



LURDESLAINE FARIA TEIXEIRA

**LUZ E VENTILAÇÃO NATURAL IMPACTAM O
CRESCIMENTO E PRODUÇÃO DE COMPOSTOS VOLÁTEIS
EM *Mentha piperita* L. MICROPROPAGADAS**

LAVRAS-MG

2025

LURDESLAINE FARIA TEIXEIRA

**LUZ E VENTILAÇÃO NATURAL IMPACTAM O CRESCIMENTO E PRODUÇÃO
DE COMPOSTOS VOLÁTEIS EM *Mentha piperita* L. MICROPROPAGADAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Plantas Medicinas, Aromáticas e Condimentares, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. PhD. José Eduardo Brasil Pereira Pinto

Orientador

Profa. Dra. Suzan Kelly Vilela Bertolucci

Co-Orientadora

LAVRAS-MG

2025

**Ficha Catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração
de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com
dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Teixeira, Lurdeslaine Faria.

Luz e ventilação natural impactam o crescimento e produção de compostos voláteis em *Mentha piperita* L. micropropagadas / Lurdeslaine Faria Teixeira. - 2025.
92 p. : il.

Orientador: José Eduardo Brasil Pereira Pinto

Coorientadora: Suzan Kelly Vilela Bertolucci

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2025.
Bibliografia.

1. Compostos voláteis. 2. Membrana alternativa. 3. Hortelã pimenta. 4. Micropropagação. 5. Fotomorfogênese. I. Pinto, José Eduardo Brasil Pereira. II. Bertolucci, Suzan Kelly Vilela. III. Universidade Federal de Lavras. IV. Título.


LURDESLAINE FARIA TEIXEIRA

**LUZ E VENTILAÇÃO NATURAL IMPACTAM O CRESCIMENTO E PRODUÇÃO
DE COMPOSTOS VOLÁTEIS EM *Mentha piperita* L. MICROPROPAGADAS**

**NATURAL LIGHT AND VENTILATION IMPACT GROWTH AND PRODUCTION
OF VOLATILE COMPOUNDS IN MICROPROPAGATED *Mentha piperita* L.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Plantas Medicinas, Aromáticas e Condimentares, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 24 de fevereiro de 2025
PhD. José Eduardo Brasil Pereira Pinto UFLA
Dra. Suzan Kelly Vilela Bertolucci UFLA
Dr. Gustavo Costa dos Santos UFLA
Dra. Priscila Pereira Botrel IFSULDEMINAS

Documento assinado digitalmente
 JOSE EDUARDO BRASIL PEREIRA PINTO
Data: 10/06/2025 10:57:29-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. PhD. José Eduardo Brasil Pereira Pinto
Orientador

LAVRAS-MG

2025

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a Deus, aos meus pais, meus irmãos, minha tia Jovislaine, a minha avó Maria de Lourdes (*In Memoriam*).

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro a Deus por ser meu amigo e me carregar no colo nos momentos mais difíceis.

A Universidade Federal de Lavras por toda a infraestrutura fornecida para o desenvolvimento das nossas atividades acadêmicas.

As entidades de fomento CAPES, CNPq e pela bolsa de estudos de Mestrado da FAPEMIG.

Ao Programa de Pós-Graduação em Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares.

Ao Laboratório de Cultura de Tecidos e Plantas Medicinais, ao Laboratório de Fitoquímica e Controle de Qualidade e ao Horto de Plantas Medicinais por toda a estrutura que permitiu a realização desse trabalho.

A todos os funcionários que trabalham nos diferentes setores da Universidade para garantir o nosso bem estar durante toda a realização do curso.

A todos os professores que de alguma forma contribuíram com a minha formação.

A todos os meus amigos que sempre estiveram comigo. E as amigas que formei ao longo da Pós-Graduação.

Aos colegas e amigos que me ajudaram durante a realização dos experimentos e análises Jeremias José Ferreira Leite, João Pedro Miranda Rocha, Rafael Marlon Alves de Assis, Thayanne Ferreira Miranda, Ana Caroline Batista da Silva.

A Sara Rodrigues da Silva bolsista de Iniciação Científica pela ajuda em todas as etapas dos experimentos.

A minha família por todo cuidado e carinho que sempre estiveram comigo, especialmente aos meus irmãos que sempre me apoiaram. Especialmente a minha irmã Thaislaine, que me incentivou a entrar na faculdade. Aos meus pais por sempre lutarem por mim e pelos meus irmãos, pelo carinho, ensinamentos, conselhos e por nos mostrar a importância dos estudos. A minha tia Jovislaine por todo o carinho, cuidado, apoio, companheirismo e pelos momentos difíceis passados juntos, pelo brilho no olhar e sorriso que sempre nos inspiram. A minha avó Maria de Lourdes por sempre ter me ensinado muito sobre a vida, pelas conversas, conselhos, risadas, inspiração e pela forte contribuição com a minha formação como pessoa.

A Prof.^a Priscila Pereira Botrel pelos ensinamentos, amizade, por me inspirar como Ser Humano, profissional e pesquisadora. Pelo incentivo para que eu entrasse na Pós-Graduação.

Aos Núcleos de Estudos de Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares (NEMAC), de Produtos Naturais (NEPRON) e GPLANT*invitro*.

Aos técnicos Evaldo de Souza Arantes, Annete de Jesus Boari Lima e Leandro Simão (Dico), por toda ajuda para a realização deste trabalho, ensinamentos, carinho e amizade.

As pessoas mais importantes para o desenvolvimento desse projeto, aos Professores e meus orientadores José Eduardo Brasil Pereira Pinto/Suzan Kelly Vilela Bertolucci, por ter aceitado me orientar, por todos os ensinamentos transmitidos, conselhos, amizade desenvolvida ao longo do processo, por me inspirar como Ser Humano, profissional e pesquisadora. Por toda a dedicação no nosso trabalho.

Muito Obrigada!

Parabéns pela forma que você expressou sua gratidão!

Pude perceber que escreveu do coração.

Isto é uma das maiores virtudes de um Ser Humano.

Cultive sempre a essência da humildade, carinho, respeito, comprometimento, e gratidão inatos do seu coração.

Com grande admiração

Profª Suzan.

**“Eu tenho um sonho de que a luz da
Ciência sempre irá brilhar diante da
névoa da ignorância, de que as nossas
crianças terão acesso à educação de
qualidade e emancipatória, que os
jovens negros serão julgados pelo seu
caráter e não pela cor da sua pele, de
que tenhamos mais jovens negros nas
Universidades e nos lugares de poder”**

(MARTIN L. KING adaptado, 1963)

RESUMO GERAL

A *Mentha piperita* L. é uma erva utilizada na culinária e presente em alguns produtos alimentício, perfumes, cosméticos de higiene pessoal e fitoterápicos. A intensidade e a qualidade luz, geram respostas fisiológicas e morfogênicas específicas. A ventilação natural *in vitro* viabiliza a produção de mudas mais resistentes a aclimatização. Objetivou-se avaliar o efeito da intensidade luminosa, da qualidade de luz e da ventilação natural na produção de biomassa e compostos voláteis de *Mentha piperita* micropropagadas. Foram inoculados segmentos nodais de 1 cm de plântulas estabelecidas *in vitro*. No primeiro experimento os explantes foram cultivados sob diodos emissores de luz (LEDs) nas intensidades de 20, 57, 78, 102 e 139 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. No segundo experimento os explantes foram cultivados sob a LED branca; azul ; vermelho; 70% azul : 30% vermelho; 30% azul :70% vermelho; 50% azul : 50% vermelho. No terceiro experimento foram utilizados frascos utilizando o sistema de ventilação natural (SVN) com 1 (SVN1), 2 (SVN2), 4 (SVN4) membranas porosas nas tampas e sem membrana (SVN0 - controle). Todos os experimentos foram avaliados 30 dias após a inoculação, sendo avaliado o comprimento do maior broto e 2º entrenó, número de brotos, área foliar, número de folhas, biomassa seca das folhas, caule e raiz, além das análises dos pigmentos fotossintéticos, fenóis, flavonoides e a composição química volátil. Os dados foram analisados com o *software* Sisvar para comparação das médias, utilizando o teste de Scott-Knott a probabilidade de 5%. No primeiro experimento, as plantas sob 20 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, estiolaram, mas ficaram com maior teor de pigmentos fotossintéticos. O cultivo sob as intensidades de 78, 102 e 139 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ indicaram maior acúmulo de biomassa seca das folhas e total. A densidade do fluxo de fótons não influenciou os teores de mentofurano e pulegona. No experimento de qualidade de luz a LED vermelha e 70%V : 30%A estimulou o crescimento do caule e do 2º entrenó. A luz branca, azul, 50%V:50%A e 30%V:70%A beneficiaram a produção de biomassa seca das folhas e raízes. Os brotos sob as combinações de 50%V;50%A acumularam maior teor de clorofila *a* e total e carotenoides. As LEDs vermelha e 70%V:30%A estimularam a produção de mentofurano. No experimento de ventilação natural os brotos tiveram maior crescimento da parte aérea, acúmulo de biomassa seca das folhas, caule e raiz em SVN4 e maior teor de pigmentos fotossintéticos em SVN2. Conclui-se que a partir de 78 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ as plântulas de *M. piperita* desenvolvem maior número de brotos, folhas e biomassa seca das raízes, além de crescerem mais vigorosas. O indicado é cultivar a espécie sob LEDs 70%V:30%A para a obtenção de mudas com bom desenvolvimento da parte aérea, acúmulo de biomassa seca das folhas, produção dos pigmentos fotossintéticos e mentofurano, composto importante para a indústria da perfumaria. O SVN4 proporciona crescimento vigoroso das mudas *in vitro*.

Palavras-chave: compostos voláteis; membrana alternativa; hortelã pimenta; micropropagação; fotomorfogênese.

GENERAL ABSTRACT

Mentha piperita L. is an herb used in cooking and present in some food products, perfumes, personal hygiene cosmetics and herbal medicines. Light intensity and quality generate specific physiological and morphogenic responses. *In vitro* natural ventilation enables the production of seedlings more resistant to acclimatization. The objective of this study was to evaluate the effect of light intensity, light quality and natural ventilation on the production of biomass and volatile compounds of micropropagated *Mentha piperita*. Nodal segments of 1 cm of *in vitro* established seedlings were inoculated. In the first experiment, the explants were grown under light-emitting diodes (LEDs) at intensities of 20, 57, 78, 102 and 139 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. In the second experiment, the explants were grown under white LED; blue; red; 70% blue: 30% red; 30% blue: 70% red; 50% blue : 50% red. In the third experiment, flasks using the natural ventilation system (SVN) with 1 (SVN1), 2 (SVN2), 4 (SVN4) porous membranes on the lids and without membrane (SVN0 - control) were used. All experiments were evaluated 30 days after inoculation, evaluating the length of the largest shoot and 2nd internode, number of shoots, leaf area, number of leaves, dry biomass of leaves, stem and root, in addition to the analysis of photosynthetic pigments, phenols, flavonoids and volatile chemical composition. The data were analyzed with the Sisvar *software* to compare the means, using the Scott-Knott test at a probability of 5%. In the first experiment, the plants under 20 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ etiolated, but had a higher content of photosynthetic pigments. Cultivation under intensities of 78, 102 and 139 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ indicated greater accumulation of dry biomass of leaves and total. The photon flux density did not influence the contents of menthofuran and pulegone. In the light quality experiment, red LED and 70%V: 30%A stimulated the growth of the stem and the 2nd internode. White, blue, 50%V: 50%A and 30%V: 70%A light benefited the production of dry biomass of leaves and roots. Shoots under the combinations of 50%V:50%A accumulated greater contents of total chlorophyll *a* and carotenoids. Red LEDs and 70%V: 30%A stimulated the production of menthofuran. In the natural ventilation experiment, the shoots showed greater shoot growth, accumulation of dry biomass of leaves, stem and roots in SVN4 and a higher content of photosynthetic pigments in SVN2. It was concluded that from 78 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, the seedlings of *M. piperita* develop a greater number of shoots, leaves and dry biomass of the roots, in addition to growing more vigorously. It is recommended to grow the species under 70% V: 30% A LEDs to obtain seedlings with good shoot development, accumulation of dry biomass of the leaves, production of photosynthetic pigments and menthofuran, an important compound for the perfume industry. SVN4 provides vigorous growth of seedlings *in vitro*.

Keyword: volatile compounds; alternative membrane; peppermint; micropropagation; photomorphogenesis.

Impactos sociais, tecnológicos, econômicos e culturais

O presente estudo contribui diretamente para diversos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) propostos pela Agenda 2030 da ONU. A *Mentha piperita* L. (hortelã-pimenta) é uma espécie medicinal, aromática e condimentar utilizada por várias comunidades. A produção *in vitro* da espécie pode ser relacionada com a agricultura sustentável, devido a produção em larga escala, em espaço pequeno e com baixo gasto energético, devido a utilização de LEDs (Diodos Emissores de Luzes). A obtenção de plantas mais resistentes ao processo de aclimatização, auxilia adaptação de plantas mais resistentes aos fatores adversos do campo (ODS 2). A biossíntese elevada de mentofurano, composto importante para a indústria da perfumaria reforça a ligação com a ODS 3, ao favorecer a produção de insumos naturais para utilização da indústria. A ODS 7 tem relação com o presente estudo, pois o uso de LEDs promove a eficiência energética, sendo uma alternativa mais sustentável e econômica. O cultivo *in vitro* de hortelã-pimenta pode beneficiar a indústria da perfumaria. Pois as plantas de hortelã-pimenta *in vitro*, produzem alto teor de mentofurano, composto de grande importância econômica para a fabricação de perfume, dessa forma, essas mudas podem ser utilizadas como fonte de matéria-prima para a obtenção desse composto natural, diminuindo a utilização do mentofurano sintético (ODS 9). Por fim a produção controlada e eficiente de mudas de qualidade, com alto teor de compostos desejados, reduz desperdícios e o impacto ambiental, promovendo cadeias produtivas mais sustentáveis, o que condiz com a ODS12.

Social, technological, economic and cultural impacts

This study directly contributes to several Sustainable Development Goals (SDGs) proposed by the UN 2030 Agenda. *Mentha piperita* L. (peppermint) is a medicinal, aromatic and condiment species used by several communities. The *in vitro* production of the species can be related to sustainable agriculture, due to large-scale production, in a small space and with low energy expenditure, due to the use of LEDs (Light Emitting Diodes). Obtaining plants that are more resistant to the acclimatization process helps the adaptation of plants that are more resistant to adverse factors in the field (SDG 2). The high biosynthesis of menthofuran, an important compound for the perfume industry, reinforces the connection with SDG 3, by favoring the production of natural inputs for use in the industry. SDG 7 is related to the present study, since the use of LEDs promotes energy efficiency, being a more sustainable and economical alternative. The *in vitro* cultivation of peppermint can benefit the perfume industry. Since peppermint plants *in vitro* produce a high level of menthofuran, a compound of great economic importance for the manufacture of perfume, these seedlings can be used as a source of raw material for obtaining this natural compound, reducing the use of synthetic menthofuran (SDG 9). Finally, the controlled and efficient production of quality seedlings, with a high content of desired compounds, reduces waste and environmental impact, promoting more sustainable production chains, which is in line with SDG12.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	15
1. INTRODUÇÃO GERAL	15
2. REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1 Descrição Botânica do gênero <i>Mentha</i> L. e da espécie <i>M. piperita</i>	16
2.2.1 Aspectos agronômicos da hortelã pimenta	18
2.2.2 Química da espécie <i>Mentha piperita</i>	19
2.2.3 Importância econômica	21
2.3 Cultura de tecidos de plantas medicinais	22
2.4 Importância da intensidade e qualidade de luz no desenvolvimento das plantas	22
2.4.1 Utilização da intensidade e qualidade de luz na micropropagação das plantas medicinais	24
2.5 Sistema de Ventilação Natural (SVN) no cultivo <i>in vitro</i>	25
REFERÊNCIAS	26
CAPÍTULO 2	33
Crescimento e produção de compostos voláteis em <i>Mentha piperita</i> L. <i>in vitro</i> sob diferentes intensidades luminosas	33
1. INTRODUÇÃO	35
2. MATERIAL E MÉTODOS	36
2. 1 Local do experimento e origem do material botânico	36
2. 2 Implantação do experimento de intensidade luminosa	36
2. 3 Análise dos pigmentos fotossintéticos	37
2. 4 Preparo do extrato para análise dos fenóis e flavonoides	37
2. 5 Doseamento dos fenóis e flavonoides	38
2. 6 Análise dos compostos voláteis	38
2. 8 Análise de estatística	39
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
3.1 Análise dos parâmetros de crescimento da espécie <i>M. piperita</i> L.	39
3. 2 Análise dos pigmentos fotossintéticos	44
3. 3 Biossíntese de Flavonas/Flavonóis e Fenóis Totais	45
3. 4 Composição química volátil de <i>Mentha piperita</i> L.	47

