7,03 A
225	19,18	5,95	6,13	4,96	9,06 A
Médias	16,19 A	5,39 B	5,98 B	4,49 B	
CV (%)	33,88				
Dms tratamento dentro colheita = 6,00			Dms colheita dentro tratamento = 6,00		

Acetato de mentila

A comparação de médias, que pode ser observada na tabela 27, revela que não houve interação significativa entre concentração de AS e colheita. A aplicação de AS não influenciou na produção de acetato de mentila.

O acetato de mentila é sintetizado a partir da rota do mentol. Neste caso, níveis elevados de mentol, provavelmente elevem os teores de acetato de mentila. No entanto, na presente pesquisa, os baixos valores de mentol não interferiram na elevação dos valores acetato de mentila (Tabela 26 e 27), além disso, elevados teores de mentona podem aumentar os de acetato de mentila, mas são poucas as evidências experimentais que sugerem esterificação de acetato de mentila pela redução de mentona (SCRAVONI et al., 2005).

De Fazio (2011), estudando o metabolismo de cálcio e Zheljazkov e Margina (1996), avaliando doses crescentes de aplicação de fertilizantes em menta verificaram em seus estudos realizados com plantas medicinais aumento de acetato de mentila, enquanto Marotti et al. (1993) avaliando o ciclo de desenvolvimento de plantas de *M.*

piperita, verificaram diminuição de acetato de mentila. Nos estudos, os pesquisadores afirmaram que a estação de cultivo e o comprimento do dia interferem na composição do óleo. Reitsma et al. (1961) referem que além da idade das plantas de menta, condições de dias longos, aumenta acetato de mentila, alterando o sabor da essência destilada dessas plantas.

Scravoni et al. (2005) atribuíram elevação de acetato de mentila à presença de elementos disponibilizados em níveis acima dos requeridos, o não florescimento da espécie e condições inadequadas de fotoperíodo e de temperatura.

Tabela 27- Análise de variância e comparação entre médias de acetato de mentila nos voláteis de plantas de *Mentha x piperita* L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016

Análise de variância (teste F)					
Ácido salicílico (AS)	Colheita			AS x Colheita	
1,10 ^{ns}	99,67 ^{**}			1,62 ^{ns}	
^{ns} = não significativo					
^{**} = significativo ao nível de 1% de probabilidade					
Comparação entre médias (teste Tukey)					
Ácido salicílico (mg L ⁻¹)	Colheita (dias após transplante)				Médias
	45	60	75	90	
0	14,01	30,21	39,60	13,81	24,41 A
75	7,73	37,09	38,67	3,89	21,84 A
150	6,64	33,54	44,33	2,63	21,79 A
225	14,13	32,07	41,64	12,58	25,10 A
Médias	10,62 C	33,23 B	41,06 A	8,23 C	
CV (%)	24,36				
Dms tratamento dentro colheita=12,53			Dms colheita dentro tratamento =12,53		

Neo-acetato de mentila

A comparação de médias, que pode ser observada na tabela 28, revela que não houve interação significativa entre concentração de AS e colheita. A aplicação de AS não influenciou na síntese de *neo*-acetato de mentila.

Considerando as épocas de colheitas, percebe-se que aos 60 e 75 DAT, as plantas apresentaram maiores valores de *neo*-acetato de mentila, em comparação as plantas das demais épocas (Tabela 28). De Fazio (2011) afirma que a variação dos componentes do óleo essencial de menta pode ocorrer de acordo com a época de avaliação.

A inexistência de estudos que avaliem a influência da aplicação de AS no teor de neo-acetato de mentila de plantas medicinais e aromáticas, impede a comparação dos resultados obtidos na presente pesquisa com de outros autores. Uma vez mais, deve ser registrado que as condições de cultivo podem em interação com outras condições ter influenciado o perfil químico de substâncias voláteis.

Tabela 28 - Análise de variância e comparação entre médias de neo-acetato de mentila nos voláteis de plantas de *Mentha x piperita* L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016

Análise de variância (teste F)					
Ácido salicílico (AS)		Colheita		AS x Colheita	
0,41 ^{ns}		19,59 ^{**}		1,47 ^{ns}	
^{ns} = não significativo					
^{**} = significativo ao nível de 1% de probabilidade					
Comparação entre médias (teste Tukey)					
Ácido salicílico (mg L ⁻¹)	Colheita (dias após transplante)				Médias
	45	60	75	90	
0	1,11	2,03	2,78	1,14	1,76 A
75	0,42	4,25	3,77	0,25	2,17 A
150	0,31	2,53	4,05	0,21	1,77 A
225	0,85	4,05	2,48	1,05	2,10 A
Médias	0,674 B	3,218 A	3,270 A	0,666 B	
CV (%)	59,42				
Dms tratamento dentro colheita = 2,57			Dms colheita dentro tratamento = 2,57		

1,8 cineol

A comparação de médias, que pode ser observada na tabela 29, revela que não houve interação significativa entre concentração de AS e colheita. A aplicação de AS não influenciou o teor de 1,8 cineol.

Esse resultado discorda dos observados por Nourafcan et al. (2014) que verificaram aplicação exógena de 10 mM de AS em cidrão (*L. citriodora*) melhorou o rendimento e o teor de óleo e concentrações iguais a 2,5 e 5 mM aumentaram os valores de 1,8 cineol, γ -terpinene, terpinolene, óxido de *cis*-limoneno e α -terpineol. Concentrações mais elevadas reduziram o teor de β -pineno. Os pesquisadores

observaram ainda que aplicação de até 10 mM de AS aumentou a quantidade de outros compostos (acetato de terpinila, acetato de geranilo, *E*-cariofileno, γ -elemeno e α -humuleno). Wise et al. (1998) afirmam que 1,8 cineol é produzido pelas plantas como mecanismo de defesa contra ataque de pragas, patógenos e herbívoros.

Tabela 29 - Análise de variância e comparação entre médias de 1,8 cineol nos voláteis de plantas de *Mentha x piperita* L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016

Análise de variância (teste F)					
Ácido salicílico (AS)	Colheita				AS x Colheita
1,13 ^{ns}	12,36 ^{**}				0,81 ^{ns}
^{ns} = não significativo					
^{**} = significativo ao nível de 1% de probabilidade					
Comparação entre médias (teste Tukey)					
Ácido salicílico (mg L ⁻¹)	Colheita (dias após transplante)				Médias
	45	60	75	90	
0	1,45	1,41	1,41	0,50	1,19 A
75	1,84	0,95	1,09	0,57	1,11 A
150	1,72	0,95	0,78	0,41	0,96 A
225	1,81	1,83	1,06	0,60	1,32 A
Médias	1,70 A	1,28 AB	1,08 B	0,52 C	
CV (%)	42,23				
Dms tratamento dentro colheita = 1,07			Dms colheita dentro tratamento = 1,07		

Pulegona

A comparação de médias, que pode ser observada na tabela 30, revela que não houve interação entre concentração de AS e colheita. A aplicação de AS não influenciou a produção de mentofurano.

Na biossíntese do óleo essencial de menta a pulegona participa da rota metabólica de biossíntese dos monoterpenos e é convertida a mentofurano ou mentona e então a mentol (MARCUM; HANSON, 2006). Na presente pesquisa, foram registrados teores de pulegona inferiores aos encontrados em estudo desenvolvido por Búfalo (2011), ou seja, 3,64% de pulegona, o que pode ser explicado pela rota metabólica (Figura 11) e baixos teores de limoneno podem reduzir os de pulegona (Tabela 31 e 30).

Em relação às épocas de colheitas, verifica-se aos 60 e 75 DAT, tendência de queda dos teores de pulegona. Aos 90 DAT novo aumento de pulegona foi identificado, quando as folhas brotaram e estavam mais jovens (Tabela 30).

Tabela 30 - Análise de variância e comparação entre médias de pulegona nos voláteis de plantas de *Mentha x piperita* L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016

Análise de variância (teste F)		
Ácido salicílico (AS)	Colheita	AS x Colheita
1,35 ^{ns}	21,34 ^{**}	1,32 ^{ns}
^{ns} = não significativo		
^{**} = significativo ao nível de 1% de probabilidade		

Comparação entre médias (teste Tukey)					
Ácido salicílico (mg L ⁻¹)	Colheita (dias após transplante)				Médias
	45	60	75	90	
0	1,06	0,38	0,21	1,06	0,68 A
75	1,38	0,16	0,11	2,78	1,11 A
150	1,54	0,27	0,13	3,08	1,25 A
225	1,79	0,40	0,14	1,87	1,05 A
Médias	1,44 A	0,30 B	0,15 B	2,20 A	
CV (%)	71,12				
Dms tratamento dentro colheita = 1,61			Dms colheita dentro tratamento = 1,61		

4.5.2 Hidrocarbonetos monoterpênicos

Limoneno

A comparação de médias, que pode ser observada na tabela 31, revela que houve interação entre concentração de AS e colheita. A aplicação de AS não interferiu no teor de limoneno.

O limoneno é um dos mais abundantes monoterpenos encontrados na natureza. Ocorre em uma variedade de plantas e ervas, incluindo *Mentha spp.* É componente majoritário dos óleos das cascas de limão e laranja e do OE de alcarávia (DEMYTTENAERE; KIMPE, 2001). Esse componente é muito utilizado na indústria como aroma em alimentos, perfumes e produtos de limpeza, na fabricação de

resinas de polietileno, de adesivos e borrachas, flavorizante e aditivo para combustível (LOPES et al., 2011).

Tabela 31 - Análise de variância e comparação entre médias de limoneno nos voláteis de plantas de *Mentha x piperita* L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016

Análise de variância (teste F)		
Ácido salicílico (AS)	Colheita	AS x Colheita
0,31 ^{ns}	7,11 ^{**}	3,12 ^{**}

^{ns} = não significativo

^{**} = significativo ao nível de 1% de probabilidade

Comparação entre médias (teste Tukey)					
Ácido salicílico (mg L ⁻¹)	Colheita (dias após transplante)				Médias
	45	60	75	90	
0	2,08 abA	1,66 aA	1,40 aA	2,37 aA	1,88
75	1,30 bB	1,74 aAB	1,46 aB	2,63 aA	1,79
150	1,66 bA	1,72 aA	1,58 aA	2,68 aA	1,91
225	2,88 aA	2,33 aAB	1,10 aC	1,65 aBC	1,99
Médias	1,98	1,86	1,39	2,33	
CV (%)	26,64				
Dms tratamento dentro colheita = 1,11			Dms colheita dentro tratamento = 1,11		

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si ao nível de 1% de probabilidade. As letras minúsculas nas colunas comparam médias de diferentes concentrações de ácido salicílico e as maiúsculas nas linhas comparam médias das épocas de colheitas.

4.5.3 Análise dos componentes principais e dendograma

Na Figura 12, podem ser observados os resultados da análise dos componentes principais (PCA) do perfil químico de substâncias voláteis de plantas de *M. x piperita* cultivadas com aplicação de diferentes concentrações de ácido salicílico (AS), aos 45, 60, 75 e 90 dias após transplante. Para tanto, os dados foram submetidos à análise multivariada, pela técnica de PCA e análises de cluster aglomerativa hierárquica (CAH) (algoritmo UPGMA, índice de similaridade, coeficiente de correlação de Pearson), correlacionando e agrupando as substâncias com teores acima de 1%, pulegona (1,02%), 1,8 cineol (1,15%), limoneno (1,89%), neo-acetato de mentila (1,95%), mentol (8,01%), mentona (8,49%), acetato de mentila (23,28%) e mentofurano (49,93%).

A PCA é um método exploratório que auxilia no processamento de informação com objetivo de verificar a variância presente em um determinado conjunto de dados

usando um pequeno número de “variáveis”. A PCA mapeia as amostras por meio de seus valores e as variáveis estudadas em um novo espaço definido pelo componente principal (CARDOSO et al., 2003). A distância entre pontos (amostras ou variáveis) reflete a similaridade de suas propriedades, portanto quanto mais próximos estiverem os pontos no espaço amostral, mais similares elas são (BUSSAD et al., 1990).

No presente trabalho, a PCA foi aplicada para agrupar as informações de valores da proporção relativa das substâncias principais presentes no perfil químico de substâncias voláteis de plantas de menta, cultivadas no mesmo local, na ausência e presença de diferentes concentrações de AS, em diferentes épocas.

Na Figura 12, verifica-se que a partir da PCA foi possível apresentar quimicamente as amostras em dois eixos com 84,17% da variação total acumulada, sendo 57,63% para eixo F1 e 26,54% para eixo F2. Nota-se que a época 1 aproximou as diferentes concentrações de AS, em virtude da presença de mentol. No final de ciclo da espécie as substâncias mentona, mentofurano, limoneno e pulegona foram responsáveis pelo agrupamento das diferentes concentrações. As épocas 2 e 3 agruparam as substâncias representadas por acetato de mentila e *neo*-acetato de mentila, independentemente das concentrações.

O 1,8 cineol apresenta dispersão em relação aos demais grupos, provavelmente devido às condições experimentais do presente estudo (Figura 12).

O agrupamento pelo método UPGMA resultou em um dendograma (Figura 13), em que as substâncias foram separadas em três clusters, com características semelhantes, obedecendo à mesma relação de similaridade de teor das substâncias presentes no perfil químico de substâncias voláteis. O cluster verde é caracterizado pela presença de mentol, o vermelho pela presença de mentona, mentofurano, limoneno e pulegona e o cluster azul pela presença de acetato de mentila e *neo*-acetato de mentila.

Na Figura 13 é possível constatar, similaridade da composição química das substâncias voláteis em cada cluster específico, demonstrando que existe semelhança entre as mesmas. Além disso, é possível aproximar as substâncias de clusters diferentes, como observado entre os grupos representados pelas cores

verde e vermelha. No cluster azul, as épocas 2 e 3, respectivamente, com 75 mg L^{-1} e 150 mg L^{-1} de AS, apresentaram deslocadas.

Os resultados da PCA e do dendograma (Figura 12 e 13) comprovam a eficiência da metodologia PCA para o estudo em questão, devido à correlação dos resultados. Pela análise das dispersões gráficas dos componentes principais é possível verificar também que os cruzamentos mais similares entre si ficaram em posições próximas, formando grupos semelhantes aos do dendograma. Ferraudo (2014) reforça a ideia de que embora a análise de agrupamentos seja uma metodologia bastante simples e a análise de componentes principais mais complexa espera-se adequada concordância entre resultados, devendo uma ser utilizada em complemento à outra.

Figura 12 - Análise dos Componentes Principais das substâncias voláteis (%), de plantas de *Mentha x piperita* L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016

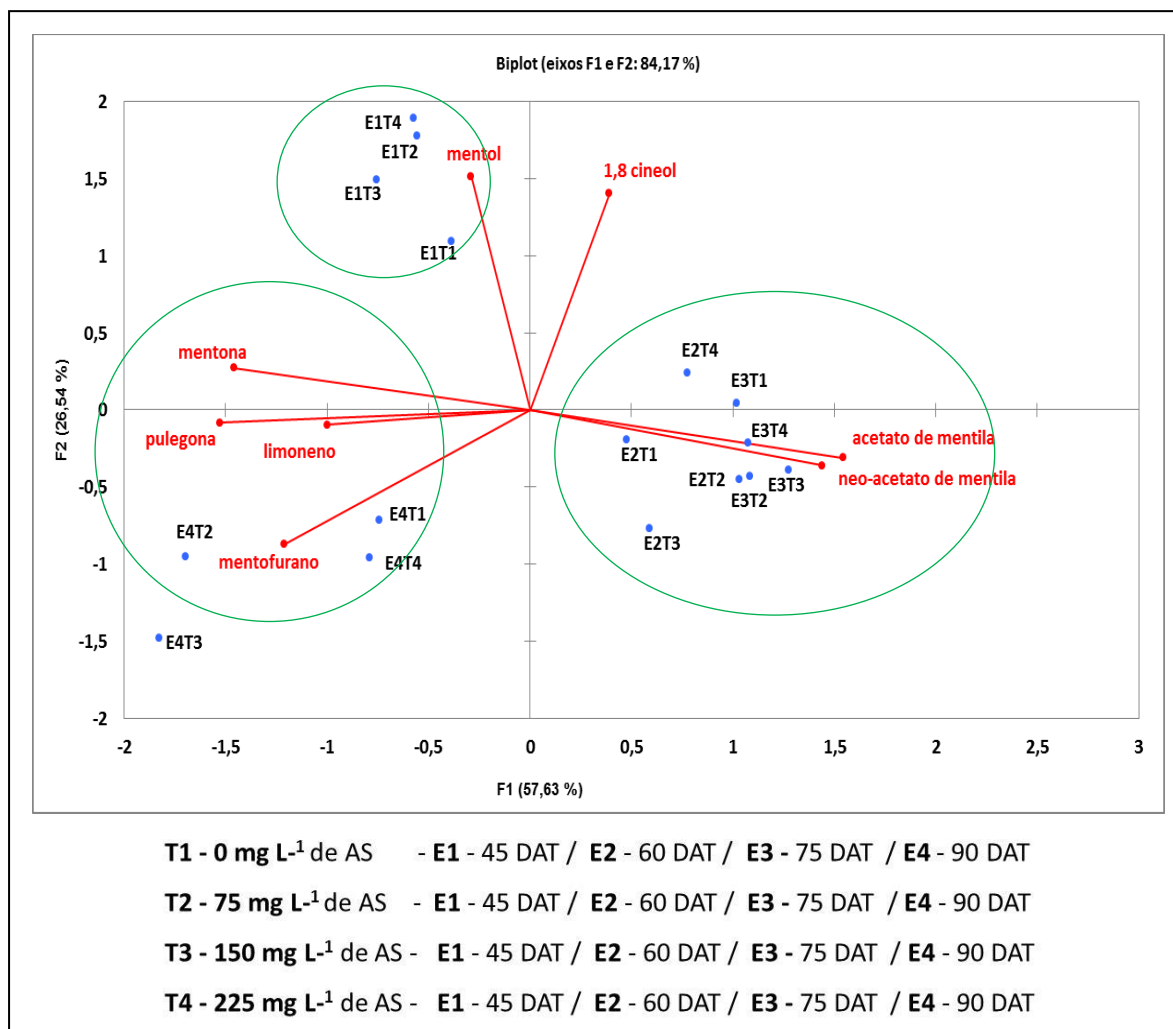
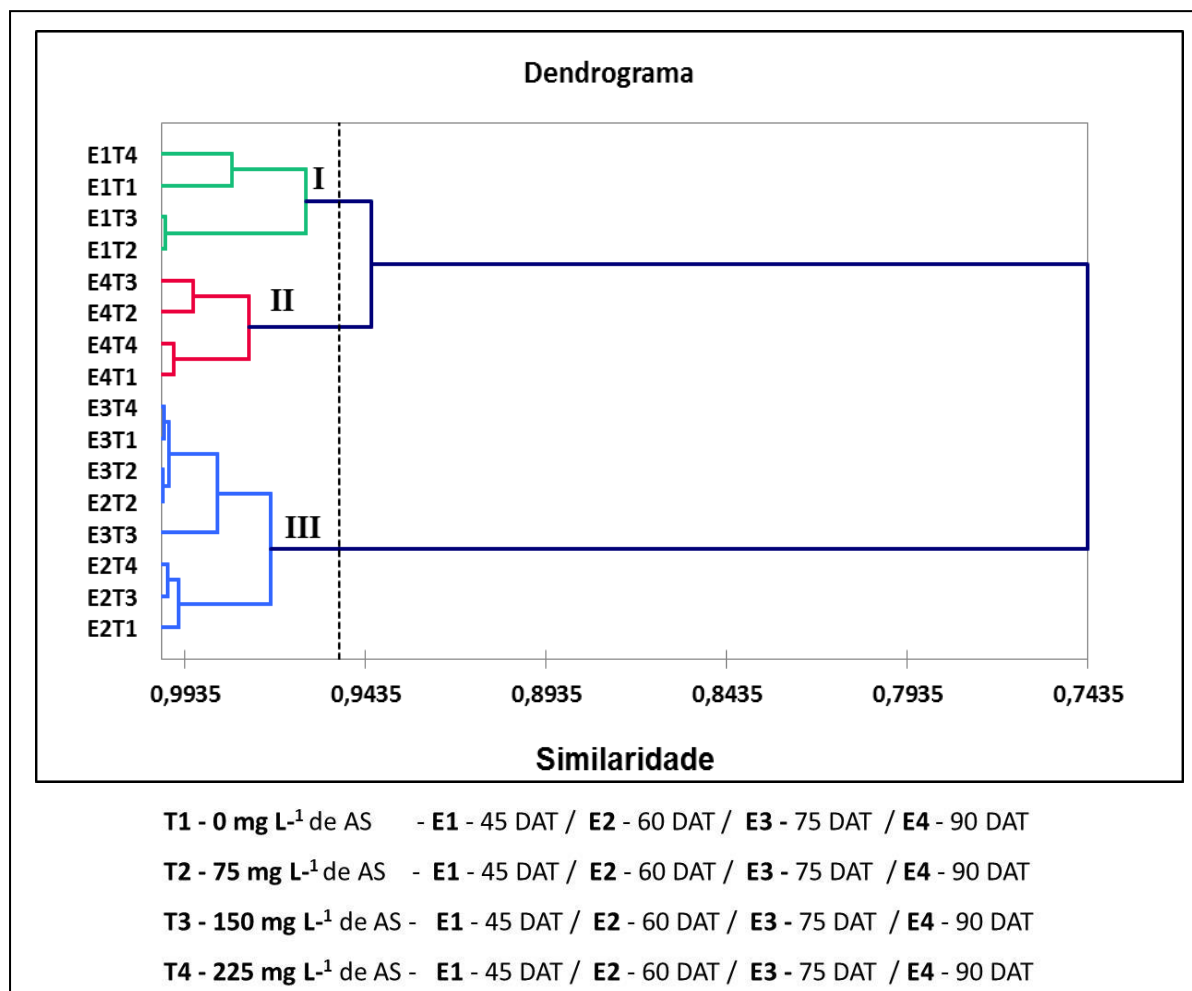