4. CONCLUSÃO	49
REFERÊNCIAS	49
CAPÍTULO 3	54
Crescimento e produção de compostos voláteis em <i>Mentha piperita</i> L. cultivada <i>in vitro</i> sob diferentes qualidades de luz	54
1. INTRODUÇÃO	56
2. MATERIAL E MÉTODOS	57
2. 1 Local do experimento e origem do material botânico	57
2. 2 Implantação do experimento de diferentes qualidades de luz	57
2. 3 Análise dos pigmentos fotossintéticos	58
2. 4 Análise dos compostos voláteis	58
2. 6 Análise de estatística	59
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
3. 1 Análise do desenvolvimento da hortelã pimenta em diferentes qualidades de luz	59
3. 2 Análise dos pigmentos fotossintéticos produzidos em brotos de <i>M. piperita</i> L. <i>in vitro</i>	64
3. 3 Análise da fração volátil das folhas de <i>Mentha piperita</i> L.	66
4. CONCLUSÃO	67
REFERÊNCIAS	68
CAPÍTULO 4	74
Sistema de Ventilação Natural no crescimento e na produção <i>in vitro</i> de monoterpenos cíclicos de hortelã pimenta	74
1. INTRODUÇÃO	76
2. MATERIAL E MÉTODOS	77
2. 1 Local do experimento e origem do material botânico	77
2. 2 Implantação do experimento em Sistema de Ventilação Natural	78
2. 3 Análise dos pigmentos fotossintéticos	78
2. 4 Análise dos compostos voláteis	79
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	80
3. 1 Parâmetros de crescimento da <i>Mentha piperita</i> cultivada em Sistema de Ventilação Natural	80
3. 2 Análise dos pigmentos fotossintéticos e área foliar	83

3. 3 Produção dos Compostos Voláteis da <i>Mentha piperita</i> em Sistema de Ventilação Natural	85
4. CONCLUSÃO	87
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	88
REFERÊNCIAS	89

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO GERAL

A *Mentha piperita* L. pertence à família Lamiaceae, é conhecida em português como hortelã-pimenta e na língua inglesa *peppermint*. É originária da Europa e cultivada em regiões temperadas da Ásia, Europa, Estados Unidos, Índia, países do mediterrâneo e trazida no período colonial para Brasil. A espécie é um híbrido estéril do cruzamento entre *Mentha spicata* L. (hortelã) e *Mentha aquática* L. (hortelã aquática) (Mahendran; Rahman, 2020; Naveen et al., 2020).

As espécies do gênero *Mentha* L. são de grande interesse econômico, devido a produção de óleos essenciais. É também muito conhecida pelo seu uso na culinária, como especiaria, na produção de produtos alimentícios, de higiene, limpeza, cosméticos, perfumes, fitoterápicos e usos na medicina popular (Santos; Brenzan; Serra, 2013; Lopes; Sousa; Abreu, 2021).

As folhas da hortelã pimenta possuem tricomas glândulares, que biossintetizam e armazenam os óleos essenciais. A espécie tem como terpenos principais a mentona, pulegona, mentofurano e mentol.

O mentol possui grande importância econômica, estima-se que cerca de 32.000 toneladas métricas são consumidas anualmente, sendo que aproximadamente 6.300 toneladas são produzidas sinteticamente (Kamatou et al., 2013).

O mentofurano é um composto aromático produzido naturalmente nos botões florais e em folhas jovens. Esse monoterpene é de grande importância para a indústria de aromas, que possui uma demanda estimada em 150-200 Mt/ano, para produção de perfumes (Kumar; Shukla; Samad, 2014).

Por ser um híbrido estéril a *M. piperita* L. não pode ser propagada por sementes, dessa forma, a sua multiplicação ocorre vegetativamente por estacas, estolões e rebentos, porém a taxa de crescimento é lenta nas suas fases iniciais (Holm et al., 1987; Talankova-Sereda et al., 2019), o que retarda a sua propagação. Apesar da produção de estacas ser o meio mais usual para sua comercialização, o desenvolvimento das plântulas é limitado por vários fatores, como a infecção por fitopatógenos, clima, falta de matéria prima de alta qualidade (Nicola et al., 2006; Shelepova et al., 2021; Zayova et al., 2021).

Dessa forma, cultivo *in vitro* pode ser aplicado em plantas medicinais como uma tecnologia para a produção de metabólitos secundários, obtenção de plantas de elite livres de patógenos e uniformes, além de possibilitar a produção em escala comercial em um curto período de tempo (Esposito-Polesi, 2020).

A luz é um fator importante para o crescimento e desenvolvimento das plantas. Além de contribuir com a biossíntese e aumento da produção dos terpenoides presentes nas plantas medicinais e aromáticas, já que a concentração, rendimento, composição e substâncias alvo, também são influenciadas pela intensidade, qualidade de luz e fotoperíodo (Zhang et al., 2021), sendo que cada espécie possui uma necessidade específica, quanto a quantidade de energia, tempo de exposição e cor do espectro.

Com a utilização dos diodos emissores de luz (LED) na sala de crescimento, é possível aplicar diferentes intensidades e qualidade para otimizar o crescimento, acúmulo de biomassa da parte aérea e da raiz, fotossíntese e a produção dos metabólitos secundários.

No Sistema de Ventilação Natural (SVN) é possível utilizar tampas com membranas porosas nos frascos, que permitem maiores trocas gasosas, o que melhora os processos fisiológicos e anatômicos. Com isso as plântulas são mais responsivas, com alta qualidade e vigorosas, além de diminuir a contaminação e permitir o cultivo fotoautotrófico das plântulas *in vitro*.

São utilizados explantes com folhas aumentando a capacidade fotossintética, por conta disso, crescem e se desenvolvem sem açúcar no meio de cultivo. As plântulas são fotoautotróficas, podendo ser micropropagadas em larga escala, uniformes e com desenvolvimento acelerado, sem a necessidade de reguladores de crescimento. Além disso, possuem maior taxa de sobrevivência durante a aclimatização, o que contribui para a redução dos custos de produção (Kozai; Kubota; Jeong, 1997).

Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi analisar os impactos da intensidade luminosa, qualidade de luz e ventilação natural na produção de biomassa e compostos voláteis de *M. piperita* L. cultivada *in vitro*.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Descrição Botânica do gênero *Mentha* L. e da espécie *M. piperita*

O gênero *Mentha* L. possui cerca de 42 espécies, 15 híbridos, variedades, cultivares e centenas subespécies, não se têm um consenso devido a taxonomia complexa das hortelãs (Salehi et al., 2018), são distribuídas em regiões temperadas e subtemperadas do mundo.

Ao longo do tempo as hortelãs foram utilizadas em vários sistemas de tratamento tradicional, como ayurvédico, chinês e unani, como analgésico, distúrbios nervosos, resfriados, inflamação na garganta, dor de estômago, antisséptico, dores no peito, insônia, picadas de insetos e cobra (Maurya et al., 2024).

As espécies do gênero *Mentha* L. são de grande interesse econômico, devido a produção de óleos essenciais e o seu uso na culinária, como especiaria, na produção de produtos alimentícios, de higiene, limpeza, cosméticos, perfumes, fitoterápicos e na medicina popular (Santos; Brenzan; Serra, 2013; Lopes; Sousa; Abreu, 2021). Os princípios ativos das espécies têm sido muito estudados para substituir produtos sintéticos prejudiciais à saúde (Rayan et al., 2024), sendo o composto de maior interesse para algumas espécies o mentol (Maurya et al., 2024).

A *Mentha piperita* L. pertence à família Lamiaceae, é conhecida popularmente na língua portuguesa como hortelã-pimenta, hortelã de horta, hortelãzinho, hortelã de cheiro e na língua inglesa como *peppermint*. Essa espécie originária da Europa, cultivada em regiões temperadas da Ásia, Europa, Estados Unidos, Índia, países do mediterrâneo e no Brasil, sendo trazida durante o período colonial. A espécie é um híbrido estéril do cruzamento entre *Mentha spicata* L. (hortelã) e *Mentha aquática* L. (hortelã aquática), sendo tradicionalmente utilizada como aromatizante de alimentos (Mahendran; Rahman, 2020; Naveen et al., 2020).

As características da hortelã-pimenta foram descritas por Bupesh e seus colaboradores (2007), que a classificou como uma planta herbácea aromática, anual, que pode atingir cerca de 100 cm de altura, possui caule do tipo haste quadrangular; suas folhas são opostas serrilhadas oval-lanceoladas, com coloração verde escura a roxa-purpúrea, são aveludadas; suas flores estão agrupadas em inflorescências que se desenvolvem em uma espiga terminal, são numerosas, pedunculadas, reunidas em verticilos separados e possuem uma coloração violácea (Rodrigues; Gonzaga, 2001). Nas folhas são presentes tricomas glandulares onde sintetizam e armazenam os óleos essenciais (Deschamps et al., 2006), além de criar uma barreira hidrofóbica, que impede o acúmulo de água sobre as folhas, protegendo contra o desenvolvimento de microrganismos (Simplício; Conce; Dallagnol, 2022).

A espécie possui sabor refrescante é de grande importância econômica, devido a sua ampla utilização no setor alimentício, farmacológico (Abbas et al., 2020), perfumaria, cosmetologia e na tabacaria para produção de cigarros mentolados. Popularmente as folhas secas de *Mentha piperita* L. são utilizadas na preparação de chá para o uso de forma oral no tratamento de tosse, bronquite, inflamação na mucosa e garganta, flatulência, diarreia, náuseas, vômitos, indigestão e enjoos matinais (Naveen et al., 2020). Além disso, as pessoas realizam

o uso tópico da espécie como antibacteriano, antifúngico e antiprurido (Khoury et al., 2021; Trevisan et al., 2017).

O óleo essencial da hortelã pimenta é aplicado no tratamento de doenças humanas, por conta dos seus efeitos medicinais e terapêuticos (Chis et al., 2019), sendo os componentes majoritários o mentol e a mentona (Wu et al., 2019). Outros compostos, como o *neo-mentol* e a *iso-mentona* possui atividade anti-inflamatória, antibacteriana, imunomoduladora, neuroprotetora, antifadiga e antioxidantes (Zhao et al., 2022). Óleo volátil também pode ser utilizado, como fitoterápico na síndrome do intestino irritável, devido a sua ação de relaxamento sobre a musculatura lisa do intestino (Khoury et al., 2021) e no tratamento de sintomas de doenças respiratórias, por conta do seu efeito expectorante; ademais, o óleo essencial é adicionado nas formulações dos produtos de higiene pessoal (Trevisan et al., 2017).

Devido a sua importância farmacológica a hortelã pimenta é uma das 71 espécies presentes na lista da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse do Sistema Único de Saúde (Brasil, 2022), na Farmacopeia Brasileira (Farmacopeia, 2024) e no Formulário Fitoterápico da Farmacopeia, que indicam a utilização das folhas secas nas preparações extemporâneas e tinturas, para tratar sintomas dispépticos, como flatulência (Farmacopeia, 2021).

2.2.1 Aspectos agrônômicos da hortelã pimenta

Por ser um híbrido estéril a *M. piperita* L. não pode ser propagada por sementes, dessa forma, a sua propagação ocorre vegetativamente por estacas enraizadas, estolões, rebentos, porém a taxa de crescimento é lenta nas suas fases iniciais (Holm et al., 1989; Talankova-Sereda et al., 2019), o que retarda a sua multiplicação. Apesar da produção de estacas ser o meio mais importante para comercialização, o desenvolvimento das plântulas pode estar limitado por vários fatores, como a infecção por fitopatógenos, fatores climáticos e falta de matéria prima de alta qualidade (Fontana; Nicola; Hoeberechts, 2006; Shelepova et al., 2021; Zayova; Kirova; Geneva, 2021).

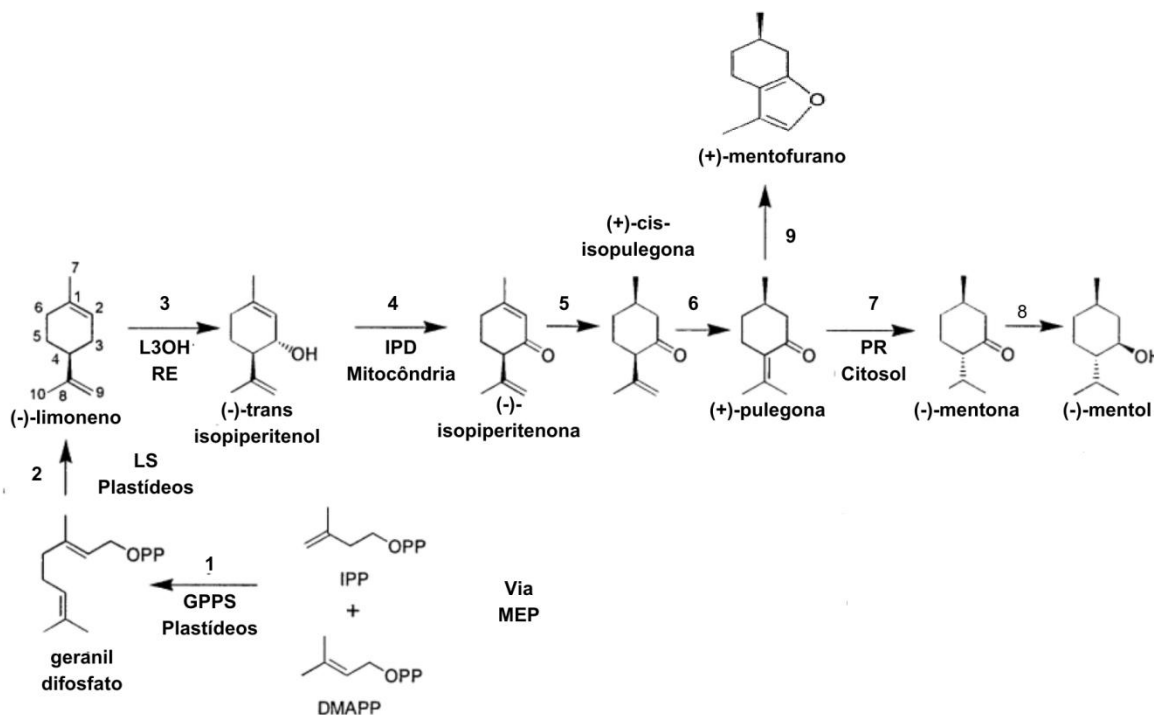
A hortelã pimenta se adapta bem em várias condições climáticas, porém tem melhor desenvolvimento em climas frios, úmidos, solos profundos, rico em compostos orgânicos (húmus), bem drenado, com pH quase neutro para melhor absorção dos nutrientes. Além disso, o fotoperíodo é um fator importante que influencia o maior rendimento do óleo e a sua qualidade, a espécie necessita de várias horas de luz solar durante a sua fase vegetativa, para a produção dos compostos de interesse, enquanto, que a sombra promove a produção de ésteres e cetonas (Pushpangadan; Tewari, 2006).

No Brasil houve uma redução da produção de hortelã pimenta, devido problemas de fertilidade e manejo do solo (Paulus et al., 2007), pois as condições nutricionais do solo são importantes para a biossíntese dos metabólitos secundários (Amorim et al., 2021), além de pragas e doenças, como fungos, vírus, bactérias, nematoides e insetos, esses fitopatógenos têm afetado o cultivo da espécie, dificultando o atendimento da demanda global, isso ocorre porque eles podem reduzir a produção dos óleos essenciais em até 60% a 80% (Maurya et al., 2024).

2.2.2 Química da espécie *Mentha piperita*

Os monoterpenos pertencentes à classe dos terpenóides presentes no óleo volátil da hortelã-pimenta. São sintetizados a partir da rota metabólica do metil-eritritol-4-fosfato, que tem como precursor o gliceraldeído-3-fosfato subproduto do metabolismo primário, que após ser sintetizado por oito etapas enzimáticas se transforma em geranyl difosfato (Figura 1), dando início ao metabolismo secundário das plantas aromáticas; os monoterpenos são sintetizados e armazenados no interior dos tricomas glandulares (Turner; Croteau, 2004; Croteau et al., 2005).

Figura 1: Rota metabólica da produção do mentol, em *M. piperita* L. As etapas são realizadas pelas enzimas: 1, geranyl difosfato sintase (GPPS); 2, (-)-limoneno sintase (LS); 3, (-)-limoneno-3-hidroxilase (L3OH, hortelã-pimenta); 4a, (-)-*trans*-isopiperitenol desidrogenase (IPD); 5, (-)-isopiperitenona redutase; 6, (+)-*cis*-isopulegona isomerase; 7, (+)-pulegona redutase (PR); 8, (-)-mentol redutase; 9, (+)-mentofurano sintase.