Figura 13 - Dendrograma obtido pela análise de Cluster Aglomerativa Hierárquica (CAH) em relação à proporção relativa média das substâncias voláteis (%), de plantas de *Mentha x piperita* L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas, definido pelo agrupamento UPGMA. Botucatu, 2016



5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O consumo de plantas medicinais ou de medicamentos à base dessas plantas vem aumentando desde há muito tempo em todas as classes sociais, em virtude do elevado custo dos medicamentos sintéticos e de seus efeitos colaterais (CUNHA et al., 2003; JUNIOR; PINTO, 2005).

No entanto, quando se considera a produção de óleo essencial de menta deve ser registrada a insuficiência para atender demanda da indústria nacional e da medicinal tradicional. Apesar disto, no tocante aos aspectos agronômicos, as pesquisas e o uso de novas tecnologias na produção de menta continuam insuficientes também. Para tentar solucionar tais questões, esforços têm sido realizados na busca de tecnologias que aliem rendimento e qualidade de princípios ativos de plantas medicinais (DAVID et al., 2006; PACHECO et al., 2013).

A indução de rotas biossintéticas utilizando elicitores biológicos talvez represente tecnologia recente e viável, apesar de serem poucos os estudos sobre aplicação de elicitores biológicos em plantas, especialmente nas medicinais, produtoras de compostos naturais de elevado valor medicinal e econômico (BAENAS et al., 2014; SILVA et al., 2014).

Nesse sentido, sendo o ácido salicílico (AS) utilizado como indutor de defesa em plantas e embora pouco se saiba sobre sua ação elicitora na biossíntese de compostos do metabolismo especializado e na produtividade vegetal, talvez seja uma alternativa para aumentar rendimento e qualidade de óleo essencial (SAHARKHIZ; GOUDARZI, 2014).

No presente estudo a aplicação de AS para testar sua ação elicitora, em plantas de menta, não influenciou, ou mesmo, apresentou influência positiva e negativa em variáveis de desenvolvimento, índices fisiológicos, trocas gasosas, pigmentos, fenóis totais e produção de substâncias voláteis, condição que muitas vezes se revelou dependente da concentração de AS a que as plantas foram submetidas, ou até mesmo da fase do ciclo em que se encontravam as plantas.

A aplicação de 75 mg L⁻¹ de AS em plantas de menta não influenciou a produção de folhas, área foliar e massa seca de folhas e total, embora tenham sido

identificadas taxas assimilatória líquida e de crescimento relativo compatíveis com crescimento mais rápido ao longo do tempo, resultados confirmados pela elevação das taxas de assimilação de CO₂, carboxilação, condutância estomática e eficiência de uso de água, embora com elevada taxa de transpiração. Esses resultados de melhores índices de desenvolvimento, sem, no entanto, melhorar produção, podem ser explicados pela alteração observada nos compostos resultantes do metabolismo especializado, como antocianinas. Considerando-se, portanto, a utilização das plantas medicinais nos medicamentos ou *in natura*, aplicação dessa concentração de AS pode trazer benefícios, que precisam ser confirmados, aumentando inclusive o teor de antocianinas, associadas à proteção, combatendo radicais livres.

A aplicação de 150 mg L⁻¹ de AS em plantas de menta, de maneira geral, não aumentou produção de folhas, matéria seca e área foliar. Houve maior assimilação e uso de CO₂.

A aplicação de 225 mg L⁻¹ de AS em plantas de menta resultou em rápido declínio de taxa assimilatória líquida e de crescimento relativo até os 75 DAT, quando a rebrota de folhas levou à elevação dessas taxas. Aos 45 DAT, essa concentração também elevou a taxa de assimilação mediada pela atividade da rubisco, o que resultou de maneira geral em maior eficiência de uso de água, indicando ajustes de possíveis perdas decorrentes do aumento da transpiração. Nessas plantas aos 45 DAT verificou-se elevado teor de fenóis totais e aos 60 e 90 DAT de antocianinas. Considerando-se, portanto, a utilização das plantas medicinais nos medicamentos ou *in natura*, aplicação dessa concentração de AS pode trazer benefícios, que precisam ser confirmados, aumentando o teor de antocianinas, associadas à proteção, combatendo radicais livres.

Deve-se destacar, que independentemente das concentrações aplicadas de AS elevados teores de mentofurano e acetato de mentila foram verificados entre as substâncias voláteis. Este fato pode ser explicado com base no material vegetal estudado, com potencial genético para produzir óleo com predominância de mentofurano e acetato de mentila. Além disso, esses elevados teores estão associados à época de colheita, brotação de folhas e o fotoperíodo.

Por fim, apesar de não se ter evidenciado efeitos elicitores de AS na produção de substâncias voláteis, a aplicação de AS em plantas de menta representa uma técnica promissora, uma vez que, eleva mesmo que discretamente índices fisiológicos de crescimento e incrementa as trocas gasosas. De forma geral, pode-se

sugerir a menor concentração de AS, igual a 75 mg L^{-1} para incrementar trocas gasosas e aumentar as concentrações de antocianinas nas plantas pulverizadas.

6 CONCLUSÕES

Nas condições do presente estudo realizado com *Mentha x piperita* L., cultivada com aplicação de ácido salicílico, conclui-se que:

- ✓ A aplicação de ácido salicílico influenciou o metabolismo primário, elevando as trocas gasosas, que de forma geral, não resultou em maior produtividade das plantas.
- ✓ A aplicação de ácido salicílico influenciou o metabolismo especializado, em aspectos das rotas de síntese de antioxidantes.

REFERÊNCIAS

- ABDOLLAHI, M.; JAFARPOUR, M.; ZEINALI, H. Effect of various Salicylic Acid concentrations on growth of *Aloe vera* L. **International Journal of AgriScience**, v. 1, n. 5, p. 311-313, 2011.
- ADAMS, R. P. **Identification of Essential Oils Components by Gas Chromatography/ Mass Spectroscopy**. 4. ed. Carol Stream: Allured, 2007. 469 p.
- ADAMS R. P. **Identification essential oil components by gas chromatography/mass epectrometry**. 4ta ed. Angela C Kozlowski ISBN: 978-1-932633-21-4, 2009.
- ADDOR, R. W. Inseticida. In: GODFREY, C.R.A. (Ed.). **Agrochemicals from natural products**. New York: Marcel Dekker, 1994.
- AFLATUNI, A. **The yield and essential oil content of mint (*Mentha* spp.) in northern ostrobothnia**. 2005. 50p. Dissertation (Academic) – University of Oulu, Oulu.
- AFTAB, T. et al. role of salicylic acid in promoting salt stress tolerance and enhanced artemisinin production in *Artemisia annua* L. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 30, n. 4, p. 425-435, 2011.
- AGOSTINI, E. A. T.; MACHADO-NETO, N. B.; CUSTÓDIO, C. C. Induction of water deficit tolerance by cold shock and salicylic acid during germination in the common bean. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 35, n. 2, p. 209-219, 2013.
- ALBRECHT, L. P. et al. Manejo de biorregulador nos componentes de produção e desempenho das plantas de soja. **Bioscience Journal**, v. 27, n. 6, p. 865-876, 2011.
- ALI, M. B.; HAHN, E. J.; PAEK, K. Y. Methyl jasmonate and salicylic acid induced oxidative stress and accumulation of phenolics in *Panax ginseng* bioreactor root suspension cultures. **Molecules**, v. 12, p. 607-621, 2007.
- ALI, G. A.; JAAFAR, H. Z. E.; KARIMI, E. Involvement of Salicylic Acid on Antioxidant and Anticancer Properties, Anthocyanin Production and Chalcone Synthase Activity in Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) Varieties. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, p. 14828-14844, 2012.
- ALVARENGA-MELO, R. C. Plantas medicinais, óleos essenciais e aromas. Parte I: Definições. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 2, n. 2, p. 193 - 200, 2005.

AMARO, A. C. E. et al. Influência de alguns fungicidas nas trocas gasosas e produção de plantas de pepino japonês enxertadas e não enxertadas, em condições de ambiente protegido. **Horticultura Brasileira**, v. 27, p. 1964 - 1970, 2009.

AMARO, A. C. E. **Efeitos fisiológicos de fungicidas no desenvolvimento de plantas de pepino japonês enxertadas e não enxertadas, cultivadas em ambiente protegido**. 2011. 86 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia (Horticultura)) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu.

ANANIEVA, E. A.; ALEXIEVA, V. S.; POPOVA, L. P. Treatment with salicylic acid decreases the effects of paraquat on photosynthesis. **Journal of Plant Physiology**, v. 159, p. 685 - 693, 2002.

ANDRADE, A.C. et al. Análise de crescimento do capim-elefante 'Napier' adubado e irrigado. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, p.415-423, 2005.

ANTONIAZZI, N. **Desenvolvimento de cevada em resposta ao uso de elicitores para o controle de *Bipolaris sorokiniana***. 2005. 63 f. Dissertação (Agronomia/Produção Vegetal) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

ANTONIAZZI, N.; DESCHAMPS, C. Análise de crescimento de duas cultivares de cevada após tratamentos com elicitores e fungicidas. **Ciência Rural**, v.36, n. 4, p.1065-1071, 2006.

ASKARI, E.; EHSANZADEH, P. Drought stress mitigation by foliar application of salicylic acid and their interactive effects on physiological characteristics of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) genotypes. **Acta Physiol Plant**, v. 37, n 4, p. 1-14, 2015.

ASMAR, S. A. et al. Citocininas na multiplicação *in vitro* de hortelã-pimenta (*Mentha x Piperita* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, p. 533-538, 2011.

BAENAS, N.; GARCÍA-VIGUERA, C.; MORENO, D. A. Elicitation: A Tool for Enriching the Bioactive Composition of Foods. **Molecules**, v. 19, p. 13541-13563, 2014.

BARBIERI-JUNIOR, D. et al. Análise de crescimento de *Hymenaea courbaril* L. sob efeito da inoculação micorrizica e adubação fosfatada. **Revista de ciências agro-ambientais**, v. 5, n. 1, p.1-15, 2007.

BARON, D. **Desenvolvimento de plantas jovens de *Annona emarginata* (SCHLTDL.) H. Rainer (Araticum-de-terra-fria) cultivadas em solução nutritiva**. 2010. 111 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu, Botucatu.

BEALE, S. Enzymes of chlorophyll biosynthesis. **Photosynthesis Research**, v. 60, n. 1, p. 43-73, 1999.

BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas (noções básicas)**. Jaboticabal: Fundação Nacional de Ensino e Pesquisa, 2003. 41p.

- BERNARDES, M. S. **Fotossíntese no dossel das plantas cultivadas**. In: CASTRO, P. R. C. *Ecofisiologia da produção agrícola*. Piracicaba: POTAFOS, 1987. p. 13-48.
- BERTEA, C. M. et al. Demonstration that menthofuran synthase of mint (*Mentha*) is a cytochrome P450 monooxygenase: cloning, functional expression, and characterization of the responsible gene. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 390, n. 2, p. 279-286, 2001.
- BERRY, J. A.; DOWNTON, W. J. S. Photosynthetic response and adaptation to high temperature in desert plants. **Plant Physiology**, v. 75, p. 364-368, 1983.
- BHAGWATH, S. G.; HJORTS, M. A. Statistical analysis of elicitation strategies for thiarubrine a production in hairy root cultures of *Ambrosia artemisiifolia*. **Journal of Biotechnology**, v. 80, p.159-167, 2000.
- BLAINSKI, A.; LOPES, G. C.; MELLO, J. C. P. Application and analysis of the folin ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *Limonium brasiliense* L. **Molecules**, v. 18, n. 6, p. 6852–6865, 2013.
- BONAGA, G.; PALLOTTA, U.; SYRGHI, K. Influenza delle sostanze polifenoliche sulla qualità dei vini bianchi. **Parte prima. Vini d'Italia, Brescia**, v.4, p.13-30, 1990.
- BORSATTI, F. C. et al. Indução de resistência e qualidade pós-colheita de amora-preta tratada com ácido salicílico. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 37, n. 2, p. 318-326, 2015.
- BRANDÃO FILHO, J. U. T. et al. Influência da enxertia nas trocas gasosas de dois híbridos de berinjela cultivados em ambiente protegido. **Horticultura Brasileira**, v. 21, n. 3, p. 474-477, 2003.
- BRANDÃO, I. R. **Ácido salicílico como elicitor abiótico no cultivo *in vitro* de plantas de *Alternanthera tenella*** Colla. 2012. 49 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal. Instituto de Biologia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft Technologie**, v. 28, p. 25-30, 1995.
- BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira**. 5ª ed., v. 2. Brasília, 2010. 546p.
- BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. **Nutrition Reviews**, v. 56, n. 11, p. 317-38, 1998.

BROUILLARD, R. **Em Anthocyanins as food colors**; Markakis, P., ed.; Academic Press: New York, 1982, cap. 1.

BÚFALO, J. **Efeito alelopático de extrato de *Leonurus sibiricus* L. em *Mentha piperita* L. Desenvolvimento, trocas gasosas e metabólitos secundários**. 2011. 103 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Horticultura) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

_____. et al. Composition of essential oil peppermint cultivated with methanolic extract of *Leonurus sibiricus* L. leaves. **The Journal of Essential Oil Research**, v. 26, p. 1-7, 2014.

_____. *Mentha x piperita* L., *Ocimum basilicum* e *Salvia Deserta* (Lamiaceae): **abordagens fisiológicas e fitoquímicas**. 2015. 101 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas (Botânica)) - Instituto de Biociências de Botucatu, Botucatu.

BURBOTT, A. J.; LOOMIS, W. D. Effects of light and temperature on the monoterpenes of peppermint. **Plant Physiology**, v. 42, n.1, p. 20-8, 1967.

BUSSAD, W. O.; MIAZAKI, E. S.; ANDRADE, D. F. **Introdução à análise de agrupamentos**. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE PROBABILIDADE E ESTATÍSTICA, 9., São Paulo, 1990. 105 p.

CAEMMERER, S. V.; FARQUHAR, G. D. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. **Planta**, v. 153, p. 376-387, 1981.

CAG, S. et al. Effect of salicylic acid on pigment, protein content and peroxidase activity in excised sunflower cotyledons. **Pakistan Journal of Botany**, v. 41, p. 2297-2303, 2009.

CAIRO, P. A. R. et al. Atividade da rubisco e das enzimas de síntese e hidrólise de atividade da rubisco e das enzimas de síntese... 369 sacarose, associada à produtividade de látex, em clones de seringueira [*Hevea brasiliensis* (Willd ex. Adr. de Juss.) Muell.-Arg] cultivados em Lavras, MG. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, n. 2, p. 369-376, 2009.

CAMILO, J. S. et al. Produção agronômica de *Ocimum basilicum* L. em casa de vegetação e a campo na época primavera-verão. **Revista Horticultura Brasileira**, v. 27, p. 4101-4106, 2009.

CAMPOS, F. G. *Annona emarginata* (SCHLTDL.) H. RAINER 'Araticum-de Terra-Fria' **cultivada com variação de nitrogênio: produtividade e perfil químico dos voláteis foliares**. 2014. 83 f. Dissertação (Agronomia (Horticultura)) - Faculdade de Ciências Agronômicas, Botucatu.

CARDOSO, D. R. et al. Influência do material do destilador na composição química das aguardentes de cana. PARTE II. **Química Nova**, v. 26, n. 2, p. 165-169, 2003.

CARMELLO, Q. A. C. **Hidroponia**. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS, 20, 1992, Piracicaba. Anais... Piracicaba: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo – Escola Superior de Agricultura “Luís de Queiroz” – CENA, 1992, 355-68 p.

CARVALHO, L. M.; COSTA, J. A. M.; CARNELOSSI, M. A. G. **Qualidade em plantas medicinais**. Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2010. 54 p. (Documentos / Embrapa Tabuleiros Costeiros, ISSN 1517-1329; 162). Disponível em: <http://www.cpatc.embrapa.br/publicacoes_2010/doc_162.pdf>. Acesso em: 03 julh. 2016.

CARVALHO JÚNIOR, G. S. **Aplicações isoladas e conjuntas de ácido giberélico e ácido salicílico na mamoneira, cultivar BRS energia**. 2013. 48 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias), Centro de Ciências Humanas e Agrárias, Universidade Estadual da Paraíba, Areias.

CASTRO, H. G. et al. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais – Metabólitos secundários**. 2 ed. Visconde do Rio Branco:[s.n.], 2004, 113 p.

CERIMELE, E.; RINGUELET, J. A. Aspectos agronômicos da produção de espécies aromáticas. In: BANDONI, A. L.; CZEPACK, M. P. Os recursos vegetais aromáticos no Brasil: seu aproveitamento industrial para a produção de aromas e sabores. Vitória, ES: EDUFES, 2008. 623 p.

CHAPARZADEH, N.; HOSSEINZAD-BEHBOUD, E. Evidence for Enhancement of Salinity Induced Oxidative Damages by Salicylic Acid in Radish (*Raphanus sativus* L.). **Journal of Plant Physiology and Breeding**, v. 5, n. 1, p. 23-33, 2015.

CHARLO, H. C. O. **Análise de crescimento e marcha de acúmulo de nutrientes na cultura do pimentão, cultivado em substrato**. 2008. 66p. (Tese mestrado), Faculdade de Ciências Agronômicas e Veterinárias, Jaboticabal.

CHEESEMAN, J. Hydrogen peroxide and plant stress: A challenging relationship. **Plant Stress**, v. 1, p. 4-15, 2007.

COBUCCI, T. et al. Efeitos de reguladores vegetais aplicados em diferentes estágios de desenvolvimento do feijoeiro comum. **Documentos**, IAC, Campinas, 85, 2008. Disponível em. <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/74658/1/243.pdf>>. Acesso em: 03 jan. 2017.

CORRÊA, R. M. et al. Adubação orgânica na produção de biomassa de plantas, teor e qualidade de óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* L.) em cultivo protegido. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.12, n.1, p. 80-89, 2010.

COSTA, A. G. et al. Crescimento vegetativo e produção de óleo essencial de hortela -pimenta cultivada sob malhas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 4, p. 534-540, 2012.

COSTA, R.; R. et al. **Ácido salicílico como atenuador de estresse hídrico em feijão caupi**. **Congresso Técnico Científico da Engenharia e da Agronomia, CONTECC**. 2015. Disponível em: <http://www.confea.org.br/media/Agronomia_acido_salicilico_como_atenuador_de_e_stresse_hidrico_em_feijao-caupi.pdf>. Acesso em: 10 set. 2016.

CROTEAU, R.; KUTCHAN, T. M.; LEWIS, N. G. Natural products (secondary metabolites). In: Buchanam, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES,. (Eds.). **Biochemistry & molecularof plants**. Rockville: Courier Companies, 2000. p. 1250-1318.

CROTEAU, R. B. et al. (-)-Menthol biosynthesis and molecular genetics. **Naturwissenschaften**, v. 92, p. 562-577, 2005.

CROZIER, A. et al. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. **Natural Product Reports**, v. 26, p. 1001-1043, 2009.

CUNHA, A. P. Aspectos históricos sobre plantas medicinais, seus constituintes activos e fitoterapia. In: CUNHA, A. P.; ROQUE, O. R.; SILVA, A. P. **Plantas e produtos vegetais em fitoterapia**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2003. Disponível em:< [http:// antoniopcunha.com.sapo.pt/ahspmscaf.htm](http://antoniopcunha.com.sapo.pt/ahspmscaf.htm)>. Acesso em: 24 jan. 2017.

DANTAS, J. P.; BERGAMIN FILHO, H.; MALAVOLTA, E. Estudos sobre a nutrição mineral do feijão macassar (*Vigna sinensis* (L.) Endl.). I. Deficiências minerais. **Anais... da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, v.36, p.231-245, 1979.