Fonte: Mahmoud; Coteau, 2003; Turner; Croteau, 2004.

A hortelã pimenta produz principalmente óleo essencial, que é um fitocomplexo composto por várias substâncias voláteis que caracterizam o aroma da espécie, como neomentol, mentofurano, hidrato de *cis*-sabineno, germacreno, β -cariofileno, linalol (Salehi et al., 2018), mentol (30–50%), mentona (17–35%), isomentona (5,0–13,0%), acetato de mentila (1,5–7,0%), 1,8-cineol (máx. 1,5%), limoneno (1,5–7,0%), isopulegol (1–3%), pulegona (máx. 2,0%) e carvona (máx. 2,0%).

A composição do óleo essencial varia, tanto quantitativa quanto qualitativamente, de acordo com as condições de cultivo, a localização geográfica e, principalmente, o momento da colheita. No início do desenvolvimento da planta, a mentona é o composto predominante, no entanto, à medida que o broto cresce, o teor de mentol aumenta, tornando-se o composto majoritário (Kalembra; Synowiec, 2020). Em condições de estresse e dias curtos ocorre maior biossíntese e armazenamento de mentofurano (Rios-Esteva et al., 2007). Além disso, outros

compostos são produzidos pela espécie, como flavonoides, ácidos fenólicos e esteroides são produzidos pela espécie (Zhao et al., 2022; Asadi et al., 2023).

2.2.3 Importância econômica

O comércio internacional dos óleos essenciais movimentou mais de US\$10 bilhões em 2021, sendo o Brasil o maior produtor de óleo essencial de laranja e o quinto exportador, ficando atrás dos Estados Unidos, China, Índia e França, além de movimentar cerca de US\$800 milhões em 2020 e produzir aproximadamente 60 mil toneladas de óleo essencial (Bizzo; Rezende, 2022)

Os óleos essenciais das hortelãs são considerados “commodities”, e o preço varia de acordo com a oferta e demanda mundial; o mentol é o composto majoritário, mas dependendo da quantidade das outras substâncias a qualidade organoléptica pode ser alterada, além disso, alguns componentes possuem valor comercial para a indústria de cosméticos, alimentícia e farmacêutica (Paulus et al., 2005). Desde 1997 o Brasil exportou aproximadamente 141 toneladas de óleo volátil de *Mentha piperita* L., o que gerou cerca de US\$4 milhões (Bieski et al., 2022).

O mentofurano é um composto aromático produzido naturalmente nos botões florais e em folhas jovens. Esse monoterpene é de grande importância para a indústria de aromas, que possui uma demanda estimada em 150-200 Mt/ano, para produção de perfumes (Kumar; Shukla; Samad, 2014).

Além do óleo essencial a espécie é utilizada para produção de chás por infusão a partir de suas folhas, como condimentos, aromatizantes de bebidas e na produção de perfumes e produtos de higiene, por conta desses usos cerca de 2367 toneladas/ano são produzidas mundialmente (Rodrigues; Gonzaga, 2001).

O chá é uma bebida de grande interesse econômico e social, aproximadamente 18 a 20 bilhões de xícaras são consumidas diariamente, devido as propriedades medicinais presentes nos infusos (Grujic; Pocajt; Ristic, 2009). O chá de hortelã pimenta é consumido mundialmente (Juroski; Pietruszka; Krośniak, 2023). No Brasil o consumo de chá teve um crescimento de aproximadamente 43% no mercado entre 2019 e 2023, movimentando R\$1,5 bilhões (Tamamar, 2023).

Em 2022, o mentol, principal composto das mentas com maior demanda no mercado global, gerou um lucro estimado de US\$765 milhões para os maiores produtores: Índia, China e Brasil (Prasad et al., 2024).

2.3 Cultura de tecidos de plantas medicinais

A cultura de tecidos vegetais é um conjunto de técnicas, que permitem o crescimento e a multiplicação de uma planta em grande escala. É uma técnica que baseia na totipotência da célula para regenerar de uma planta *in vitro*, em meio nutritivo e em condições assépticas. Além disso, as condições ambientais de luz (intensidade, qualidade e duração), umidade e temperatura, também são controlados (Carvalho; Vidal, 2003; Eck; Smith, 2018).

Durante o cultivo *in vitro* é importante fornecer as condições nutricionais e a sinalização hormonal, para que ocorra o processo de morfogênese (organogênese e embriogênese). O meio de cultura frequentemente utilizado como base é o de Murashige e Skoog (MS) criado em 1962, é composto por vitaminas, micronutrientes, macronutrientes, ferro, EDTA, fonte de carbono, além da adição ou não de agentes solidificantes. O pH também precisa ser controlado, pois afeta a absorção dos nutrientes e reguladores de crescimento, que por sua vez possuem efeitos profundos sobre as respostas do explante durante as diferentes fases do cultivo (Souza; Rescarelli; Nunez, 2018).

Existem várias técnicas na cultura de tecido, a micropropagação é a técnica mais utilizada. É realizada a partir de pequenos fragmentos (explantes) contendo células meristemáticas da planta matriz, regenerando uma planta geneticamente idêntica (Veira et al., 2021). A clonagem *in vitro* permite a produção de organismos vegetais selecionados, com características superiores a propagação convencional (Mezzalira; Kuhn, 2021). A propagação *in vitro* possibilita a produção em escala comercial em um curto período de tempo de plantas geneticamente idênticas, uniformes e com alta qualidade sanitária, já que são cultivadas em meio asséptico e controlado (Silva et al., 2020), além de contribuir com a conservação de espécies em risco de extinção e ser possível realizar pesquisas em diferentes áreas como a genética, fitopatologia e fisiologia vegetal (Cid et al., 2014). A utilização da micropropagação é importante não só para propagar plantas de interesse da agricultura, como também farmacológico, já que é possível produzir plantas, que servirão como fonte de compostos biologicamente ativos e para o aprimoramento da produção de fitoterápicos (Morais et al., 2012).

2.4 Importância da intensidade e qualidade de luz no desenvolvimento das plantas

A luz é uma energia eletromagnética, caracterizada por ser uma partícula chamada de fóton; cada fóton possui uma quantidade de energia que não é contínua, devido as diferentes frequências de onda, por conta dessa variação energética as plantas absorvem diferentes intensidades; a qualidade da luz é a cor do espectro absorvido em diferentes comprimentos de

onda, indicando a quantidade de energia captada pelas plantas, sendo que a luz verde é refletida, enquanto as cores azul e vermelha são absorvidas para a realização da fotossíntese (Taiz et al., 2017).

A luz solar além de ser uma fonte de energia para a fotossíntese, serve como um sinal para regular os processos do desenvolvimento da planta, desde a germinação da semente ao desenvolvimento do fruto e à senescência. Os pigmentos fotossintéticos, são moléculas que absorvem a luz em comprimentos de onda específicos; e os fotorreceptores são moléculas receptoras, que detectam a intensidade de luz (quantidade de energia luminosa que a planta recebe), qualidade de luz (comprimento de ondas específicos) e o fotoperíodo (tempo de exposição) (Taiz et al., 2017). A luz influencia o desenvolvimento das plantas (fotomorfogênese) e a produção de metabólitos secundários; a resposta da planta depende de todos esses fatores e suas interações (Dou; Niu, 2019).

As plantas possuem 4 famílias de fotorreceptores que captam a luz do UV-B ao infravermelho, os fitocromos que absorvem a luz vermelha e vermelha distante, criptocromo, fototropinas e membros da Zeituple, que captam a luz azul e UV-A, além da intensidade luminosa (Kami et al., 2010). A luz vermelha é importante para o alongamento do caule, mudanças na condutância estomática, anatomia das plantas (Vieira et al., 2015), regulação de hormônios endógenos, germinação, síntese de antocianina e florescimento (Taiz et al., 2017). Enquanto, que a inibição do crescimento do broto, estímulo da citocinina (Kaloitzoglou et al., 2021), controle da abertura estomática, expansão foliar e aumento na produção de antocianinas, são respostas do criptocromo a presença de luz azul (Taiz et al., 2017).

As clorofilas são pigmentos fotossintéticos que captam principalmente a luz vermelha e azul para a produção da fotossíntese, esses espectros estão presentes na região fotossinteticamente ativa (PAR), que varia entre 400 a 700 nm (Fan et al., 2022). Os carotenoides são pigmentos de coloração alaranjada que foto protegem o aparato fotossintético e conduz a energia luminosa para as clorofilas.

A luz é um regulador importante da biossíntese dos terpenos em diferentes órgãos da planta, responsável por melhorar a produção e a qualidade; o espectro modifica o perfil dos compostos, intensidade e o fotoperíodo controla a abundância dos terpenos (Avilés et al., 2024). O comprimento de onda vermelho ativa os genes responsáveis pela regulação da síntese dos monos e sesquiterpenos, enquanto, que a luz azul atua como um inibidor de alguns compostos terpenóides (Zhang et al., 2021).

2.4.1 Utilização da intensidade e qualidade de luz na micropropagação das plantas medicinais

Os diodos emissores de luz (LED) podem ser utilizados como fonte de luminosidade nas salas de crescimento, sendo possível aplicar diferentes intensidades para otimizar o crescimento, acúmulo de biomassa da parte aérea e da raiz e a propagação das mudas, além disso, os gastos com energia são menores quando comparado com o uso de lâmpadas fluorescentes (Nakonechnaya et al., 2019).

A intensidade de luz é muito importante para o desenvolvimento das plântulas (Kornova; Popov, 2009). As condições de cultivo são específicas de cada espécie e/ou cultivar, que possui intensidade de luz ideal para conduzir a fotossíntese e diferentes espectros de luz desencadeiam foto respostas, que regulam o desenvolvimento das plantas de maneiras diferentes (Brito et al., 2023). A espécie *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng (Lamiaceae) quando cultivada a partir de segmentos nodais sob intensidade $69 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, tem aumento significativo na produção de biomassa seca e no teor carvacrol (Silva et al., 2017). A *Mentha viridis* L. (Lamiaceae) quando cultivada sob luz vermelha tem um aumento da produção de D-carvona, além disso, nas intensidades 51, 64 e $76 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ tem-se a maior taxa de limoneno, enquanto, que 28 e $113 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ melhora o teor de linalol (Alvarenga et al., 2018).

A utilização de diferentes comprimentos de onda na micropropagação é uma forma viável de aumentar a qualidade das plantas, já que o espectro modifica a morfogênese das plantas por meio dos fotorreceptores (Braga et al., 2010). Em estudos realizados sobre *cultivo in vitro* da *Mentha spicata* L. (Lamiaceae) Cunha e seus colaboradores (2019) observaram que a espécie quando cultivada sobre a combinação de diodos emissores de luz (LED) 30% vermelho: 70% azul, possui melhor crescimento e produção de carvona e 1,8 cineol. A *Lippia rotundifolia* Cham (Verbenaceae) produz maior teor de mirceno e limoneno, quando cultivada sob espectro monocromático azul, enquanto, que a luz vermelha aumenta o teor de mircenona, mas quando esses dois espectros são combinados ocorre maior produção de pentadecano e crescimento das plântulas (Hsie et al., 2019).

Um dos fatores que afetam o metabolismo secundário das plantas é o tipo de cultivo e a luz, que interferem diretamente na fotossíntese. Dessa forma, ocorre alterações no conteúdo e na composição dos metabólitos secundários das plantas. A espécie *Acmella oleracea* L. (Asteraceae) quando cultivada sob a luz vermelha apresenta maiores quantidades dos componentes majoritários trans-cariofileno (13,04% e 8,89%) e 2-tridecanona (16,45% e 15,09%) no óleo essencial (Dedino et al., 2022).

2.5 Sistema de Ventilação Natural (SVN) no cultivo *in vitro*

Dentro da técnica de micropropagação é possível utilizar tampas nos frascos que permitem maiores trocas gasosas formando um sistema de ventilação natural, que proporciona a obtenção de mudas de alta qualidade, plântulas mais responsivas e vigorosas (Guanais; Moraes; Junior, 2022). A micropropagação utilizando o sistema de ventilação natural aumenta as trocas gasosas no cultivo *in vitro*. Além disso, o uso das membranas permeáveis melhora os processos fisiológicos, anatômicos e o crescimento das plântulas, além de diminuir a contaminação e permitir o cultivo fotoautotrófico das plantas (Silva et al., 2017; Junior et al., 2022).

Nesse sistema são utilizados explantes com folhas ou clorofilados de diferentes espécies micropropagadas que possuem maior capacidade fotossintética, sendo seu desenvolvimento e crescimento promovido sem adicionar açúcar no meio de cultura. Dessa forma, as plântulas continuam fotoautotróficas podendo ser micropropagadas em larga escala, uniformes, se desenvolvem mais rápido sem a utilização de reguladores de crescimento, com baixo índice de contaminação (ausência de sacarose que proporciona o desenvolvimento de microrganismos), apresentam maior porcentagem de sobrevivência quando aclimatizadas, podendo ocasionar a diminuição dos custos da produção (Kozai; Kubota; Jeong, 1997).

No sistema de ventilação natural é utilizado nas tampas, material de suporte fibroso ou com alta porosidade, para proporcionar melhor difusão dos gases entre o meio externo e o meio interno (Xiao; Niu; Kozai, 2011). No sistema convencional de vedação do cultivo *in vitro* a utilização do plástico de polipropileno para vedar os frascos dificulta as trocas gasosas, conseqüentemente causa distúrbios morfofisiológicos, ocasionando prejuízos econômicos e falhas na aplicação da técnica, como o desenvolvimento de plântulas menos vigorosas e o maior acúmulo de vapor d'água no interior dos tubos (Junior et al., 2022), o que aumenta a hiperhidricidade. Apesar do sistema convencional prevenir a desidratação dos explantes e do meio de cultura, a elevada concentração de etileno e a baixa taxa de CO₂ restringe as trocas gasosas, ocasionando a redução das taxas de transpiração e da fotossíntese (Schuelter et al., 2015), resultando em baixa sobrevivência das plântulas quando aclimatizadas (Kozai; Kubota; Jeong, 1997). No sistema de ventilação natural as plântulas desenvolvem estômatos funcionais, que impedem a dissecação das mudas após o transplante aumentando a sobrevivência (Braga et al., 2010).

As plântulas quando crescem em condições fotoautotróficas apresentam um sistema radicular saudável e melhor desenvolvido, multiplicação de brotos bem desenvolvidos, maior área foliar, o que proporciona melhor adaptação das plântulas quando transplantadas (Cha-

Um et al., 2011). As plantas medicinais quando cultivadas sobre sistema de ventilação natural tem um aumento da concentração de hexoses, amido e produção dos metabólitos secundários, como compostos fenólicos e flavonoides (Fortini et al., 2021).

REFERÊNCIAS

- ABBAS, W.; HUSSAIN, W.; BADSHAH, L.; HUSSAIN, K.; PIERONI, A. Traditional wild vegetables gathered by four religious groups in Kurram District, Khyber Pakhtunkhwa, North-West Pakistan. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 67, p. 1521-1536, 2020. <https://doi.org/10.1007/s10722-020-00926-3>
- ALVARENGA, J. P.; PACHECO, F. V.; BERTOLUCCI, S. K. V.; SILVA, S. T.; OLIVEIRA, T. de; PINTO, J. E. B. P. *In vitro* culture of *Mentha viridis*: quality and intensity of light on growth and production of volatiles. In: **VII International Symposium on Production and Establishment of Micropropagated Plants 1224**, p. 175-182, 2017. 10.17660/ActaHortic.2018.1224.23
- AMORIM, E. L.; SILVA, F. da; NETO, M. T. DE C.; ALVES, L. S.; OLIVEIRA, M. E. F. de; PACHECO, J. L. F. Evaluation of different organic substrates in the biomass production of mint (*Mentha piperita* L.). **Latin American Journal of Development**, v. 3, n. 5, p. 3313-3319, 2021. <https://doi.org/10.46814/lajdv3n5-046>
- ASADI, M.; NASIRI, Y.; MAGGI, F.; RASOULI, F.; MORSHEDLOO, M. R. Biomass Yield and Essential Oil Chemical Composition of *Mentha x piperita* as Affected by Amino Acids and Different Fertilizer Resources. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 23, n. 1, p. 668-682, 2023. <https://doi.org/10.1007/s42729-022-01073-7>
- AVILÉS, W. C.; HEUVELINK, E.; MARCELIS, L. F. M.; KAPPERS, I. F. Ménage à trois: light, terpenoids, and quality of plants. **Trends in Plant Science**, v. 20, n. 20, p. 1-17, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2024.02.007>
- BIESKI, I. G. C.; SANTOS, J. L. U. D.; FERREIRA, M. D. L.; GARCIA, P. C.; DOURADO, S. H. A.; JANUÁRIO, A. B.; MESSIAS, T. E.; APOLINÁRIO, J. M. dos S. da. Potencial econômico e terapêutico dos óleos essenciais mais utilizados no Brasil. **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, n. 1, p. 125-137, 2022. 10.32712/2446-4775.2022.1203
- BIZZO, H. R.; REZENDE, C. M. O mercado de óleos essenciais no Brasil e no mundo na última década. **Química Nova**, v. 45, p. 949-958, 2022. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170889>
- BRAGA, F. T.; PASQUAL, M.; CASTRO, E. M. DE; DIGNART, S. L.; RAFAEL, G. C.; NUNES, C. F. Luz natural e sistemas de vedação na propagação *in vitro* de crisântemo cv. Rage: alterações anatômicas e fisiológicas. **Plant Cell Culture & Micropropagation**, v. 6, n. 2, p. 82-89, 2010.
- BRASIL, Ministério da Saúde. **Plantas medicinais de interesse do SUS-RENISUS**. 2022.