DAVID, E. F. S. **Níveis de fósforo no desenvolvimento e produção de óleo essencial de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva**. 2004. 159 f. Mestrado (Agronomia (Horticultura) - Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP - Campus de Botucatu.

DAVID, E. F. S.; BOARO, C. S. F.; MISCHAN, M. M. Rendimento e composição de óleo essencial de menta (*Mentha x piperita* L.) cultivada em solução nutritiva com diferentes níveis de fósforo. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v 8, n. 4, p. 183-188, 2006.

DAVID, E. F. S.; MISCHAN, M. M.; BOARO, C. S. F. Desenvolvimento e rendimento de óleo essencial de menta (*Mentha x piperita* L.) cultivada em solução nutritiva com diferentes níveis de fósforo. **Revista Biotemas**, v. 20, n. 2, 2007.

DAVID, E. F. S.; BOARO, C. S. F. Translocação orgânica, produtividade e rendimento de óleo essencial de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva com variação dos níveis de N, P, K e Mg. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 11, p. 236-246, 2009.

DAWOOD, M. G.; SADAK, M. S.; HOZAYEN, M. Physiological role of salicylic acid in improving performance, yield and some biochemical aspects of sunflower plant grown under newly reclaimed sandy soil. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 6, n. 4, 82-89 p, 2012.

DAAYF, F.; LATTANZIO, V. Recent Advances in Polyphenol Research. **Blackwell Publishing**, v. 1, p. 1-437, 2008.

DE FAZIO, J. L. **Cálcio e ethephon no desenvolvimento e produção de óleo essencial de menta (*Mentha piperita* L.), cultivada em solução nutritiva**. 2007. 110 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas (Botânica)) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu.

DE FAZIO, J. L.; ZUCARELI, V.; BOARO, C. S. F. Desenvolvimento de *Mentha piperita* L. cultivada em solução nutritiva com diferentes níveis de cálcio. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, p. 420-422, 2007.

DE FAZIO, J. L. ***Mentha piperita* cultivada com variação de cálcio. Trocas gasosas e óleo essencial**. 2011. 101 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas (Botânica)) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão Acadêmica**, v. 5, n. 1, p. 33-40, 2004.

DEL' ALAMO GUARDA, V. M. **Bases ecofisiológicas da assimilação de carbono e suas implicações na produção de forragem**. Palmas: Embrapa Pesca e Aquicultura, 2014. 48 p. : il. color. (Documentos / Embrapa Pesca e Aquicultura, ISSN 2318-1400; 7).

DEMYTTENAERE, J.; KIMPE, N. D. Biotransformation of terpenes by fungi Study of the pathways involved. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 11, p. 265-270, 2001.

DESCHAMPS, C. et al. Avaliação sazonal do rendimento de óleo essencial em espécies de menta. **Ciência & agrotecnologia**, v. 32, n. 3, p. 725-730, 2008.

DIVYA, P.; PUTHUSSERI, B.; NEELWARNE, B. The effect of plant regulators on the concentration of carotenoids and phenolic compounds in foliage of coriander. **Food Science and Technology**, v. 56, n. 1, p. 101-110, 2014.

DOMIJAN, A. M. et al. Seed borne fungi and ochratoxina: A contamination of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Food and Chemical Toxicology**, v. 43, n.3, p. 427-432, 2005.

DORMAN, H. J. D.; DEANS, S. G. Antimicrobial agents from plants: antimicrobial activity of plant volative oils. **Journal of Applied Microbiology**, v. 88, p. 308-316, 2000.

- DOUSSEAU, S. **Ação reguladora de eliciadores nas características bioquímicas, ecofisiológicas, anatômicas e na produção e qualidade de óleo essencial de *Piper mollicomum* Kunth.** 2013. 265 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- DURRANT, W. E.; DONG, X. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, v. 42, p. 185-209. 2004.
- EL-GOHARY, A. E. et al. Evaluation of essential oil and monoterpenes of peppermint (*Mentha piperita* L.) under humic acid with foliar nutrition. **Journal of Materials and Environmental Science**, v. 5, n. 6, p. 1885-1890, 2014.
- ERASLAN, F. et al. Impact of exogenous salicylic acid on the growth, antioxidant activity and physiology of carrot plants subjected to combined salinity and boron toxicity. **Scientia Horticulturae**, v. 113, p. 120-128, 2007.
- FAHAD, S.; BANO, A. Effect of salicylic acid on physiological and biochemical characterization of maize grown in saline area. **Pakistan Journal of Botany**, v. 44, n. 4, p. 1433-1438, 2012.
- FARIAS, A. T. V. **Crescimento e desenvolvimento do algodoeiro em função de doses de silício e ácido salicílico.** 2012. 63 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias), Centro de Ciências Humanas e Agrárias, Universidade Estadual da Paraíba, Areias.
- FAROOQ, M. et al. Drought stress: comparative time course action of the foliar applied glycinebetaine, salicylic acid, nitrous oxide, brassinosteroids and spermine in improving drought resistance of rice. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 196, n. 5, p. 336-345, 2010.
- FAROUK, S.; OSMAN, M. A. The effect of plant defense elicitors on common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) growth and yield in absence or presence of spider mite (*Tetranychus urticae* Koch) infestation. **Journal of Stress Physiology & Biochemistry**, v. 7, n. 3, p. 05-22, 2011.
- FERRAUDO, A. S. **Técnicas de Análise Multivariada – uma introdução.** Treinamento. Jaboticabal, SP, 2014.
- FOYER, C. H.; GALTIER, N. Source-sink interaction and communication in leaves. In: ZAMSKI, E.; SCHAFFER, A. A. (eds.) Photoassimilate distribution in plants and crops. Source-sink relationships. **New York**, 1996. p. 331-340.
- FRANÇA, S. C. Abordagens biotecnológicas para a obtenção de substâncias ativas. In: SIMÕES, C.M.O. et al. (Orgs.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 5.ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC. 2004. Cap. 7, p. 123-146.
- FRANCO, J. **Prospecção fitoquímica e análise e microbiológica do óleo essencial de *Eucalyptus cinerea* F.v. Muell. Ex. Benth./Myrtaceae.** 2005. 85 f. (Doutorado em Ciências Farmacêutica) - Programa de Pós-graduação em Ciências

Farmacêuticas. Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

GARCÍA-BRUGGER, A. et al. Early signaling events induced by elicitors of plant defenses. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 19, p. 711-724, 2006.

GARLET, T. M. B. et al. Produção de folhas, teor e qualidade do óleo essencial de hortelã-japonesa (*Mentha arvensis* L. forma piperascens Holmes) cultivada em hidroponia. **Revista Brasileira de Planta Medicinal**, v. 9, n. 4, p. 72-79, 2007.

GARLET, T. M. B.; SANTOS, O. S. Solução nutritiva e composição o mineral de três espécies de menta cultivadas no sistema hidropônico. **Ciência Rural**, v.38, n.5, p.1233-1239, 2008.

GHASEMZADEH, A.; JAAFAR, H. Z. E. Interactive Effect of Salicylic Acid on Some Physiological Features and Antioxidant Enzymes Activity in Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). **Molecules**, v. 18, p. 5965-5979, 2013.

GOBBO NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GONÇALVES, K. S. **Aplicação de reguladores vegetais e de fosfito de potássio em mudas de eucalipto submetidas à deficiência hídrica**. Botucatu, 2013. 66 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Irrigação e Drenagem) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

GONÇALVES, A.; GUAZZELLI, M. J. **Agrofloresta e Óleos Essenciais**. 2014. Disponível em: <http://www.centroecologico.org.br/cartilhas/Cartilha_Oleos.pdf>. Acesso em: 01 de ago de 2016.

GORNI, P. H. **Promoção de crescimento e atividade elicitora do Ácido Salicílico em *Achillea millefolium* L.** 2015. 50 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade do Oeste Paulista - Unoeste, Presidente Prudente.

GORNI, P. H.; PACHECO, A. C. Growth promotion and elicitor activity of salicylic acid in *Achillea millefolium* L. **African Journal of Biotechnology**, v. 15, n. 16, p. 657-665, 2016.

GRAHLE, A.; HOELTZEL, C. Photoperiodische abhangigkeit der bildung des atherischen ols bei *Mentha piperita* L. **Naturwissenschaften**. v. 50, p. 552, 1963.

GROSSMAN, A. R. et al. Light-harvesting complexes in oxygenic photosynthesis: diversity, control, and evolution. **Annual Reviews of Genetics**, v. 29, p. 231-288, 1995.

GÜENTHER, E. The Essential Oils, Individual essential oils of the plant families Rutaceae and Labiatae. **D. Van Nostrand Comp. Toronto**, v. 3, p. 349-357, 1961.

HABER, L. L. et al. Diferentes concentrações de solução nutritiva para o cultivo de *Mentha Piperita* e *Melissa Officinalis*. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 4, p.1006-1009, 2005.

HABERMANN, G. **Trocas gasosas, relações hídricas e hormônios vegetais em laranjeiras doce, infectadas por *Xylella fastidiosa*, em três regiões do Estado de São Paulo**. 2004. 167 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas/Botânica) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

HABIBI, G. Exogenous salicylic acid alleviates oxidative damage of barley plants under drought stress. **Acta Biológica Szegediensis**, v. 56, n. 1, p. 57-63, 2012.

HAIDA, K. S. et al. Compostos Fenólicos e Atividade Antioxidante de Goiaba (*Psidium guajava* L.) Fresca e Congelada. **Revista Fitos**, v. 9, n. 1, p. 1-72, 2015.

HARMAN, G. E. et al. Trichoderma species - opportunistic, avirulent plant symbionts. **Natural Reviews. Microbiology**, v.2, p. 43-56, 2004.

HAYAT, S.; AHMAD, A. **Salicylic Acid: A Plant Hormone**. Springer Publ., Dordrecht, 2007.

HAYAT, Q. et al. Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: A review. **Environmental and Experimental Botany**, v. 68, p. 14-25, 2010.

HEGAZI, A. M.; EL-SHRAYI, A. M. Impact of salicylic acid and paclobutrazol exogenous application on the growth, yield and nodule formation of common bean. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 1, p. 834-840, 2007.

HERRMANN, K. M.; WEAVER, I. The shikimate pathway. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 50, p. 473-503, 1999.

HESAMI, S. et al. Effects of salicylic acid levels and irrigation intervals on growth and yield of coriander (*Coriandrum sativum*) in field conditions. **Environmental and Experimental Biology**, v. 10, p. 113-116, 2012.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. **The water:** culture method for growing plants without soil. Berkeley: California Agricultural Experiment Station, 1950. 32p.