BRITO, C.; FERREIRA, H.; DINIS, L. T.; TRINDADE, H.; MARQUES, D.; CORREIA, C. M.; MOUTINHO-PEREIRA, J. Different LED light intensity and quality change perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) physiological and growth responses and water and energy consumption. **Frontiers in Plant Science**, v. 14, 2023. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1160100>.

BUPESH, G.; AMUTHA, C.; NANDAGOPAL, S.; GANESHKUMAR, A.; SURESHKUMAR, P.; MURALI, K. S. Antibacterial activity of *Mentha piperita* L.(peppermint) from leaf extracts-a medicinal plant. **Acta Agriculturae Slovenica**, v. 89, n. 1, p. 73-79, 2007.

CARVALHO, J. M. F. C; VIDAL, M. S. **Noções de cultivo de tecidos vegetais**. Campina Grande: Embrapa, 2003.

CHA-UM, S.; CHANSEETIS, C.; CHINTAKOVID, W.; PICHAKUM, A.; SUPAIBULWATANA, K. Promoting root induction and growth of *in vitro* macadamia (*Macadamia tetraphylla* L. 'Keauu') plantlets using CO₂-enriched photoautotrophic conditions. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 106, p. 435-444, 2011. <https://doi.org/10.1007/s11240-011-9940-8>

CHIS, M. S.; MUSTE, S.; PĂUCEAN, A.; MAN, S.; POP, A.; POP, C. R.; MARTIȘ, G. S. A comprehensive review of medicinal and therapeutic uses of *Mentha piperita*. **Hop na Medicinal Plants**, n. 1-2, p. 38-49, 2019.

CROTEAU, R. B.; DAVIS, E. M.; RINGER, K. L.; WILDUNG, M. R. (-)-Menthol biosynthesis and molecular genetics. **Naturwissenschaften**, v. 92, p. 562-577, 2005. <https://doi.org/10.1007/s00114-005-0055-0>

CUNHA, S. H. B.; SILVA, S. T.; BERTOLUCCI, S. K. V.; CARVALHO, A. A. DE; ROCHA, T. T.; PINTO, J. E. B. P. Influência da qualidade de luz no crescimento e acúmulo de voláteis de *Mentha spicata* cultivada *in vitro*. **Scientia Plena**, v. 15, n. 9, 2019. <https://doi.org/10.14808/sci.plena.2019.090201>

DEDINO, D. B.; LIMA, J. D. de; BORTOLUCCI, W. D. C.; RIVADAVEA, W. R.; LOVATO, E. C.; GAZIM, Z. C. Red LED light and different cultivation methods changed the essential oil composition of *Acmella oleracea*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 151, n. 3, p. 511-520, 2022. <https://doi.org/10.1007/s11240-022-02367-5>.

DESCHAMPS, C. ZANATTA, J. L.; ROSWALKA, L.; OLIVEIRA, M. de M.; BIZZO, H. R.; ALQUINI, Y. Densidade de tricomas glandulares e produção de óleo essencial em *Mentha arvensis* L., *Mentha x piperita* L. e *Mentha cf. aquatica* L. **Ciência e Natura**, v. 28, n. 1, p. 23-34, 2006.

DOU, H.; NIU, G. Plant responses to light. In: **Plant Factory**. Academic Press, 2020. p. 153-166. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816691-8.00009-1>

ECK, J. M. V.; SMITH, F. D. "Tissue culture". **Environmentally Safe Approaches to Crop Disease Control**. p. 317-331, 2018. <https://doi.org/10.1201/9781351071826>

FAN, C.; MANIVANNAN, A.; WEI, H. Light Quality-Mediated Influence of Morphogenesis in Micropropagated Horticultural Crops: A Comprehensive Overview. **BioMed Research International**, v. 2022, n. 1, p. 4615079, 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/4615079>

FARMACOPEIA. **Formulário de fitoterápicos da farmacopeia brasileira**, 2^a ed, 2021.

FARMACOPEIA. **Farmacopeia Brasileira**, v. 1, 6^a ed, 2019.

FONTANA, E.; NICOLA, S.; HOEBERECHTS, J. Rooting products and cutting timing for peppermint (*Mentha × piperita* L.) radication. In: **I International Symposium on the Labiatae: Advances in Production, Biotechnology and Utilisation 723**. p. 297-302, 2006.

FORTINI, E. A.; BATISTA, D. S.; MAMEDES-RODRIGUES, T. C.; FELIPE, S. H. S.; CORREIA, L. N. F.; CHAGAS, K.; SILVA, P. O.; ROCHA, D. I.; OTONI, W. C. Gas exchange rates and sucrose concentrations affect plant growth and production of flavonoids in *Vernonia condensata* grown *in vitro*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 144, p. 593–605, 2021. <https://doi.org/10.1007/s11240-020-01981-5>.

GUANAIS, D. D.; MORAES, F.; JUNIOR, P. C. F. Cultivo *in vitro* de *Acca sellowiana* (o. berg.) burret. em sistema de ventilação natural com tampas comerciais. **Enciclopédia biosfera**, v. 19, n. 42, p. 190-197, 2022.

GRUJIC, A. P.; POCAJT, V.; RISTIC, M. Determination of heavy metal concentrations in tea samples taken from Belgrade market, Serbia. **Hem Ind**, v. 63, n. 5, p. 433-436, 2009. 10.2298/HEMIND0905433P

HOLM, Y.; JOKINEN, K.; SAARIKKO, E.; HILTUNEN, R. The quality of peppermint oil in micropropagation experiments. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 4, p. 2,p. 81–84, 1989. <https://doi.org/10.1002/ffj.2730040210>

HSIE, B. S. de; BUENO, A. I. S.; BERTOLUCCI, S. K. V.; CARVALHO, A. A. de; CUNHA, S. H. B. da; MARTINS, E. R.; PINTO, J. E. B. P. Study of the influence of wavelengths and intensities of LEDs on the growth, photosynthetic pigment, and volatile compounds production of *Lippia rotundifolia* Cham *in vitro*. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 198, n. 111577, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2019.111577>.

JUNIOR, J. B. O. de.; PESSOA, C. M. P.; SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E.; LOPES, H. da S.; COSTA, F. H. da S. A simple, alternative and efficient sealing system to improve natural ventilation in culture vessels and the morphophysiological and anatomical quality of *Croton lechleri* (Muell. Arg.) grown *in vitro*. **Biologia**, v. 77, n. 10, p. 2945-2954, 2022. <https://doi.org/10.1007/s11756-022-01140-5>.

JUROWSKI, K.; PIETRUSZKA, E. K.; KROŚNIAK, M. The toxicological safety assessment of heavy metal impurities (As, Pb, and Cd) in mint tea infusions (*Mentha piperita* L.) available in Polish markets. **Biological Trace Element Research**, v. 201, n. 5, p. 2627-2635, 2023. <https://doi.org/10.1007/s12011-022-03348-7>

KALAITZOGLOU, P.; TAYLOR, C.; CALDERS, K.; HOGERVORST, M.; IEPEREN, W. V.; HARBINSON, J.; VISSER, P. de; NICOLE, C. C. S.; MARCELIS, L. F. M. Unraveling the effects of blue light in an artificial solar background light on growth of tomato

plants. **Environmental and Experimental Botany**, v. 184, p. 104377, 2021.
<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2021.104377>

KALEMBA, D.; SYNOWIEC, A. Agrobiological interactions of essential oils of two menthol mints: *Mentha piperita* and *Mentha arvensis*. **Molecules**, v. 25, n. 1, p. 59, 2019.
<https://doi.org/10.3390/molecules25010059>

KAMI, C.; LORRAIN, S.; HORNITSCHKE, P.; FANKHAUSER, C. Light-regulated plant growth and development. **Current topics in developmental biology**, v. 91, p. 29-66, 2010.
[https://doi.org/10.1016/S0070-2153\(10\)91002-8](https://doi.org/10.1016/S0070-2153(10)91002-8)

KHOURI, A. G.; SOUZA, Á. P. S.; MAGALHÃES, F. G.; PAIVA, C. C. de S.; da Silveira, A. A.; de MORAIS, M. C. Utilização de *Mentha piperita* para o tratamento da síndrome do intestino irritável (SII): Revisão narrativa. **Referências em Saúde do Centro Universitário Estácio de Goiás**, v. 4, n. 02, p. 35-39, 2021.

KORNOVA, K. M.; POPOV, S. K. Effect of the *in vitro* container type on growth characteristics of the microplants *in vitro* propagation of GF 677. **Acta Horticulturae**, v. 825, n. 39927, p. 277-282, 2009. 10.17660/ActaHortic.2009.825.44

KOZAI, T.; KUBOTA, C.; JEONG, B. R. Environmental control for the large-scale production of plants through *in vitro* techniques. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 51, p. 49-56, 1997. <https://doi.org/10.1023/A:1005809518371>

LOPES, T. de A. J.; SOUZA, W. G. M. de.; ABREU, M. de C. Caracterização de plantas alimentícias não convencionais pertencentes à família Lamiaceae baseada em dados bibliográficos. **Biodiversidade**, v. 20, n. 2, p. 63-92, 2021.

MAHENDRAN, G.; RAHMAN, L. U. Ethnomedicinal, phytochemical and pharmacological updates on Peppermint (*Mentha x piperita* L.)-A review. **Phytotherapy Research**, Lucknow, v. 34, n. 9, p. 2088-2139, 2020. <https://doi.org/10.1002/ptr.6664>

MAURYA, A.; SHARMA, R.; YADAV, H.; MANDAL, D.; SHUKLA, A. C. *Mentha spp.*: A Miraculous Plant with Pharmaceutical Uses. **Advances in Medicinal and Aromatic Plants**, v. 2, p. 53.

MEZZALIRA, F. K.; KUHN, B. C. Padronização de um protocolo para assepsia de segmentos nodais de *Phalaenopsis* para clonagem *in vitro*. **Colloquium Agrariae**, v. 17, n. 1, 2021. 10.5747/ca.2021.v17.n1.a415

NAKONECHNAYA, O. V.; GAFITSKAYA, I. V.; BURKOVSKAYA, E. V.; KHROLENKO, Y. A.; GRISHCHENKO, O. V.; ZHURAVLEV, Y. N.; SUBBOTIN, E. P.; KULCHIN, Y. N. Effect of Light Intensity on the Morphogenesis of *Stevia rebaudiana* under *In Vitro* Conditions. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 66, n. 4, p. 656-663, 2019.
<https://doi.org/10.1134/S1021443719040095>.

NAVEEN, K. L.; BHATTACHARJEE, A.; HEGDE, K.; SHABARAYANBSP, A. A Detailed Review on Pharmacological Profile of *Mentha piperita*. **RGUHS Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 10, n. 1, 2020. 10.26463/rjps.10_1_7

PAULUS, D.; MEDEIROS, S. L. P.; SANTOS, O. S.; MANFRON, P. A.; PAULUS, E.; FABBRIN, E. Teor e qualidade do óleo essencial de menta (*Mentha arvensis* L.) produzida sob cultivo hidropônico e em solo. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 9, n. 2, p. 80-87, 2007.

PRASAD, P.; GUPTA, A.; SINGH, V.; KUMAR, B. Impact of induced mutation-derived genetic variability, genotype and varieties for quantitative and qualitative traits in *Mentha* species. **International Journal of Radiation Biology**, v. 100, n. 2, p. 151-160, 2024. <https://doi.org/10.1080/09553002.2023.2263595>

PUSHPANGADAN, P.; TEWARI, S. K. **Peppermint**. In: Handbook of Herbs and Spices. Woodhead Publishing, p. 460-481, 2006.

RAYAN, A.; CHADIA, O.; AZZEDINE, E. R.; ABDELLAH, M.; ZAKARIA, B.; ABDELAZIZ, E.; ZAHRA, B. F.; OTMAN, E. G.; ABDALLAH, D.; LHOUSAINE, B. A comparative study of the chemical composition and antioxidant capacity of the essential oils from three species of *Mentha* cultivated in Morocco. **Journal of Pharmacy and Pharmacognosy Research**, v. 12, n. 6, p. 1021–1039, 2024.

RIOS-ESTEPA, R.; TURNER, G. W.; LEE, J. M.; CROTEAU, R. B.; LANGE, B. M. A systems biology approach identifies the biochemical mechanisms regulating monoterpenoid essential oil composition in peppermint. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, n. 8, p. 2818-2823, 2008.

RODRIGUES, V. G. S.; GONZAGA, D. S. de O. M. **Hortelã pimenta**. EMBRAPA: Porto Velho, 2001.

SALEHI, B.; RADÍĆ, Z. S.; MATEJÍČ, J.; SHAROPOV, F.; ANTOLAK, H.; KREĠIEL, D.; SEN, S.; RAD, M. S.; ACHARYA, K.; RAD, R. S.; MARTORELL, M.; SUREDA, A.; MARTINS, N.; RAD, J. S. Plants of genus *Mentha*: From farm to food factory. **Plants**, v. 7, n. 3, p. 70, 2018. <https://doi.org/10.3390/plants7030070>

SANTOS, G. A. dos; BRENZAN, G. M. A.; SERRA, L. Z. Influência do cultivo na produção de biomassa, teor e composição do óleo essencial de *Mentha spicata*. **SaBios-Revista De Saúde E Biologia**, v. 8, n. 3, p. 19-25, 2013.

SCHUELTER, A. R.; LUZ, C. L. da; SCHERER, A. M.; SOUZA, C. S. DE; STEFANELLO, S. Disponibilidade de luz, tipo de vedação e de frasco na germinação e crescimento inicial *in vitro* de plântulas de cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal). **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 14, n. 3, p. 183-190, 2015. 10.18188/sap.v14i3.10212

SHELEPOVA, O. V.; OLEKHNOVICH, L. S.; KONOVALOVA, L. N.; KHUSNETDINOVA, T. I.; GULEVICH, A. A.; BARANOVA, E. N. Assessment of essential oil yield in three mint species in the climatic conditions of Central Russia. **Agronomy Research**, v. 19, n. 4, p. 1970–1980, 2021. <https://doi.org/10.15159/AR.21.113>

SIMPLÍCIO, V. dos S.; CONCE, M. C.; DALLAGNOL, L. J. Tricomas: defesa ou vulnerabilidade para a planta na interação com microrganismos. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 28, p. 184-199, 2022.

SILVA, C. P. da; PISTORI, M. F.; BLINI, R. C. B.; SANTANA, A. P. L. de. Reguladores vegetais no crescimento e desenvolvimento de plantas cultivadas *in vitro*. **Agricultura** **4.0**, p. 51, 2020. <https://doi.org/10.46420/9786599064159>

SILVA, S. T.; BERTOLUCCI, S. K. V.; CUNHA, S. H. B. da; LAZZARINI, L. E. S.; TAVARES, M. C.; PINTO, J. E. B. P. Effect of light and natural ventilation systems on the growth parameters and carvacrol content in the *in vitro* cultures of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 129, p. 501-510, 2017. <https://doi.org/10.1007/s11240-017-1195-6>

SOUZA, J. C. de.; RESCAROLLI, C. L. de S.; NUNEZ, C. V. Produção de metabólitos secundários por meio da cultura de tecidos vegetais. **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 3, p. 269-280, 2018. 10.17648/2446-4775.2018.550

TAIZ, L. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Artmed Editora, 2017.

TALANKOVA-SEREDA, T. E.; KOLOMIETS, J. V.; HOLUBENKO, A. V.; NUZHYNIA, N. V. The influence of clonal micropropagation on productivity and differentiation of *Mentha piperita* plant tissues. **Regulatory Mechanisms in Biosystems**, v. 10, n. 3, 2019. 10.15421/021952

TAMAMAR, G. Mercados de chás esquentas no Brasil. **SEBRAE Cultura Empreendedora**. 3, fev, 2023. Disponível em: <https://sp.agenciasebrae.com.br/cultura-empreendedora/mercado-de-chas-esquentas-no-brasil/>. Acesso em: 15, nov, 2024.

TREVISAN, S. C. C.; MENEZES, A. P. P.; BARBALHO, S. M.; GUIGUER, E. L. Properties of *Mentha piperita*: a brief review. **World Journal of Pharmaceutical and Medicinal Research**, v. 3, n. 1, p. 309-313, 2017.

TURNER, G. W.; CROTEAU, R. Organization of monoterpene biosynthesis in *Mentha*. Immunocytochemical localizations of geranyl diphosphate synthase, limonene-6-hydroxylase, isopiperitenol dehydrogenase, and pulegone reductase. **Plant physiology**, v. 136, n. 4, p. 4215-4227, 2004. <https://doi.org/10.1104/pp.104.050229>

VIEIRA, M. R. S.; SILVESTREIM, E. G.; FILHO, A. A. de L.; LOPES, A. B.; SILVESTREIM, F. G. Métodos de assepsia na multiplicação *in vitro* da bananeira 'Pacovan' (*Musa spp.*). **Research, Society and Development**, v. 10, n. 16, p. 1-9, 2021. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i16.23965>

WU, Z.; TAN, B.; LIU, Y.; DUNN, J.; GUEROLA, P. M.; TORTAJADA, M.; CAO, Z.; JI, P. Chemical composition and antioxidant properties of essential oils from peppermint, native spearmint and scotch spearmint. **Molecules**, v. 24, n. 15, p. 2825, 2019. <https://doi.org/10.3390/molecules24152825>

XIAO, Y.; NIU, G.; KOZAI, T. Development and application of photoautotrophic micropropagation plant system. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 105, p. 149-158, 2011. <https://doi.org/10.1007/s11240-010-9863-9>

ZAYOVA, E.; KIROVA, E.; GENEVA, M. Optimized cultural conditions for rapid in vitro propagation and conservation of *Mentha piperita* L. **Comptes Rendus Academie Bulgare Sciences**, v. 74, n. 6, p. 945-954, 2021. <https://doi.org/10.7546/crabs.2021.06.18>

ZHANG, S.; ZHANG, L.; ZOU, H.; QIU, L.; ZHENG, Y.; YANG, D.; WANG, Y. Effects of light on secondary metabolite biosynthesis in medicinal plants. *Frontiers in plant science*, v. 12, p. 781236, 2021. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.781236>

ZHAO, H.; REN, S.; YANG, H.; TANG, S.; GUO, C.; LIU, M.; TAO, Q.; MING, T.; XU, H. Peppermint essential oil: Its phytochemistry, biological activity, pharmacological effect and application. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 154, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113559>

CAPÍTULO 2

Crescimento e produção de compostos voláteis em *Mentha piperita* L. *in vitro* sob diferentes intensidades luminosas

RESUMO

A hortelã pimenta (*Mentha piperita* L., Lamiaceae) é uma espécie medicinal, aromática e condimentar. Óleo essencial é rico em compostos voláteis, como o mentol, mentofurano, pulegona e a mentona. A micropropagação é uma técnica que pode ser utilizada para produzir plantas híbridas em escala comercial, homogêneas e livre de patógenos. Além de ser possível estudar os compostos secundários e as respostas fisiológicas as diferentes intensidades luminosas. Objetivo foi avaliar em qual intensidade luminosa a *M. piperita* L. melhor se desenvolve e produz compostos voláteis. Segmentos nodais foram cultivados em meio MS, sob densidade de fluxo de fótons de 20, 57, 78, 102 e 139 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, em sala de crescimento com temperatura de 25 ± 1 °C e fotoperíodo 16h/8h. Após 30 dias foi avaliado crescimento, biomassa seca folhas, caule, raiz e total, pigmentos fotossintéticos e a composição química volátil. As plântulas que se desenvolveram sob 20 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, estiolaram, mas acumularam maior teor de pigmentos fotossintéticos e de α -pineno, β -pineno e mentol. As intensidades de 78, 102 e 139 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ beneficiaram acúmulo de biomassa seca das folhas e total. A densidade do fluxo de fótons não influenciou o teor de mentofurano e pulegona, constituintes majoritários da fração volátil. Conclui-se que a intensidade de 78 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ proporciona o crescimento de plântulas mais vigorosas.

Palavras-chave: micropropagação; hortelã pimenta; planta medicinal; densidade de fluxo de fótons.

Effects of Light Intensities on the Development and Production of Volatile Compounds in *Mentha piperita* L. Cultivated In Vitro

Abstract

Peppermint (*Mentha piperita* L., Lamiaceae) is a medicinal, aromatic and condimentary species. Its essential oil is rich in volatile compounds, such as menthol, menthofuran, pulegone and menthone. Micropropagation is a technique that can be used to produce hybrid plants on a commercial scale, homogeneous and free of pathogens. In addition, it is possible to study the secondary compounds and physiological responses to different light intensities. The objective was to evaluate at which light intensity *M. piperita* L. best develops and produces volatile compounds. Nodal segments were cultivated in MS medium, under photon flux densities of 20, 57, 78, 102 and 139 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, in a growth room with a temperature of 25 ± 1 °C and a photoperiod of 16h/8h. After 30 days, growth, dry biomass of leaves, stems, roots and total, photosynthetic pigments and volatile chemical composition were evaluated. Seedlings that developed under 20 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ became etiolated, but accumulated higher levels of photosynthetic pigments and α -pinene, β -pinene and menthol. The intensities of 78, 102 and 139 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ benefited the accumulation of dry biomass of leaves and total. The density of the photon flux did not influence the content of menthofuran and pulegone, major constituents of the volatile fraction. It is concluded that the intensity of 78 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ provides the growth of more vigorous seedlings.

Keywords: micropropagation; peppermint; medicinal plant; photon flux density.

1. INTRODUÇÃO

A *Mentha piperita* L. pertence à família Lamiaceae é popularmente conhecida, como hortelã pimenta. As espécies do gênero *Mentha* são muito utilizadas como ervas terapêuticas, devido a isso houve um aumento da demanda por produtos, como fitoterápicos, medicamentos e formulações naturais utilizando essa erva (Saqib et al., 2022).

O óleo essencial da *M. piperita* L. é rico em compostos monoterpenos oxigenados, como o mentol e a mentona (Goudarzian et al., 2020). Cerca de 32.000 toneladas métricas de mentol são consumidas anualmente, sendo que apenas 6300 toneladas é sintético (Kamatou et al., 2013). O mentol é o componente de maior demanda mundial, que em 2022 gerou um lucro estimado de US\$765 milhões para os maiores produtores: Índia, China e Brasil (Prasad et al., 2024).

O mentofurano é um composto aromático produzido naturalmente nos botões florais e em folhas jovens. Esse monoterpeno é de grande importância para a indústria de aromas, que possui uma demanda estimada em 150-200 Mt/ano, para produção de perfumes (Kumar; Shukla; Samad, 2014).

Devido a importância da espécie a micropropagação pode ser utilizada em plantas medicinais como uma tecnologia para estudar a produção dos metabólitos secundários, além da aquisição de plantas de elite livres de patógenos, multiplicação de plantas uniformes e em escala comercial (Esposito-Polesi, 2020; Duta-Cornescu et al., 2023).

Vários fatores são importantes para gerar um microambiente ideal para o desenvolvimento saudável das espécies *in vitro*, como a temperatura, umidade, nutrientes, fotoperíodo e principalmente a luz, que regula o crescimento e o desenvolvimento das plantas.

Em *Alocasia amazonica* elevadas densidades de fluxo de fótons aumenta a quantidade de estômatos (Jo et al., 2008), o que auxilia no aumento da fixação de CO₂. Em geral os vegetais que crescem em ótimas condições de luminosidade tem o desenvolvimento normal, comparado com aqueles que se desenvolvem em baixa ou alta irradiância; as plantas em baixa intensidade luminosa tem baixa capacidade fotossintética e assimilação de CO₂ (Leite et al., 2017). Entretanto, o excesso de luz pode foto inibir o fotossistema II, consequentemente afetar o crescimento vegetal e levar ao declínio na fotossíntese (Araújo; Deminicis, 2009).

A intensidade luminosa não só afeta o metabolismo primário, como o secundário também, como observado em estudos com a *Lippia dulcis* (Trev.) (Verbanaceae) (Rocha et al., 2022) e *Hyptis suaveolens* L. (Lamiaceae) (Andrade et al., 2017).

Portanto, é necessário compreender as necessidades específicas de luminosidade de cada espécie, para fornecer aos explantes um microambiente que proporcione o

desenvolvimento de plântulas mais resistentes ao processo de aclimatização e o aumento da produção de metabólitos secundários de interesse medicinal.

Dessa forma, objetivo do presente trabalho foi identificar a intensidade luminosa em que a *M. piperita* L. melhor se desenvolve e produz os compostos voláteis.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local do experimento e origem do material botânico

O estabelecimento *in vitro* e cultivo das plântulas de *Mentha piperita* L. foram realizados no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais e Plantas Medicinais do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (DAG / UFLA) e as análises fitoquímicas no Laboratório de Fitoquímica e Controle de Qualidade (DAG / UFLA), localizado na região sul de Minas Gerais, Brasil, nas coordenadas 21°14 ' S e 45°00 ' W, com 918 m de altitude.

Para o estabelecimento *in vitro* foi coletado de plantas matrizes cultivadas no Horto de Plantas Medicinais (DAG / UFLA) segmentos nodais de 1cm. A assepsia dos explantes foi feita com detergente e água corrente durante 30 minutos. Posteriormente, eles foram imersos em água sanitária (1,25% de cloro ativo) durante 15 min. Na capela de fluxo laminar os explantes foram lavados três vezes com água destilada estéril. Com o auxílio do bisturi e pinça as folhas foram removidas e os segmentos nodais foram inoculados em tubos de ensaio com 12,5 ml do meio de cultura MS (Murashige e Skoog, 1962), contendo 30 gL⁻¹ de sacarose e 5,5 gL⁻¹ de ágar, com pH ajustado para 5,7 ± 0,1 antes de ser autoclavado, durante 20 min a 121 C°).

2.2 Implantação do experimento de intensidade luminosa

Segmentos nodais de um centímetro de plântulas de *M. piperita* previamente estabelecidas foram inoculadas verticalmente em tubos contendo 12,5 ml de meio de cultura MS em capela de fluxo laminar. Após a inoculação dos explantes eles foram mantidos em sala de crescimento, durante 30 dias nas seguintes intensidades luminosas de lâmpadas LED (Diodos Emissores de Luzes) 20, 57, 78, 102, 139 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, em um fotoperíodo de 16h/8h e temperatura de 25 ± 1 °C.

Após 30 dias de cultivo caules, folhas e raízes foram armazenados em sacos de papel Kraft e desidratados em estufa de circulação forçada de ar a 37°C.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com 5 tratamentos (intensidade de luz 20, 57, 78, 102, 139 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), com 5 repetições, tendo 5 tubos em

cada repetição com um explante, totalizando 125 plântulas. Após 30 dias foram avaliados comprimento do maior broto (CB) e do 2º entrenó (CE) em centímetros, número de brotos (NB), número de folhas (NF), biomassa seca das folhas (BSF), caule (BSC), raiz (BSR) e total (BST) em miligramas.

2.3 Análise dos pigmentos fotossintéticos

Os pigmentos fotossintetizantes foram extraídos e mensurados seguindo o método desenvolvido por Hiscox e Israelstam (1979). Os extratos foram preparados a partir de 50 mg de folhas frescas, sem nervuras coletadas em sala escura, iluminada com luz verde. As folhas foram colocadas em tubos Falcon revestidos com papel alumínio, onde foi adicionado 10 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) saturado com carbonato de cálcio (CaCO₃), sendo posteriormente mantidos em estufa de circulação forçada por 24h a 65°C. Uma amostra branca foi preparada apenas com DMSO.

A absorbância das amostras foram lidas em cubeta de quartzo, a partir da solução extrativa diluída em DMSO na proporção de 1:1, nos comprimentos de onda de 480 (carotenoides), 649 (clorofila a) e 665 (clorofila b) nm no espectrofotômetro TECAN INFINITY M200 PRO, contra o branco. As amostras foram preparadas em quadruplicadas.

Para determinação das concentrações das clorofilas *a*, *b* e carotenoides foi utilizado as equações propostas por Wellburn (1994): Clorofila *a* = (12,47 x A665) – (3,62 x A649); clorofila *b* = (25,06 x A649) – (6,5 x A665); carotenóides: (1000 x A480 – 1,29 x Ca – 53,78 x Cb)/220. Para determinar a clorofila total foi realizada a soma dos resultados das equações da clorofila *a* e *b*. Todos os resultados foram expressos em mg (de pigmentos) g⁻¹ (por matéria fresca de folha).

2.4 Preparo do extrato para análise dos fenóis e flavonoides

As folhas secas de *M. piperita* L. foram pulverizadas por trituração em gral e pistilo. Em Eppendorf de 5 mL foram pesados 60 mg de folhas pulverizadas e umedecidas com 200µL de etanol 70%, posteriormente foi adicionado 3 ml de etanol 70%. As amostras foram agitadas em Vórtex por 15 segundos e mantidos em ThermoMixer (Eppendorf ThermoMixer® F2.0) durante 24 horas, programado para a cada 15 minutos, realizar 3 agitações de 10 minutos h⁻¹a 400 rpm. Após 24 horas os extratos foram agitados em Vórtex por 15 segundos, centrifugadas a 6000 rpm, por 10 minutos. A diluição seriada foi realizada com 3 mL do sobrenadante.

2. 5 Doseamento dos fenóis e flavonoides

A quantificação dos compostos fenólicos totais foi feita pelo método de Folin-Ciocalteu com modificações (Singleton e Rossi, 1965). Em microplacas foram adicionados 20 μL do extrato, 120 μL de solução aquosa de Folin-Ciocalteu (10% v/v) e 120 μL de Na_2CO_3 (7,0% p/v). A leitura foi feita no espectrofotômetro TECAN INFINITY M200 PRO na absorbância de 760 nm, após 2 h de incubação em ambiente escuro e temperatura ambiente. A curva de calibração foi construída a partir de solução mãe de 1,0 mgmL^{-1} de ácido gálico (Sigma-Aldrich, $\geq 98\%$) na faixa de 0,0012 a 0,0192 mg mL^{-1} . O conteúdo dos compostos fenólicos totais foi calculado a partir da equação $y = 68,028x + 0,0766$, $R^2 = 0,999$. Os dados foram expressos em miligramas equivalentes de ácido gálico por grama de massa seca de folha (mgEAG gMSF^{-1}).

A quantificação de flavonas/flavonóis empregou-se a metodologia de Pękal e Pyrzyńska (2014) com modificações. Em microplacas foram adicionados 100 μL da amostra seguidas de 100 μL de AlCl_3 (10%) preparados em etanol a 70%. Em seguida, as amostras foram incubadas em ambiente escuro durante 40 min. A leitura foi feita no espectrofotômetro TECAN INFINITY M200 PRO na absorbância de 420 nm. A curva de calibração foi obtida a partir de solução mãe de 1,5 mgmL^{-1} de quercetina (Sigma-Aldrich, $\geq 95\%$) na faixa de 0,0058 a 0,0937 mgmL^{-1} . A quantificação de flavonas/flavonóis nas amostras foi realizada a partir da equação $y = 24,714x + 0,0898$, $R^2 = 0,9982$, sendo os resultados expressos em miligrama equivalente de quercetina por grama de massa seca de folha (mgEQ gMSF^{-1}). As análises foram feitas em triplicata.

2. 6 Análise dos compostos voláteis

Amostras de 30 mg de folhas secas de *M. piperita*, foram acondicionadas em *vials* de 20 mL, vedados com septo de silicone/PTFE. Em seguida, os *vials* foram transferidos para o extrator *headspace* automático CombiPAL Autosampler System (CTC Analytic AG, Switzerland) acoplado ao sistema de CG/EM (Cromatógrafo Gasoso/Espectrômetro de Massa). As condições operacionais do extrator foi temperatura de incubação da amostra de 110°C durante 30 min, temperatura da seringa a 120°C e o volume de injeção de 500 μL da fase de vapor, injetados em modo *split* na razão 10:1.