HORVATH, E. et al. Exogenous 4-hidroxybenzoic acid and salicylic acid modulate the effect of short-term drought and freezing stress on wheat plants. **Biology of Plants**, v. 51,p. 480-486, 2007.

HUNT, R.; PARSONS, I. T. A Computer Program for Deriving Growth-Functions in Plant Growth-Analysis. **Journal of Applied Ecology**, v. 11, n.1, p. 297-307, 1974.

HUNT, R. **Plant growth curves**. The functional approach to plant growth analysis. London, Edward Arnold. 1982. 248p.

JAKHAR, S.; SHEOKAND, M. Effect of foliar application of salicylic acid on photosynthetic pigments and antioxidative enzymes of soybean plant. **International Journal of Applied And Pure Science and Agriculture**, v. 01, n. 8, 2015.

JUNIOR, V. F. V.; PINTO, A. C. Plantas medicinais: cura segura?. **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

KABIRI, R.; NASIBI, F.; FARAHBAKHS, H. Effect of Exogenous Salicylic Acid on Some Physiological Parameters and Alleviation of Drought Stress in *Nigella sativa* Plant under Hydroponic Culture. **Plant Protection Science**, v. 50, n. 1, p. 43–51, 2014.

KARLOVA, R.; DE VRIES, S. C. Advances in understanding brassinosteroid signaling. **Sci STKE**, 2006. 36 p.

KAWANO, T.; BOUTEAU, F. Salicylic Acid-Induced Local and Long-Distance Signaling Models in Plants. In: Baluška F (ed) Long-Distance Systemic Signaling and Communication in Plants. **Springer Berlin Heidelberg**, 2013. 23-52 p.

KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A, 2004.

KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 452 p, 2008.

KESSMANN, H. et al. Induction of systemic acquired disease resistance in plants by chemicals. **Annual Review of Phytopathology**, v. 32, p. 439-459, 1994.

KHANUJA, S. P. S. et al. **Mint plant named 'Cim Indus'**. 2003.

KHAN, W.; PRITHVIRAJ, B.; SMITH, D. L. Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates. **Journal of Plant Physiology**, v. 160, n. 5, p. 485-492, 2003.

KHAN, M. I. R. et al. Salicylic acid alleviates adverse effects of heat stress on photosynthesis through changes in proline production and ethylene formation. **Plant Signaling & Behavior**, v. 8, n. 11, 2013.

KHAN, M. I. R. et al. Salicylic acid alleviates adverse effects of heat stress on photosynthesis through changes in proline production and ethylene formation. **Plant Signaling & Behavior**, v.8, n. 11, 2017.

KHODARY, S. E. A. Effect of salicylic acid on growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt stressed maize plants. **International Journal of Agriculture and Biology**, v. 6, n. 1, p. 5-8, 2004.

KLEINOWSKI, A. M. et al. Pigment production and growth of *Alternanthera* plants cultured *in vitro* in the presence of tyrosine. **Brazilian Archives of Biology and technology**, v. 57, p. 253-260, 2014.

KOVÁČIK, J. et al. Salicylic acid-induced changes to growth and phenolic metabolism in *Matricaria chamomilla* plants. **Plant Cell Reports**, v. 28, p. 134-143, 2009.

KOWALSKA, I.; SMOLEŃ, S. Effect of foliar application of salicylic acid on the response of tomato plants to oxidative stress and salinity. **Journal of Elementology**, v. 18, p. 239-254, 2013.

KRUPPA, P. C.; RUSSOMANNO, O. M. R. Ocorrência de fungos em sementes de plantas medicinais, aromáticas e condimentares da família Lamiaceae. **Tropical Plant Pathology**, v. 33, n. 1, p. 072-075. 2008.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos, SP: RiMa, 2004. 531p

LAWRENCE, B. M. **Mint: the genus Mentha**. Boca Raton: CRC Press, 2006. 598 p.

LEAL, F. P. **Desenvolvimento, produção e composição de óleo essencial da *Mentha piperita* L., cultivada em solução nutritiva com diferentes níveis de nitrogênio**. 2001. 155 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Horticultura) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu.

LEAL, T. C. A. B. et al. Produção de biomassa e óleo essencial em plantas de capim cidreira [*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf] em diferentes idades. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.5, n.2, p.61-64, 2003.

LIMA, R. K.; CARDOSO, M. G. Família Lamiaceae: Importantes Óleos Essenciais com Ação Biológica e Antioxidante. **Revista Fitos**, v.3, n. 3, 2007.

LIU, C. et al. Effects of cadmium and salicylic acid on growth, spectral reflectance and photosynthesis of castor bean seedlings. **Plant and Soil**, v. 344, n. 1-2, p. 131-141, 2011.

LOKHANDE, A. A.; GAIKWAD, D. K. Effect of plant growth regulators on photosynthetic. **Indian journal of advances in plant research**, v. 1, n. 3, p 15-18, 2014.

LOPES, T. J. et al. Antocianinas: uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.13, n.3, p. 291-297, 2007.

LOPES, J. P. et al. Análise de crescimento e trocas gasosas na cultura de milho em plantio direto e convencional. **Bragantia**, v. 68, n. 4, p.839-848, 2009.

LOPES, A. L. D. et al. Extração e determinação do teor de limoneno na casca da laranja pêra. **IX Simpósio de Base Experimental das Ciências Naturais da Universidade Federal do ABC** - 12 e 13 de agosto de 2011. Disponível em: <http://becn.ufabc.edu.br/guias/processos_transformacao/resumo/PT_C2_N_01.pdf>. Acesso em: 24 dez. 2016.

LOPES, M. N. et al. Trocas gasosas e índices de crescimento em capim-braquiária manejado sob lâminas de irrigação e idades de crescimento. **Revista Agro@mbiente On-line**, v. 7, n. 1, p. 10-17, 2013.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. Plantas Medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas. Nova Odessa: **Plantarum**, 2002. 512 p.

LOURENÇO, M. V. Biotecnologia de plantas medicinais: produção de biomoléculas. **Biológico**, v. 65, n. 1/2, p. 63-65, 2003.

LV, W. W. et al. Depletion of histone deacetylase antagonizes PI3K-mediated overgrowth of Drosophila organs through the acetylation of histone H4 at lysine 16. **Journal of Cell Science**, v. 125, n. 22, p. 5369-5378, 2012.

MACEDO, A. C. **Fungicidas de efeitos fisiológicos no metabolismo e desenvolvimento de plantas de melão rendilhado sob cultivo protegido**. 2015. 101 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Horticultura) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

MAGALHÃES, A. C.; MONTOJOS, J. C. Effect of solar radiation on the growth parameters and yield of two varieties of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) **Turrialba**, v. 21, p. 165-8, 1971.

MAGALHÃES, A. C. N. **Análise quantitativa do crescimento**. In: FERRI, M.G. Fisiologia Vegetal. EPU/EDUSP, São Paulo. v. 1, p. 331-350, 1979.

MAHBOUBI, M.; KAZEMPOUR, N. Chemical composition and antimicrobial activity of peppermint (*Mentha piperita* L.) Essential oil. **Songklanakarin Journal of Science and Technology**, v. 36, n. 1, p. 83-87, 2014.

MAIA, N. B. **Produção e qualidade do óleo essencial de duas espécies de menta cultivadas em soluções nutritivas**. 1998. 105 f. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luís de Queiroz, Universidade Estadual de São Paulo, Piracicaba.

MAIA, F. C.; MORAES, D. M.; MORAES, R. C. Ácido salicílico: efeito na qualidade de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 22, n. 1, p. 264-270, 2000.

MAIRAPETYAN, S. K. Aromatic plant culture in open – air hidroponics. **Acta Horticulture**, n. 502, p. 33-36, 1999.

MANACH, C. et al. Polyphenols: food sources and bioavailability. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, p. 727-747, 2004.

- MAJEROWICZ, N. **Fotossíntese**. Em: Kerbaudy, G.B. Fisiologia Vegetal. Ed. Guanabara Coogan. Rio. RJ, 2004. 114-167 p.
- MARCUM, D. B.; HANSON, B. R. Effect of irrigation and harvest timing on peppermint oil yield in **California Agricultural Water Management**, v. 82, p. 118-128, 2006.
- MAROTTI, M. et al. Effect of harvesting stage on the yield and essential oil composition of peppermint (*Mentha x piperita* L.). **Acta Horticulture**, v. 344, 370-379 p, 1993.
- MCKAY, L. D.; BLUMBERG, B. J. A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.). **Phytotherapy Research**, v. 20, n. 8, p. 619-633, 2006.
- MEHRABIAN, N. et al. Effect of salicylic acid on growth, seed and forage yield of corn under field drought stress. **Seed Plant Produc**, v. 2, p. 41-55, 2011.
- MESCHEDE, D. K. et al. Alterações no metabolismo da cana-de-açúcar em função da aplicação de maturadores. **Planta Daninha**, v. 30, n. 1, p. 113-119, 2012.
- MILTHORPE, F. L.; MOORBY, J. **An introduction to crop physiology**. London: Cambridge University Press, 1974. cap. 9, p. 152-179.
- MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, v. 27, p. 4050-4063, 2009.
- MOREIRA, M. D. et al. Plant compounds insecticide activity against *Coleoptera* pests of stored products. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 42, n. 7, p. 909-915, 2007.
- NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extractions and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, v.1054, n.1-2, 95-111 p, 2004.
- NAGHAVI, F. Reviews of Salicylic Acid Mist Spray on Amount of Flavonoids, Anthocyanins, Sugar and Root Performance at Marigold Flower Species (*Calendula Officinalis* L) at Hydroponics System. **International Journal of Advanced Biotechnology and Research**, v. 7, n. 2, p 464-471, 2016.
- NAMDEO, A. G. Plant Cell Elicitation for Production of Secondary Metabolites: A Review. **Pharmacognosy Reviews**, v.1, n.1, p. 69-79, 2007.
- NETO, E. B.; BARRETO, L. P. As técnicas de hidroponia. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, v. 8-9, p.107-137, 2012.
- NOGUEIRA, N. O. et al. Teor de nitrogênio, clorofila e relação clorofila-carotenoide em café arábica em solo submetido a diferentes corretivos de acidez. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.8, n.3, p.390-395, 2013.
- NOREEN, S.; ASHRAF, M. Alleviation of adverse effects of salt stress on sunflower (*Helianthus annuus* L.) by exogenous application of salicylic acid: growth and photosynthesis. **Pakistan Journal of Botany**, v. 40, p. 1657-1663, 2008.