Foi utilizada uma coluna capilar de sílica fundida HP-5MS (30 m de comprimento x 0,25 mm de diâmetro interno x 0,25 μm de espessura do filme) (Califórnia, EUA). O gás hélio como gás de arraste com fluxo de 1,0 mL min^{-1} ; as temperaturas do injetor e da linha de transferência foram mantidas em 250°C. A temperatura inicial do forno foi de 60°C, seguido

por uma rampa de temperatura de 3°C/min até 240°C, seguida de uma rampa de 10°Cmin⁻¹ até 280°C. As concentrações dos constituintes presentes na fração volátil foram calculadas através da área integral de seus respectivos picos, relacionando a área total de todos os picos. As amostras foram realizadas em triplicata e os resultados expressos na área relativa percentual ± desvio padrão (n=3).

Foram identificados compostos com área superior a 1% por meio da comparação dos seus índices de retenção relativos à co-injeção de uma solução padrão de *n*-alcanos (C8-C20, Sigma-Aldrich®, St. Louis, USA) e por comparação dos espectros de massas do banco de dados da biblioteca NIST/EPA/NHI (Nist, 2008) e da literatura (Adams, 2017; ТКАЧЁВ, 2008). Os índices de retenção foram calculados usando a equação de Van den Dool e Kratz (1963).

2. 8 Análise de estatística

A análises estatísticas foram realizadas por meio do software Sisvar, para comparação das médias foi utilizado o teste de Scott Knott a 5% de probabilidade (Ferreira, 2011).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Análise dos parâmetros de crescimento da espécie *M. piperita* L.

As diferentes intensidades luminosas influenciaram significativamente a fotomorfogênese da *Mentha piperita* L. *in vitro* (Figura 2). Características morfológicas típicas de plântulas estioladas foram observadas no tratamento com intensidade de luz de 20 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, no qual os folíolos e radículas tiveram tamanho reduzido, a haste ficou fina, de aparência hipoclorótica e entrenós mais espaçados (Figura 1). Em contrapartida, o incremento gradual da intensidade de luz promoveu uma maior compactação da arquitetura caulinar dos brotos, acompanhada pelo desenvolvimento robusto da parte aérea, tecido com aparência razoavelmente clorofilada, folhas mais largas e maior crescimento do sistema radicular (Figura 1). Estas observações são evidências de adaptações morfofisiológicas à maior disponibilidade de luz (Figura 1). Esses resultados corroboram a importância da intensidade de luz como fator determinante na modulação de respostas fotomorfológicas em cultivos *in vitro* de hortelã pimenta.

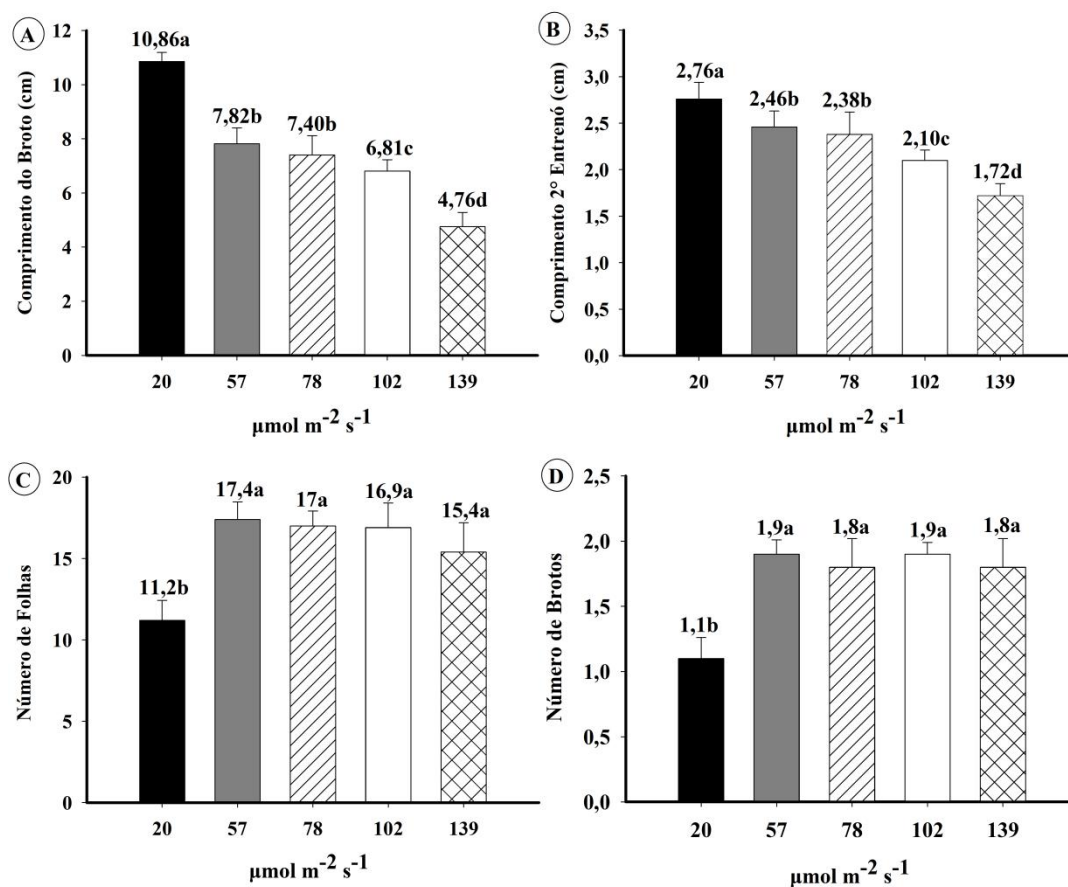
Figura 1. Crescimento das plântulas de hortelã pimenta (*Mentha piperita* L.) *in vitro* sobre diferentes intensidades luminosas.



Fonte: Autores (2025).

As maiores médias de comprimento do broto (10,86 cm) e do 2º entrenó (2,76 cm) foram observadas em plântulas estioladas, que se desenvolveram em 20 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Figura 2A e B). Com o aumento das intensidades luminosas o tamanho do caule foi diminuindo. A intensidade de 139 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ reduziu o crescimento da parte aérea (4,76 cm) e do segundo entrenó (1,72 cm). Isso ocorre por que o crescimento e desenvolvimento das plantas é regulado pela luz, que é detectada pelos fotorreceptores, que captam o comprimento de onda e a intensidade luminosa (Kami et al., 2010).

Figura 2. Crescimento *in vitro* de *Mentha piperita* sob diferentes intensidade luminosas. Comprimento do broto em cm (A), 2º entrenó em cm (B), número de folhas (C) e brotos (D).



*Medias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, entre os tratamentos pelo teste de Scott Knott a nível de 5% de probabilidade.

Fonte: Autores (2025).

A baixa intensidade luminosa desencadeia em plantas uma resposta, fotomorfogênica de alongamento do caule e a redução da massa foliar, como uma adaptação para maximizar a captação de luz (Botterweg-Paredes et al., 2020), isso porque há o estímulo da biossíntese de auxina no ápice do meristema (Hornitschek et al., 2012). Além disso, as giberelinas também desempenham um papel importante na fotomorfogênese, baixas concentrações endógenas de GAs produzidas no interior do caule em altas intensidades luminosas, limitam o crescimento das plantas (Potter; Rood; Zanewich, 1999).

Em altas luminosidades pode ocorrer o redirecionamento do crescimento de um órgão para o outro dos vegetais, devido a redução da produção da auxina que beneficia o desenvolvimento das raízes, conseqüentemente, há o aumento da síntese de citocinina promovendo a formação de novos brotos.

É possível observar que a partir de $57 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ a $139 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ocorre o aumento da produção do número de folhas e brotos, que ficou entre 15,4 a 17,4; 1,8 a 1,9, respectivamente comparado ao controle ($20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), Figura 2C e D. Em plantas estioladas a baixa radiação fotossintética ativa (PAR) diminui a produção de folhas e a fotossíntese (Christophe; Moulia; Grancher, 2006).

Em *Dysphania ambrosioides* L (Amaranthaceae) o maior número de folhas e brotos ocorre nas irradiâncias de 46,69 e 45,79 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Carvalho et al., 2023). Em estudos com *Origanum majorana* L. (Lamiaceae) as plântulas ficaram estioladas sobre intensidade de 26 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e desenvolveram maior número de brotos em 51 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Cossa et al., 2024). Os parâmetros de crescimento e aspectos morfológicos de *Mentha viridis* L. (Lamiaceae) (Alvarenga et al., 2018) corroboram os achados desse trabalho.

As plântulas cultivadas nas intensidades 78, 102 e 139 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, produziram 2,5 e 2,7; 1,87, 1,91 e 1,81 vezes de biomassa seca foliar e total, respectivamente comparado ao controle 20 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Para o caule as melhores médias foram observadas entre 20 a 94 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, ficando entre 4,20 e 4,79 mg (Figura 3 B).

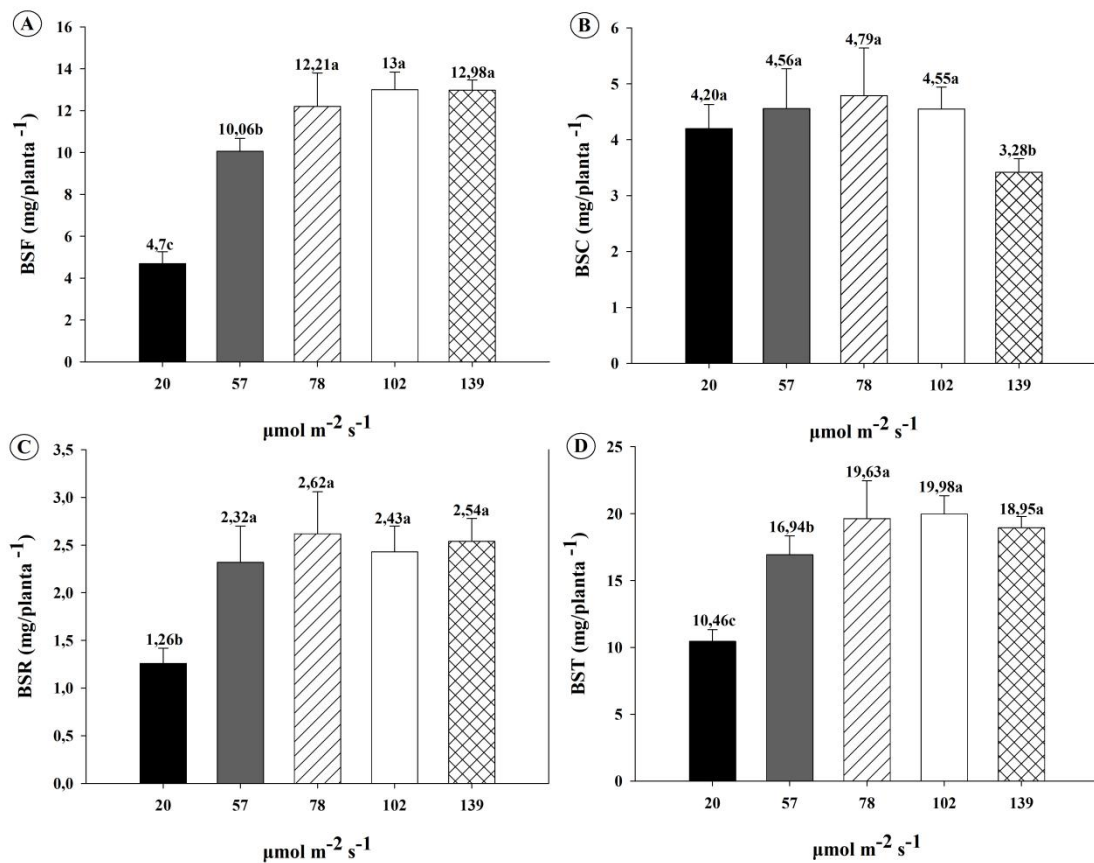
As baixas intensidades atingem as condições de luz para ativar as reações dos fitocromos e criptocromos, mas não é eficiente para a fotossíntese (Pinheiro et al., 2023). As plântulas estioladas tiveram produtividade afetada de folhas, brotos e biomassa seca (Figura 2 C e D; 3 A, C e D). Isto porque as plantas que se desenvolvem em ambientes com baixas condições de energia fotossinteticamente ativa, as folhas e os tecidos paliçádicos ficam finos, com poucos cloroplastos, transporte de CO_2 precário, conseqüentemente a eficiência fotossintética e o acúmulo de biomassa é comprometido. Por outro lado, as plantas que crescem em intensidades normais de luz a PAR é alta as folhas ficam grossas, possui alta assimilação de CO_2 , o que aumenta a eficiência fotossintética e acúmulo de biomassa (Shafiq et al., 2021).

Os fotoassimilados produzidos em baixa densidade de fluxo de fótons, são pouco translocados para outros órgãos da planta (Ogasawara, 2003), o que compromete o seu desenvolvimento.

É importante obter plântulas adaptadas as altas intensidades luminosas, isso pode auxiliar no desenvolvimento de mudas mais resistentes e amenizar os danos causados durante o processo de aclimatização, já que a alta irradiância estimula a atividade da rubisco carboxilase, o que aumenta a carboxilação e a produção da fotossíntese líquida (Bauer; Thoni, 1988).

Na hortelã pimenta o peso seco da raiz é beneficiado a partir de 57 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Figura 3 C). As diferentes intensidades de luz são muito importantes na sinalização e modulação do desenvolvimento fotomorfogênico do sistema radicular. A luz estimula o transporte de auxina no broto para as raízes promovendo o crescimento, por conta dos fotorreceptores que sinalizam para que os fotossimilados da fotossíntese se acumulem na parte aérea e nas raízes, já no escuro ou em baixas luminosidades o sistema radicular é comprometido (Miotto et al., 2021).

Figura 3: Acúmulo de biomassa seca das folhas-BSF (A), caule-BSC (B), raiz-BSR (C) e total-BST (D) em *Mentha piperita* cultivada *in vitro* sob diferentes intensidades luminosas.



*Medias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, entre os tratamentos pelo teste de Scott Knott a nível de 5% de probabilidade.

Fonte: Autores (2025).

Resultados semelhantes foram observados em plântulas de *Urtica dioica* L. (Urticaceae), que melhor se desenvolveu e produziu peso seco foliar em altas intensidades luminosas (Coelho et al., 2021). Para *Lippia rotundifolia* Cham (Verbenaceae) foi observado

um desenvolvimento diferente em que baixa intensidade de fluxo de fótons beneficia o acúmulo de biomassa seca nas folhas, raiz e total (Hsie et al., 2019).

3. 2 Análise dos pigmentos fotossintéticos

Os pigmentos fotossintéticos foram influenciados significativamente pelas intensidades luminosas ($p < 0,05$). As médias máximas de clorofila *a*, *b* e total, foram observadas em plântulas cultivadas na intensidade de $20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Tabela 1). Com o aumento das intensidades o teor dos pigmentos fotossintéticos foram diminuindo, sendo que as plântulas que cresceram sob $139 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ficaram com as menores médias de clorofila *a* ($0,64 \text{ mg}^{-1} \text{ m MF}$), total ($1,04 \text{ mg}^{-1} \text{ m MF}$) e carotenoides ($0,13 \text{ mg}^{-1} \text{ m MF}$), o que indica uma fotodegradação do aparato fotossintético. Entretanto, essas plântulas também tiveram altos índices de produção de biomassa seca, o que indica que os danos da maquinaria fotossintética não causaram a fotoinibição dos fotossistemas.

Tabela 1: Concentração de pigmentos fotossintéticos em mudas de *Mentha piperita* L. cultivadas *in vitro* sob diferentes intensidades luminosas.

Intensidade Luminosa $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	Clorofila			Carotenóides
	a	b	Total	
	mg g ⁻¹ MF			
20	1,00±0,07a	0,89±0,04a	1,89±0,10a	0,21±0,01a
57	0,88±0,03b	0,73±0,09b	1,61±0,06b	0,20±0,02a
78	0,82±0,06c	0,52±0,05c	1,34±0,06c	0,17±0,02b
102	0,75±0,04c	0,51±0,10c	1,27±0,10c	0,17±0,02b
139	0,64±0,06d	0,40±0,10c	1,04±0,11d	0,13±0,03c
CV (%)	11,58	11,04	12,13	10,33

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, entre os tratamentos pelo teste de Scott Knott a nível de 5% de probabilidade.

Fonte: Autores (2025).

As proteínas induzidas pela alta intensidade luminosa auxilia na montagem dos fotossistemas PSI e PSII e regulam as etapas iniciais da biossíntese da clorofila (Hey; Grimm; 2018). As clorofilas são pigmentos fotossintéticos presentes na membrana do tilacoide, que captam principalmente os comprimentos de onda azul (350-500 nm) e vermelho (600-750 nm) para realização da fotossíntese e estão localizadas nos fotossistemas PSI e PSII, assim como os carotenoides, que são pigmentos acessórios que foto protegem as clorofilas e transferem a energia luminosa para elas (Taiz et al., 2017).