NOURAFCAN, H. et al. Effects of salicylic acid on quality and quantity of essential oil components in *Lippia citriodora* H.B.K. **International Journal of Biosciences**, v. 5, n. 3, p. 252-259, 2014.

OLIVEIRA, M. A. et al. Análise de Crescimento do Capim-Bermuda 'Tifton 85' (*Cynodon spp.*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, p. 1930-1938, 2000.

OLIVEIRA, R. F.; CAMPOSTRINI, E. Trocas gasosas e eficiência fotoquímica potencial em mamoeiro do grupo 'Formosa' cultivado em condição de campo. **Bragantia**, v. 67, n. 4, p. 815-822, 2008.

OLIVEIRA, A. R. F. et al. Influência da idade da planta na produção de óleo essencial de alevante. **Revista Ceres**, v. 59, n. 2, p. 241-245, 2012.

PACHECO, A. C. et al. Germinação de sementes de camomila [*Chamomilla recutita* (L.) Rauschert] e calêndula (*Calendula officinalis* L.) tratadas com ácido salicílico. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 9, p. 61-67, 2007.

PACHECO, A. C.; CAMARGO E CASTRO, P. R.; SOUZA, G. M. Deficiência hídrica e aplicação de ABA nas trocas gasosas e no acúmulo de flavonoides em calêndula (*Calêndula officinalis* L.). **Maringá**, v. 33, n. 2, p. 275-281, 2011.

PACHECO, A. C. et al. Salicylic acid induced changes to growth, flowering and flavonoids production in marigold plants. **Journal of Medicinal Plant Research**, v. 7, p. 3158-3163, 2013.

PARREIRAS, N. S. **Nitrogênio e fósforo no crescimento, nutrição, produção de óleo essencial e anatomia foliar de *Lippia origanoides***. 2014. 53 f. Universidade Estadual de Santa Cruz - Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Ilhéus.

PAULUS, D. et al. Teor e qualidade do óleo essencial de menta (*Mentha arvensis* L.) produzida sob cultivo hidropônico e em solo. **Revista Brasileira de Planta Medicinal**, v. 9, n. 2, p. 80-87, 2007.

PAULUS, D. et al. Solução nutritiva para produção de menta em hidroponia. **Horticultura Brasileira**, v. 26, n. 061- 067, 2008.

PEDÓ, T. et al. R. Análise de crescimento de plantas de rabanete submetidas a doses de adubação nitrogenada. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 1, p. 1-7, 2014.

PEGORARO, R. L. **Avaliação do crescimento e produção de óleos essenciais em plantas de *Mentha x piperita* L. var. piperita (Lamiaceae) submetidas a diferentes níveis de luz e nutrição**. 2007. 59 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal) - Universidade Federal de Santa Catarina.

PEIXOTO, C. P. et al. Análise de crescimento de diferentes genótipos de citros cultivados sob déficit hídrico. **Revista Brasileira de Fruticultura.**, v. 28, n. 3, p. 439-443, 2006.

PEIXOTO, C. P.; CRUZ, T. V.; PEIXOTO, M. F. S. P. Análise quantitativa do crescimento de plantas: Conceitos e Prática. **Enciclopédia biosfera**, v. 7, n. 13, 2011.

PELLETIER, P. J. ; CAVENTOU, J. B. Examen Chimique de la Cochenille et de sa Matière Colorante. **Annales de Chimie**, v. 8, p. 250-286, 1818.

PÉREZ, M. G. F. et al. Effect of chemical elicitors on peppermint (*Mentha piperita*) plants and their impact on the metabolite profile and antioxidant capacity of resulting infusions. **Food Chemistry**, v. 156, p. 273-278, 2014.

PICHI, D. G. et al. Cálcio e fitorreguladores no desenvolvimento e estado nutricional de *Mentha spicata* x *suaveolens* cultivada em solução nutritiva. **Revista Brasileira de Planta Medicinal**, v. 14, n. 3, 2012.

POÓR, P. et al. Salicylic acid treatment via the rooting medium interferes with stomatal response, CO₂ fixation rate and carbohydrate metabolism in tomato, and decreases harmful effects of subsequent salt stress. **Plant Biology**, v. 13, p. 105-114, 2011.

PORTES, T. A.; CASTRO JUNIOR, L. G.; Análise de crescimento de plantas: um programa computacional auxiliar. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.3, n.1, p.53-56, 1991.

POVH, J. A. **Efeitos de reguladores vegetais no desenvolvimento de plantas de *Salvia officinalis* L. e na produção de óleo essencial**. 2004. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

POVH, J. A.; ONO, E. O. Rendimento de óleo essencial de *Salvia officinalis* L. sob ação de sob ação de reguladores vegetais. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 28, n. 3, p. 189-193, 2006.

POVHI, J. A.; ONO, E. O. Crescimento de plantas de *Salvia officinalis* sob ação de reguladores de crescimento vegetal. **Ciência Rural**, v. 38, n. 8, p. 2186-2190, 2008.

POVH, J. A.; SANTOS, F. B.; SILVA, K. R. Teor de fenóis totais e flavonoides em quatro espécies do gênero *Hyptis* Jacq. ocorrentes no cerrado stricto sensu. **Brazilian Geographical Journal: Geosciences and Humanities research medium**, v. 3, n. 2, p. 520-528, 2012.

RABAK, F. The effect of cultural and climatic conditione on the yield and quality of peppermint oil. **Bull. Plant Ind.**, n. 80, p. 450-454, 1977.

RADMAN, R. et al. Elicitation of plants and microbial cell systems. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 37, p. 91-102, 2003.

RAO, S. R. et al. Role of foliar application of salicylic acid and L-tryptophan in drought tolerance of maize. **The Journal of Animal & Plant Sciences**, v. 22, n. 3, p. 768-772, 2012.

RASCHKE, K. Movements using turgor mechanisms. In: HAUPT, W. & FEINLEIB, M.E., eds. Physiology of movements. **Encyclopedia of plant physiology**, v. 7, p. 383-441, 1979.

RASQUINHO, N. M. **Características morfofisiológicas, nutrição e valor nutricional do Capim-aruaana (*Panicum Maximum*, Jacq.) mediante adubação nitrogenada**. 2012. 94p. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Zootecnia. APTA/SAA, 2012.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Fotossíntese luz e vida**. In: RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. (Eds.) *Biologia vegetal*. 6. Ed. New York: W.H. Freeman, 1999. p. 124-152.

REITSMA, R. H. et al. Essential oil synthesis in mint. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 50, p. 18-21, 1961.

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

RODRIGUES-BRANDÃO, I. et al. Capacidade elicitora do Ácido salicílico no cultivo in vitro de *Alternanthera tenella*. **Revista Congrega Urcamp**, v. 2016, p. 1, 2016. Disponível em: <
http://200.17.169.24/congrega_ojs/index.php/jpgp/article/viewFile/868/961>. Acesso em 23 mar. 2017.

RODRIGUES, J. D. **Influência de diferentes níveis de cálcio, sobre o desenvolvimento de plantas estilosantes (*Stylodanthes guyanensis* (Aubl.) Swartz cv cook), em cultivo hidropônico**. 1990. 180 f. Tese (Livre Docência em Fisiologia Vegetal) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

ROMANO, M. R. **Análise de crescimento, produção de biomassa, fotossíntese, e biossíntese de aminoácidos em plantas transgênicas de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) que expressam o gene Lhcb^{1*2} de ervilha**. 2001. 66f. Dissertação (Mestrado em Ciências - Fisiologia e Bioquímica de plantas) - Escola Superior de Agricultura Luís de Queiroz, Universidade Estadual de São Paulo, Piracicaba.

ROSA, Y. R. S. et al. Influência do horário de colheita no óleo essencial de diferentes partes da planta de dois genótipos de palmarosa (*Cymbopogon martinii*). **Scientia Plena**, v. 6, n.10, p.1-6, 2010.

SADEGHIAN, F. et al. Effects of Exogenous Salicylic Acid Application on Growth, Metabolic Activities and Essential Oil Composition of *Satureja khuzistanica* Jamzad. **Journal of Medicinal Plants**, v. 12, n. 47, 2013.

SAHARKHIZ, M. J. et al. Chemical Composition, Antifungal and Antibiofilm Activities of the Essential Oil of *Mentha piperita* L. **International Scholarly Research Network**, v. 20, p. 6, 2012.

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, p. 435-440, 2014.

SAHU, G. K.; KAR, M.; SABAT, S. C. Electron transport activities of isolated thylakoids from wheat plants grown in salicylic acid. **Plant Biology**, v. 4, p. 321-328, 2002.

SANGWAN, N. S. et al. Regulation of essential oil production in plants. **Plant Growth Regulation**, v. 34, n. 1, p. 3-21, 2001.

SANTOS, H. S. et al. Diterpenos casbanos e acetofenonas de croton nepetaefolius (Euphorbiaceae). **Química Nova**, v. 31, n. 3, p. 601-604, 2008.

SANTOS, V. M. C. S. **Estudos agrônômicos de menta para a produção de óleo essencial e de mentol**. 2012. 163 f. Tese (Pós- Graduação em Agronomia - Produção Vegetal), Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

SAVITHA, B. C. et al. Different biotic and abiotic elicitors influence betalain production in hairy root cultures of *Beta vulgaris* in shake-flask and bioreactor. **Process Biochemistry**, v. 41, p. 50-60, 2006.

SCAVRONI, J. et al. Yield and composition of the essential oil of *Mentha piperita* L. (Lamiaceae) grown with biosolid. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 17, n. 4, p. 345-352, 2005.

SHABRANGI, A.; BEIGIJAZI, E. A. Effect of Salicylic Acid on The Amount of Essential Oil, Phenolic Compounds, Flavonoids And Antioxidant Activity of *Mentha piperita* L. **International Journal of Agriculture and Crop Sciences**, v. 7, n. 8, p. 499-502, 2014.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Food Phenolics: sources, chemistry, effects and applications**. Lancaster: Technomic, 1995, 331 p.

SHAKIROVA, F. M.; SAKHABUTDINOVA, D. R. Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. **Plant Science**, v. 164, p. 317-322, 2003.

SHARAFIZAD, M. et al. Effect of drought stress and salicylic acid treatment on grain yield, process of grain growth, and some of chemical and morphological traits of Chamran cultivar wheat (*Triticum aestivum*). **Advances in Environmental Biology**, v. 7, n. 11, p. 3234-3240, 2013.

SHUKLA, A. A.; FAROOQI, A. H. A. Review article: utilization of plant growth regulators in aromatic plant production. **Current Research on Medicinal Aromatic Plants**, v.12, p.152-167, 1990.

SILVA, J. B. P. et al. Aplicação de análise de componentes principais para verificação de atribuições de sinais nos espectros de RMN ¹H. o caso dos 3-aril (1,2,4)-oxadiazol-5-carboidrazida benzilidenos. **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 492-496, 2005.

SILVA, D. K. T. et al. Análise de crescimento em cultivares de cana-de-açúcar em cana-soca no Noroeste do Paraná na safra de 2002/2003. **Scientia Agraria**, v. 6, n. 1-2, p. 47-53, 2005.

SILVA, S. et al. Effect of salicylic acid on essential oil compounds of *Melissa officinalis* in vitro plants. **Revista AGROTEC**, v. 35, n. 1, p. 178-184, 2014.

SILVA, E. A.; ALVARENGA, A. A.; PAULA, A. C. F. **Elicidores na agricultura: Uma alternativa para indução de respostas em plantas**. VIII Semana de Ciência e Tecnologia do IFMG campus Bambuí I Seminário dos Estudantes de Pós-graduação. 2015. Disponível em: <https://www.bambui.ifmg.edu.br/semanacet/resumos/sep/Elicidores%20na%20agricultura%20Uma%20alternativa%20para%20indu%C3%A7%C3%A3o%20de%20resp%20ostas%20em%20plantas%2018.pdf>. Acesso em: 06 de jun. 2016.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. **Óleos voláteis**. In: SIMÕES, C.M.O et al. (Org.). *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS; Florianópolis: Ed. Da UFSC, 1999.

SIMÕES, C. M. O. et al. (Orgs.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2004. 1090p.

SIMS, D. A.; GAMON, J. A. Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages. **Remote Sensing of Environment**, v. 81, p. 337-354, 2002.

SINGH, B.; USHA, K. Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheat seedlings under water stress. **Plant Growth Regulation**, v. 39, p. 137-141, 2003.

SOARES, R. R. S. **Estudo de propriedades da Clorofila a e da Feofitina a visando a Terapia Fotodinâmica**. 2006. 92 f. Dissertação (Pós – Graduação em

Química) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Exatas
Departamento de Química - Programa de Pós-Graduação em Química, Maringá.

SOARES, A. M. S.; MACHADO, O. L. T. Defesa de plantas: Sinalização química e espécies reativas de oxigênio. **Revista Trópica - Ciências Agrárias e Biológicas**. v. 1, n. 1, p.9, 2007.

SOARES, G. C. M. **Efeito do ácido salicílico no metabolismo primário e secundário de plantas de arroz, milho e cana-de-açúcar**. 2016. 56 f. Tese (Fisiologia Vegetal) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

SOUZA, M. A. A. et al. Produção de biomassa e óleo essencial de hortelã em hidroponia em função de nitrogênio e fósforo. **Horticultura Brasileira**, v. 25, p. 041-048, 2007.

STEFANINI, M. B. **Ação de fitorreguladores no crescimento, produção de biomassa e teor de óleo essencial em *Lippia Alba* (Mill.) N.E.R. - Verbenaceae, em diferentes épocas do ano**. 1998. 123 f. Tese (Doutorado/Botânica) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

STORCK, R. C. et al. Desenvolvimento vegetativo e produção de óleo essencial de patchouli (*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.) após a aplicação de ácido giberélico e extrato de alga marinha. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.15, n.3, p. 391-396, 2013.

STREIT, N. M. et al. As Clorofilas. **Ciência Rural**, v.35, n.3, p.748-755, 2005.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819 p

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. Sunderland: Sinauer Associates, 2010. 782 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918p.

TANAKA, A. et al. Chlorophyll a oxygenase (CAO) is involved in chlorophyll b formation from chlorophyll a. **Plant Biology**, v. 95, p. 12719-12723, 1998.

TANAKA, R.; TANAKA, A. Tetrapyrrole biosynthesis in higher plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 58, p. 321-46, 2007.

TAVISH, H. M.; HARRIS, D. **An economic study of essential oil production in the UK: a case study comparing non-UK lavender/lavandin production and peppermint/spearmint production with UK production techniques and costs. For the Government Industry, Forum for Non-Food Crops**. The Scotch Parliament, Edinburg, 2002.

TEIXEIRA, J. C.; ANDRADE, G. A. **Carboidrato na alimentação de Ruminantes. In: II Simpósio de Forragicultura e pastagens**. Lavras. Temas em Evidencia. Lavras: Editora UFLA, v.1. p. 165-210, 2001.

THAKUR, M.; SOHAL, B. S. Role of Elicitors in Inducing Resistance in Plants against Pathogen Infection: A Review. **Hinadwi Publishing Corporation**, v. 2013, p. 10, 2013.

THE MERCK INDEX. 12. ed. **Whitehouse Station**, NJ: Merck and Company Incorporation, 1996. 996 p.

TURNER, G. W.; GERSHENZON, J.; CROTEAU, R. B. Distribution of peltate glandular trichomes on developing leaves of peppermint. **Plant Physiology**, v. 124, p. 655-663, 2000.

VALMORBIDA, J. **Níveis de potássio em solução nutritiva, desenvolvimento de plantas e a produção de óleo essencial de *Mentha piperita* L.** 2003. 128 p. Dissertação (Agronomia/Horticultura) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu.

VALMORBIDA, J. et al. Crescimento de *Mentha piperita* L., cultivada em solução nutritiva com diferentes doses de potássio. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 9, n. 4, p. 27-31, 2007.

VANACKER, H. et al. A role for salicylic acid and NPR1 in regulating cell growth in Arabidopsis. **Plant Journal**, v. 28, p. 209-216, 2001.

VAZIRIMEHR, M.; RIGI, K.; BRANCH, Z.. Effect of salicylic acid in agriculture. **International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences**, n. 4, p. 291-296, 2014.

VÁZQUEZ-FLOTA, F. et al. A differential response to chemical elicitors in *Catharanthus roseus* in vitro cultures. **Biotechnology Letters**, v. 31, n. 4, p. 591-595, 2009.

VERISSIMO, V. et al. Trocas gasosas e crescimento vegetativo de quatro variedades de mandioca. **Revista raízes e amidos tropicais**, v. 6, p. 232-240, 2010.

VERPOORTE, R.; MEMELINK, J. Engineering secondary metabolite in plants. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 13, p. 181-187, 2002.

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

VIEIRA, G. **Gap dynamics in managed Amazonian forest: Structural and ecophysiological aspects.** 1996. 162f. Tese (Doutorado em Ecologia Tropical) - University of Oxford, Grã-Bretanha.

VILANOVA, C.; SILVA JUNIOR, C. D. Avaliação da trofobiose quanto às respostas ecofisiológicas e bioquímicas de couve e pimentão, sob cultivos orgânico e convencional. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 5, p. 127-137, 2010.

VIZZOTTO, M. et al. Teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante em diferentes genótipos de amoreira-preta (*Rubus* sp.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 3, p. 853-858, 2012.

VOITSEKHOVSKAJA, O. V.; TYUTEREVA E. V. Chlorophyll b in angiosperms: functions in photosynthesis, signaling and ontogenetic regulation. **Journal of Plant Physiology**, v. 5, n. 189, p. 51-64, 2015.

VON ELBE, J. H. Colorantes. In: FENNEMA, O.W. **Química de los alimentos**. 2.ed. Zaragoza : Wisconsin - Madison, 2000. Cap.10, p.782-799.

WEI, Z. Z. et al. Identification and characterization of 43 novel polymorphic EST-SSR markers for arum lily, *Zantedeschia aethiopica* (Araceae). **American Journal of Botany**, v. 99, p. 493-497, 2012.

WISE, M. L. et al. Monoterpene synthases from common sage (*Salvia officinalis*). **The journal of biological chemistry**, v. 273, n. 24, p. 14891-14899, 1998.

WU, L. J. et al. Comparative proteomic analysis of the effects of salicylic acid and abscisic acid on maize (*Zea mays* L.) leaves. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 31, p. 507-516, 2013.

YU, Z. Z. et al. Salicylic acid enhances jaceosidin and syringin production in cell cultures of *Saussurea medusa*. **Biotechnology Letters**, v. 28, p.1027-1031, 2006.

ZAHRA, S.; AMIN, B.; MEHDI, Y. The salicylic acid effect on the tomato (*Lycopersicum esculentum* Mill.) germination, growth and photosynthetic pigment under salinity stress (NaCl). **Journal of Stress Physiology & Biochemistry**, v. 6, n. 3, p. 4-16, 2010.

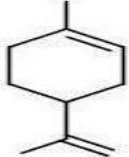
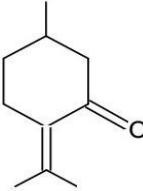
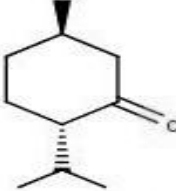
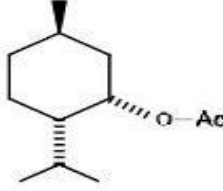
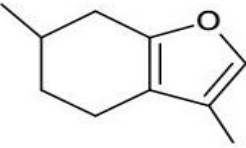
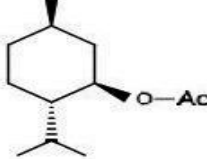
ZHANG, S. et al. Temperature-Dependent Gas Exchange and Stomatal/Non-Stomatal Limitation to CO₂ Assimilation of *Quercus Liaotungensis* under Midday High Irradiance. **Photosynthetica**, v. 39, n. 3, p. 383-388, 2001.

ZHAO, J.; DAVIS, L. C.; VERPOORTE, R. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. **Biotechnology Advances**, v.23, p. 283-333, 2005.

ZHAOA, D. et al. Variation of essential oil of *Mentha haplocalyx* Briq. and *Mentha spicata* L. from China. **Industrial Crops and Products**, v. 42,p. 251–260, 2013.

ZHELJAZKOV, V.; MARGINA, A. Effect of increasing doses of fertilizer application on quantitative and qualitative characters of mint. **Acta Horticulture**, v. 426, p. 579-592, 1996.

APÊNDICE A - Estrutura química das principais substâncias voláteis de plantas de *Mentha x piperita* L. cultivadas com diferentes concentrações de ácido salicílico, nas várias épocas de colheitas. Botucatu, 2016

Limoneno	Pulegona
	
Mentona	Neo-acetato de mentila
	
Mentofurano	Acetato de mentila
	
Mentol	1,8 cineol