O aparato fotossintético é afetado negativamente pelas altas e baixas intensidades de Radiação Fotossinteticamente Ativa (PAR), para minimizar os danos e manter a eficiência fotossintética as plantas possuem mecanismos de reparo, regulação de absorção da luz e fotoprotetores para dissipar o excesso de luminosidade, como alteração da anatomia foliar, movimentação dos cloroplastos, extinção da fluorescência da clorofila e transferência de energia (Wimalasekera, 2019). Em baixas luminosidades as plantas precisam ter grandes quantidades de clorofila para otimizar o processo fotossintético e compensar a baixa densidade de fótons que chegam.

A cutícula formada por cutina e cera, é biossintetizada por células epidérmicas em desenvolvimento, serve como barreira protetora contra estresses ambientais (Samuels; Kunst; Jetter, 2008; Kunst; Samuels, 2009; Bernard; Joubès, 2013). Em plantas micropropagadas a cutícula é pouco formada ou ausente (Shiwani; Sharma; Kumar, 2022), por isso em altas intensidades luminosas podem ocorrer a fotodegradação dos pigmentos fotossintéticos, como observado nas plântulas que se desenvolveram sob $130 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

O comportamento das plantas *in vitro* variam de acordo com as necessidades de luz que cada espécie precisa para melhor desenvolver as suas atividades fisiológicas. Os autores encontraram resultados diferentes no cultivo de *Achillea millefolium* L. (Asteraceae) (Alvarenga et al., 2015) e *Urtica dióica* L. (Coelho et al., 2021) em que os maiores teores de clorofila *a*, *b*, total e carotenoides foram observados em 69 e 51 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectivamente. Entretanto, os achados para *L. rotundifolia* L. (Hsie et al., 2019) corroboram com os resultados do presente trabalho.

3. 3 Biossíntese de Flavonas/Flavonóis e Fenóis Totais

A intensidade luminosa de $20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ estimulou a produção de flavonas/flavonóis ($2,73 \text{mg g}^{-1}$). Em altas intensidades (94 e $130 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), ocorre a diminuição da biossíntese de flavonoides, $2,28$ e $2,25$, respectivamente (Tabela 2). Isso indica que as plântulas de hortelã pimenta sofrem maior estresse oxidativo em baixa intensidade, quando comparado aos demais tratamentos, devido as folhas da espécie não estarem adaptadas ao sombreamento, por ser uma planta de sol.

Para fenóis as plântulas que cresceram sobre 20 e $130 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ tiveram as maiores médias ($0,55$ e $0,54 \text{mg g}^{-1}$), esses dados podem ser um indicativo de que em baixa/alta intensidade de luz ocorre a sinalização para produção de fenóis, que tem como função eliminar as espécies reativas de oxigênio de dentro dos cloroplastos das plântulas (Tabela 2).

Tabela 2: Concentração de flavonas/flavonóis e fenóis totais em plântulas de hortelã-pimenta cultivadas *in vitro* em diferentes intensidades de luz.

Intensidade Luminosa $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	Flavonas/Flavonóis mg/g	Fenóis Totais
20	2,73±0,00a	0,55±0,00a
57	2,54±0,05c	0,46±0,01c
78	2,42±0,02b	0,50±0,00b
102	2,28±0,04d	0,47±0,00c
139	2,25±0,01d	0,54±0,01a
CV (%)	1,44	1,86

*Medias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, entre os tratamentos pelo teste de Scott Knott a nível de 5% de probabilidade.

Fonte: Autores (2025).

As plantas desenvolvem vários mecanismos para sobreviver ao estresse luminoso, as altas e baixas intensidades podem ser prejudiciais aos vegetais, que respondem de forma sistêmica. Uma das respostas é a produção de flavonoides, que pode reduzir os foto danos e aliviar a superoxidação dos cloroplastos causado pelo acúmulo de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs), que são liberados durante a transferência dos elétrons na fotossíntese (Shi et al., 2022).

A alta intensidade luminosa desencadeia a sinalização de fitohormônios endógenos e açúcares, os quais auxiliam na biossíntese de flavonoides, sendo esse processo estimulado pela produção de EROs (Zhu et al., 2024). No presente estudo, observa-se que o aumento das intensidades luminosas reduz a sinalização necessária para a produção de flavonas e flavonóis.

Por ser uma planta de pleno sol as baixas intensidades pode ser um fator estressante para a planta, assim como a sombra, o que proporciona maior produção dos flavonoides. Além disso, alta quantidade clorofila nos cloroplastos em $20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, pode gerar grandes quantidades de EROs durante o transporte de elétrons na membrana do tilacóide, sendo necessário também a biossíntese de fenóis para auxiliar na neutralização das espécies reativas de oxigênio e diminuir os danos fotoxidativos.

Os fenóis assim como os flavonoides são estimulados pela quantidade e qualidade de luz, que em condições de estresse biótico ou abiótico funciona como um neutralizante das espécies reativas de oxigênio, auxiliando na manutenção da homeostase redox das células, além disso, as condições ideais de luz que beneficia a biossíntese de fenóis, pode auxiliar na produção de plantas mais resistentes aos danos causados em órgãos e tecidos, quando exposta

a condições de estresse (Kolton et al., 2022). Dessa forma, necessário ter um equilíbrio na densidade de fluxo de fótons emitidos para as plantas, já que em alta/baixa intensidade luminosa ocorre o estímulo da produção de fenóis na *M. piperita*.

3. 4 Composição química volátil de *Mentha piperita* L.

A partir da condensação do isopentenil difosfato (IPP) e dimetil alildifosfato (DMAPP), por uma prenilisomerase específica forma-se precursor universal dos monoterpenos, o geranyl difosfato (GPP). A rota biossintética e a organização subcelular da biossíntese de monoterpenóides em glândulas secretoras de *M. piperita* foi bem discutida no artigo de revisão de Croteau et al. (2005).

A primeira etapa envolve a ciclização do GPP a (-)-(4S)-limoneno. A hidroxilação deste constituinte em C3 e uma série de reações oxidativas, incluindo uma isomerização descreve de forma resumida a biossíntese da pulegona, mentofurano, mentona e mentol, os quatro terpenos cíclicos de maior importância da espécie (Kamatou et al., 2013).

Conforme Yu et al. (2021), a luz tem significativo impacto no acúmulo de derivados terpenóides.

No presente estudo, as intensidades luminosas influenciaram a composição volátil qualitativa e quantitativa das folhas de hortelã pimenta. A biossíntese de α pineno, β pineno e mentol foram estimulados em $20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. O mentofurano não sofreu influência das intensidades luminosas. A alta concentração relativa de mentofurano indica a intensa atividade da enzima mentofurano sintase, responsável por oxidar a pulegona transformando-a em mentofurano no interior da mitocôndria, isso pode estar associado a vários fatores, como luminosidade, fotoperíodo, estresse e fase de desenvolvimento da espécie.

Tabela 3: Perfil químico volátil de folhas de *Mentha piperita* cultivada *in vitro* sob diferentes intensidades luminosas.

N° Componentes	IR	IR Lit	Área (%)				
			20	57	78	102	139
1 3-metilciclopentanona	846	842	0,11±0,08	nd	nd	nd	nd
2 α -pinene	930	932	1,84±0,06 a	1,62±0,03 b	1,46±0,03 b	1,57±0,18 b	1,45±0,07 b
3 3-metilciclohexanona	945	945	0,11±0,03	0,10±0,00	nd	nd	nd
4 sabineno	969	969	0,24±0,00	0,22±0,01	0,20±0,00	0,21±0,03	0,19±0,00
5 β -pineno	973	974	1,25±0,04 a	1,12±0,03 b	1,02±0,02 c	1,10±0,10 b	1,01±0,02 c
6 mirceno	990	988	0,41±0,02	0,33±0,02	0,29±0,01	0,34±0,07	0,29±0,02
7 limoneno	1024	1024	1,9±0,43 a	1,41±0,09 a	1,24±0,36 a	1,51±0,59 a	1,42±0,07 a
8 1,8-cineol	1027	1026	nd	0,24±0,03	0,31±0,11	0,34±0,07	0,34±0,02
9 hidrato de <i>cis</i> -sabineno	1062	1065	0,31±0,02	0,40±0,09	0,38±0,05	0,42±0,13	0,46±0,09
10 mentona	1149	1148	nd	nd	0,16±0,06	nd	0,17±0,11
11 mentofurano	1162	1159	75,18±1,50 a	75,42±0,86 a	75,62±1,65 a	75,17±0,47 a	74,70±1,25 a
12 mentol	1171	1177	0,57±0,09 a	0,46±0,02 b	0,40±0,02 b	0,44±0,08 b	0,39±0,06 b
13 pulegona	1236	1233	17,63±0,69 a	18,15±0,57 a	18,33±1,17 a	18,29±1,24 a	19,08±1,13 a
14 acetato de mentila	1292	1294	nd	0,19±0,11	nd	nd	nd
15 (<i>Z</i>)-cariofileno	1409	1408	nd	0,10±0,01	0,17±0,02	0,19±0,08	0,18±0,02
16 germacreno D	1470	1480	nd	nd	0,12±0,03	0,18±0,01	0,13±0,02
Monoterpenos Oxigenados							
Totais			93,69%	94,86%	95,20%	94,66%	95,14%
Monoterpenos Hidrocarbonetos							
Totais			5,64%	4,70%	4,21%	4,73%	4,36%
Sesquiterpenos Oxigenados							
Totais			0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
Sesquiterpenos Hidrocarbonetos							
Totais			0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
Total (%)			99,33%	99,56%	99,41%	99,39%	99,50%

*Medias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, entre os tratamentos pelo teste de Scott Knott a nível de 5% de probabilidade.

*IR, Índice de retenção para a série n-alcano (C8-C20) na coluna HP-5 MS por ordem de eluição. DP, desvio padrão (n=3). nd., não detectado.

Fonte: Autores (2025).

A intensidade de luz pode alterar a produção de terpenóides via ativação de enzimas fotossensíveis envolvidas na via do metileritritol-4-fosfato (Yu et al., 2021).

Em *Mentha viridis* L. (Lamiaceae) as plântulas cultivadas nas intensidades de 51, 64 e 76 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ obteve-se a maior teor de limoneno, enquanto, que 28 e 113 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ maior teor de linalol (Alvarenga et al., 2018).

A diminuição da produção do α pineno e β pineno com o aumento da densidade de fluxo de fótons, pode estar associado a regulação dos terpenóides feita pela luz, onde a

intensidade luminosa promove a abundância dos monoterpenos produzidos (Avilés et al., 2024).

Em estudos com *Mentha piperita* L. sob condições controladas de fotoperíodo, observou-se um alto teor de mentona nas folhas jovens, enquanto, que nas mais velhas predominava o mentol; em dias curtos, o mentofurano era o principal componente em todas as folhas (Voirin; Brun; Bayet, 1990). Esses resultados indicam que a via metabólica para biossíntese de mentol se desenvolve conforme o estágio de desenvolvimento da planta e o fotoperíodo. Assim, no presente estudo, a predominância de mentofurano como componente majoritário pode estar associado ao estágio juvenil das folhas e/ou das condições onde a plântula foi cultivada, em que a via oxidativa já está ativa e amadurecida.

Trabalhos de campo com a espécie mostraram que o teor de mentofurano no óleo essencial foi superior ao de mentol em plantas cultivadas sob sombreamento com malhas aluminizadas e pretas. No entanto, a exposição ao sol pleno e 70% sombrite estimulou a biossíntese de mentol (Costa et al., 2014). Esses resultados sugerem que, mesmo em plantas adultas com vias oxidativa (pulegona → mentofurano) e redutora (mentona → mentol) plenamente desenvolvidas, a intensidade da luz é um fator regulador das vias biossintéticas dos compostos voláteis.

4. CONCLUSÃO

A manipulação da intensidade luminosa afeta o desenvolvimento, características morfológicas, o acúmulo de biomassa seca, pigmentos fotossintéticos e a produção dos compostos voláteis. A baixa intensidade luminosa deixa as plântulas estioladas, estimula a produção de pigmentos fotossintéticos e dos monoterpenos oxigenados α pineno, β pineno e mentol. No entanto, de acordo com os resultados do presente trabalho o mais indicado é cultivar a *M. piperita* L. em $78 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, sendo essa a intensidade ideal para o seu desenvolvimento e economicamente mais barato.

REFERÊNCIAS

ADAMS, R.P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry**. 4.1 ed (online). Illinois: Allured Publishing, 804 p. 2017.

ALVARENGA, I. C. A.; PACHECO, F. V.; SILVA, T. S.; BERTOLUCCI, S. K. V.; PINTO, J. E. B. P. *In vitro* culture of *Achillea millefolium* L.: quality and intensity of light on growth and production of volatiles. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 122, p. 299-308, 2015. <https://doi.org/10.1007/s11240-015-0766-7>

ALVARENGA, J. P.; PACHECO, F. V.; BERTOLUCCI, S. K. V.; SILVA, S. T.; OLIVEIRA, T. de; PINTO, J. E. B. P. *In vitro* culture of *Mentha viridis*: quality and intensity of light on growth and production of volatiles. **Acta Horticulture**, v. 1224, p. 175-182, 2018. [10.17660/ActaHortic.2018.1224.23](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2018.1224.23)

ARAÚJO, S. A. do C.; DEMINICIS, B. B. Fotoinibição da fotossíntese. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 7, n. 4, 2009.

AVILÉS, W. C.; HEUVELINK, E.; MARCELIS, L. F. M.; KAPPERS, I. F. Ménage à trois: light, terpenoids, and quality of plants. **Trends in Plant Science**, v. 20, n. 20, p. 1-17, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2024.02.007>

BAUER, H.; THÖNI, W. Photosynthetic light acclimation in fully developed leaves of the juvenile and adult life phases of *Hedera helix*. **Physiologia Plantarum**, v. 73, n. 1, p. 31-37, 1988. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1988.tb09189.x>

BERNARD, A.; JOUBÈS, J. Arabidopsis cuticular waxes: advances in synthesis, export and regulation. **Progress in lipid research**, v. 52, n. 1, p. 110-129, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2012.10.002>

BOTTERWEG-PAREDES, E.; BLAAKMEER, A.; HONG, S. Y.; SUN, B.; MINERI, L.; KRUSVEE, V.; XIE, Y.; STRAUB, D.; MÉNARD, D.; PESQUET, E.; WENKEL, S. Light affects tissue patterning of the hypocotyl in the shade-avoidance response. **PLoS Genetics**, v. 16, n. 3, p. e1008678, 2020. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1008678>

CARVALHO, A. A. de; ASSIS, R. M. A. de; ROCHA, J. P. M.; LEITE, J. J. F.; PEREIRA, F. D.; SANTOS, J. P. DOS; BERTOLUCCI, S. K. V.; PINTO, J. E. B. P. Densidade do fluxo de fótons e tipos de citocininas influenciam a produção de biomassa e acúmulo de compostos orgânicos voláteis em *Dysphania ambrosioides* L sob condições *in vitro*. **Research, Society and Development**, v. 12, n. 2, p. 1-12, 2023. <https://dx.doi.org/10.33448/rsd-v12i2.39841>

CHRISTOPHE, A.; MOULIA, B.; GRANCHER, C. V. Quantitative contributions of blue light and PAR to the photocontrol of plant morphogenesis in *Trifolium repens* (L.). **Journal of Experimental Botany**, v. 57, n. 10, p. 2379-2390, 2006. <https://doi.org/10.1093/jxb/erj210>

COELHO, A. D.; SOUZA, C. K. de; BERTOLUCCI, S. K. V.; CARVALHO, A. A. de; SANTOS, G. C.; OLIVEIRA, T. de; MARQUES, E. A.; SALIMENA, J. P. PINTO, J. E. B. P. Wavelength and light intensity enhance growth, phytochemical contents and antioxidant activity in micropropagated plantlets of *Urtica dioica* L. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 145, p. 59-74, 2021. <https://doi.org/10.1007/s11240-020-01992-2>

COSSA, M. C. V.; ROCHA, J. P. M.; ASSIS, R. M. A. de; LEITE, J. J. F.; TEXEIRA, L. F.; BERTOLUCCI, S. K. V.; PINTO, J. E. B. P. Impact of photon flux density and light spectral quality on biomass production and arbutin compound accumulation in *Origanum majorana* L. plantlets. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 156, n. 1, p. 12, 2024. <https://doi.org/10.1007/s11240-023-02658-5>

COSTA, A. G.; CHAGAS, J. H.; BERTOLUCCI, S. K. V.; PINTO, J. E. B. P. Níveis de sombreamento e tipos de malha no crescimento e produção de óleo essencial de hortelã-

pimenta. **Horticultura Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 194-199, 2014.
<https://doi.org/10.1590/S0102-05362014000200013>

HEY, D.; GRIMM, B. ONE-HELIX PROTEIN2 (OHP2) is required for the stability of OHP1 and assembly factor HCF244 and is functionally linked to PSII biogenesis. **Plant physiology**, v. 177, n. 4, p. 1453-1472, 2018. <https://doi.org/10.1104/pp.18.00540>

HISCOX, J. D.; ISRAELSTAM, G. F. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. **Canadian Journal of Botany**, v. 57, n.12, p. 1332-1334, 1979. <https://doi.org/10.1139/b79-163>

HORNITSCHKEK, P.; KOHNEN, M. V.; LORRAIN, S.; ROUGEMONT, J.; LJUNG, K.; LÓPEZ-VIDRIERO, I.; FRANCO-ZORRILLA, J. M.; SOLANO, R.; TREVISAN, M.; PRADERVAND, S.; XENARIOS, I.; FANHAUSER, C. Phytochrome interacting factors 4 and 5 control seedling growth in changing light conditions by directly controlling auxin signaling. *The Plant Journal*, v. 71, n. 5, p. 699-711, 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2012.05033.x>

HSIE, B. S. de; BUENO, A. I. S.; BERTOLUCCI, S. K. V.; CARVALHO, A. A. de; CUNHA, S. H. B. da; MARTINS, E. R.; PINTO, J. E. B. P. Study of the influence of wavelengths and intensities of LEDs on the growth, photosynthetic pigment, and volatile compounds production of *Lippia rotundifolia* Cham *in vitro*. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 198, p. 111577, 2019.
<https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2019.111577>

JO, E. A.; TEWARI, R. K.; HAHN, E. J.; PAEK, K. Y. Effect of photoperiod and light intensity on *in vitro* propagation of *Alocasia amazonica*. **Plant Biotechnology Reports**, v. 2, p. 207-212, 2008. <https://doi.org/10.1007/s11816-008-0063-6>

KAMI, C.; LORRAIN, S.; HORNITSCHKEK, P.; FANKHAUSER, C. Light-regulated plant growth and development. **Current topics in developmental biology**, v. 91, p. 29-66, 2010.
[https://doi.org/10.1016/S0070-2153\(10\)91002-8](https://doi.org/10.1016/S0070-2153(10)91002-8)

KOŁTON, A.; DŁUGOSZ-GROCHOWSKA, O.; WOJCIECHOWSKA, R.; CZAJA, M. Biosynthesis regulation of folates and phenols in plants. **Scientia Horticulturae**, v. 291, p. 110561, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110561>

KUNST, L.; SAMUELS, L. Plant cuticles shine: advances in wax biosynthesis and export. **Current opinion in plant biology**, v. 12, n. 6, p. 721-727, 2009.
<https://doi.org/10.1016/j.pbi.2009.09.009>

LEITE, M. S.; SILVA, F. G.; ASSIS, E. S.; RUBIO, A.; MENDES, G. C.; ROSA, M. Morphoanatomy and physiology of *Pouteria gardneriana* Radlk plantlets grown *in vitro* at varied photosynthetic photon flux densities. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 39, n. 2, p. 217-224, 2017. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v39i2.32515>

MIOTTO, Y. E.; COSTA, C. T. da; OFFRINGA, R.; VEHN, J. K.; MARASCHIN, F. dos S. Effects of light intensity on root development in a D-root growth system. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, p. 1-9, 2021. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.778382>

NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY. **PC version 2.0 of the NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library**. Gaithersburg, 2008.

OGASAWARA, N. Ventilation and light intensity during in vitro culture affect relative growth rate and photosynthate partitioning of *Caladium* plantlets after transplanting to ex vitro. **Acta Horticulturae**, v. 616, p. 143-149, 2003. [10.17660/ActaHortic.2003.616.14](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2003.616.14)

PEKAL, A.; PYRZYNSKA, K. Evaluation of aluminium complexation reaction for flavonoid content assay. **Food Analytical Methods**, v. 7, p. 1776-1782, 2014. <https://doi.org/10.1007/s12161-014-9814-x>

PINHEIRO, M. V. M.; SILVA, M. L. A.; SILVA, K. V. da; ALVES, J. de P.; MARINHO, T. R. dos S.; ALVES, G. L.; JUNIOR, F. E. A. C.; MONTEIRO, O. dos S.; FIGUEIREDO, F. A. M. M. de A.; CORRÊA, T. R.; BATISTA, D. S. Volatile profile and micropropagation conditions of *Bauhinia forficata* Link. **3 Biotech**, v. 13, n. 6, p. 212, 2023. <https://doi.org/10.1007/s13205-023-03634-8>

POTTER, T. I.; ROOD, S. B.; ZANEWICH, K. P. Light intensity, gibberellin content and the resolution of shoot growth in *Brassica*. **Planta**, v. 207, p. 505-511, 1999. <https://doi.org/10.1007/s004250050510>

ROCHA, T. T.; ARAÚJO, D. X.; CARVALHO, A. A. de; GERMANO, C. M.; SANTOS, M. de F.; LAMEIRA, O. A.; BERTOLUCCI, S. K. V.; PINTO, J. E. B. P. *In vitro* culture of *Lippia dulcis* (Trev.): light intensity and wavelength effects on growth, antioxidant defense, and volatile compound production. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, v. 58, n. 4, p. 636-652, 2022. <https://doi.org/10.1007/s11627-022-10270-z>

SAMUELS, L.; KUNST, L.; JETTER, R. Sealing plant surfaces: cuticular wax formation by epidermal cells. **Annual Review Plant Biology**, v. 59, n. 1, p. 683-707, 2008. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.103006.093219>

SHAFIQ, I.; HUSSAIN, S.; RAZA, M. A.; IQBAL, N.; ASGHAR, M. A.; ALI, R. A. Z. A.; FAN, Y. F.; MUMTAZ, M.; SHOAIB, M.; ANSAR, M.; MANAF, YANG, W. Y.; YANG, F. Crop photosynthetic response to light quality and light intensity. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 20, n. 1, p. 4-23, 2021. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(20\)63227-0](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(20)63227-0)

SHIWANI, K.; SHARMA, D.; KUMAR, A. Improvement of plant survival and expediting acclimatization process. In: Commercial Scale Tissue Culture for Horticulture and Plantation Crops. **Singapore: Springer Nature Singapore**, p. 277-291, 2022. https://doi.org/10.1007/978-981-19-0055-6_12

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965. [10.5344/ajev.1965.16.3.144](https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144)

ТКАЧЁВ, А.В. **Исследование летучих веществ растений**. Новосибирск: Офсет, 2008, 969 с.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas—liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**, v. 11, p. 463-471, 1963.

VOIRIN, B.; BRUN, N.; BAYET, C. Effects of daylength on the monoterpene composition of leaves of *Mentha x piperita*. **Phytochemistry**, v. 29, n. 3, p. 749-755, 1990.
[https://doi.org/10.1016/0031-9422\(90\)80012-6](https://doi.org/10.1016/0031-9422(90)80012-6)

WELLBURN, A. R. The Spectral Determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **Journal of Plant Physiology**, v. 144, n. 3, p. 307-313, 1994.
[https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)81192-2](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81192-2)

WIMALASEKERA, R. Effect of light intensity on photosynthesis. **Photosynthesis, productivity and environmental stress**, p. 65-73, 2019.
<https://doi.org/10.1002/9781119501800.ch4>

ZHU, L.; LIAO, Y.; ZHANG, T.; ZENG, Z.; WANG, J.; DUAN, L.; CHEN, X.; LIN, K.; LIANG, X.; HAN, Z.; HUANG, Y.; WU, W.; HU, H.; XU, Z. F.; NI, J. Reactive oxygen species act as the key signaling molecules mediating light-induced anthocyanin biosynthesis in *Eucalyptus*. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 212, p. 108715, 2024.
<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2024.108715>

CAPÍTULO 3

Crescimento e produção de compostos voláteis em *Mentha piperita* L. cultivada *in vitro* sob diferentes qualidades de luz

RESUMO

A hortelã-pimenta (*Mentha piperita* L., Lamiaceae) é uma espécie medicinal e aromática. A micropropagação é uma técnica que permite a produção em massa de genótipos homogêneos, com alto rendimento e qualidade, para a produção de produtos naturais. Objetivou-se avaliar a influência dos diferentes comprimentos de onda no desenvolvimento e produção de compostos voláteis de plântulas de *Mentha piperita* L. micropropagadas. Segmentos nodais foram cultivados em meio MS, sob LEDs branca, azul, vermelha, 50%V:50%A, 30%V:70%A e 70%V:30%A, em sala de crescimento com temperatura de 25 ± 1 °C e fotoperíodo 16h/8h. Após 30 dias, foi avaliado o crescimento, a biomassa seca das folhas, caule, raiz e total, pigmentos fotossintéticos e os compostos voláteis por GC/EM. O maior crescimento do caule e do 2º entrenó foi observado em plantas que cresceram sob luz vermelha e em 70%V:30%A. A luz branca, azul, 50%V:50%A e 30%V:70%A beneficiaram o acúmulo de biomassa seca das folhas e raiz. Os brotos sob as combinações de 50%V;50%A acumularam maior teor de clorofila *a*, total e carotenoides. A luz vermelha e 70%V:30%A estimularam a produção de mentofurano. A luz monocromática vermelha gera nas plantas uma foto resposta de estiolamento. Conclui-se que o indicado é cultivar a espécie em LED 70%V:30%A para a obtenção de mudas com bom crescimento e produção de mentofurano, composto importante para a indústria da perfumaria.

Palavras-chave: micropropagação; hortelã pimenta; espectros de luz; planta medicinal.

Growth and production of volatile compounds in *Mentha piperita* L. grown in vitro under different light qualities

Abstract

Peppermint (*Mentha piperita* L., Lamiaceae) is a medicinal and aromatic species. Micropropagation is a technique that allows the mass production of homogeneous genotypes, with high yield and quality, for the production of natural products. The objective of this study was to evaluate the influence of different wavelengths on the development and production of volatile compounds of micropropagated *Mentha piperita* L. seedlings. Nodal segments were cultivated in MS medium, under white, blue, red, 50%V:50%A, 30%V:70%A and 70%V:30%A LEDs, in a growth room with a temperature of 25 ± 1 °C and a 16h/8h photoperiod. After 30 days, growth, dry biomass of leaves, stem, root and total, photosynthetic pigments and volatile compounds were evaluated by GC/MS. The greatest growth of the stem and 2nd internode was observed in plants grown under red light and at 70%V:30%A. White, blue, 50%V:50%A and 30%V:70%A light benefited the accumulation of dry biomass of leaves and roots. Shoots under the combinations of 50%V;50%A accumulated greater content of total chlorophyll a and carotenoids. Red light and 70%V:30%A stimulated the production of menthofuran. Red monochromatic light generates an etiolation photoresponse in the plants. It is concluded that it is recommended to grow the species under LED 70%V:30%A to obtain seedlings with good growth and production of menthofuran, an important compound for the perfume industry.

Keywords: micropropagation; peppermint; light spectra; medicinal plant.

1. INTRODUÇÃO

As plantas produzem os metabólitos secundários para se adaptar ao ambiente, como se defender contra fitopatógenos, ataques de insetos, ou outros estresses. A utilização dos diodos emissores de luz (LEDs) permite controlar o comprimento de onda para o cultivo das plantas (Ueda et al., 2021). A luz é um importante regulador do crescimento, desenvolvimento e ativação de enzimas fotossensíveis envolvidas na via do metileritritol-4-fosfato (MEP) (Yu et al., 2021).

O MEP é o precursor dos óleos essenciais, classe de metabólito secundário presente na hortelã-pimenta (*Mentha piperita* L., Lamiaceae). Os principais constituintes da espécie são mentofurano, mentona, pulegona e mentol.

O mentol é de grande importância econômica, cerca de 32.000 toneladas métricas de mentol são consumidas anualmente, sendo que apenas 6.300 toneladas é sintético (Kamatou et al., 2013). Assim, como o mentofurano para a indústria de aromas, que possui uma demanda estimada em 150-200 Mt/ano, para produção de perfumes (Kumar; Shukla; Samad, 2014).

A *Mentha piperita* L. por ser um híbrido estéril é propagada vegetativamente por estacas enraizadas, estolões, rebentos, porém a taxa de crescimento nas fases iniciais é lenta (Holm et al., 1989; Talankova-Sereda et al., 2019).

Comercialmente o meio mais importante é a produção por estacas, porém o desenvolvimento da planta pode ser limitado por vários fatores, como a infecção por fitopatógenos, clima e falta de matéria prima de alta qualidade (Fontana; Nicola; Hoeberechts, 2006; Shelepova et al., 2021; Zayova; Kirova; Geneva, 2021).

Por conta disso o cultivo *in vitro* é uma técnica que pode ser usada para a produção da espécie e obtenção de matéria prima de alta qualidade. Sendo assim, a micropropagação pode auxiliar a suprir as necessidades de fornecimento de matéria prima, pois é possível produzir em grande escala, genótipos homogêneos, com alto rendimento e qualidade, para a produção de produtos naturais (Moraes; Cerdeira; Lourenço, 2021).

A luz é um fator ambiental importante para a sobrevivência das plantas, é composta por diferentes intensidades (densidade de fluxo fótons fotossintéticos), qualidade de luz (comprimento de onda), fotoperíodo, ciclos de iluminação e as interações desses fatores, influência a fotossíntese, desenvolvimento (fotomorfogênese) e o metabólito secundário (Dou; Niu, 2019). Atualmente o cultivo *in vitro* com o uso dos Diodos Emissores de Luzes (LEDs) são mais vantajosos que as lâmpadas fluorescentes, devido à baixa emissão de calor, espectros

monocromáticos ou combinações, a vida útil é longa e tem baixo consumo de energia, além de não emitir poluentes no momento de descarte.

A intensidade e a qualidade de luz são muito importantes para o desenvolvimento de plântulas *in vitro*, isso porque a planta responde de forma específica a um determinado comprimento de onda, além disso, os espectros dos LEDs podem ser manipulados com o intuito de auxiliar no aumento dos metabólitos secundários, como fenóis, antocianinas, carotenoides, glicosídeos, alcaloides e terpenóides, além de proporcionar o acúmulo dos mesmos (Zauli et al., 2021) e afetar a fotomorfogênese das plântulas.

Dessa forma, o objetivo foi avaliar a influência dos diferentes comprimentos de onda no desenvolvimento e produção de compostos voláteis em plântulas de *Mentha piperita* L. micropropagadas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local do experimento e origem do material botânico

O estabelecimento *in vitro* e cultivo das plântulas de *Mentha piperita* L. foram realizados no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais e Plantas Mediciniais do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (DAG / UFLA) e as análises fitoquímicas no Laboratório de Fitoquímica e Controle de Qualidade (DAG / UFLA), localizado na região sul de Minas Gerais, Brasil, nas coordenadas 21°14' S e 45°00' W, com 918 m de altitude.

Para o estabelecimento *in vitro* foi coletado de plantas matrizes cultivadas no Horto de Plantas Mediciniais (DAG / UFLA) segmentos nodais de 1cm. A assepsia dos explantes foi feita com detergente e água corrente durante 30 minutos, posteriormente eles ficaram imersos em água sanitária (1,25% de cloro ativo) durante 15 min. Na capela de fluxo laminar os explantes foram lavados três vezes com água destilada estéril. Com o auxílio do bisturi e pinça as folhas foram removidas e os segmentos nodais foram inoculados em tubos de ensaio com 12,5 ml do meio de cultura MS (Murashige Skoog, 1962), contendo 30 gL⁻¹ de sacarose e 5,5 gL⁻¹ de ágar, com pH ajustado para 5,7 ± 0,1 antes de ser autoclavado, durante 20 min a 121 C°).

2.2 Implantação do experimento de diferentes qualidades de luz

Segmentos nodais de um 1 cm de plântulas de *M. piperita* L. previamente estabelecidas foram inoculadas verticalmente em tubos contendo 12,5 ml de meio de cultura MS em capela de fluxo laminar. Após a inoculação dos explantes os tubos foram mantidos em

sala de crescimento durante 30 dias, sob luz LED branca, 100 % vermelho, 100% azul, 70% azul: 30% vermelha, 30% azul: 70% vermelha e 50% azul: 50% vermelha, todas com intensidade de $42 \mu\text{molm}^{-2} \text{s}^{-1}$, com fotoperíodo de 16h/8h e temperatura de $25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$.

O delineamento foi inteiramente casualizado (DIC), com 6 tratamentos de luz com diferentes comprimentos de ondas, com 4 repetições, tendo 6 tubos em cada repetição com um explante, totalizando 144 plântulas. Foram avaliados a altura do maior broto (AMB), o comprimento do 2º entrenó (CE) em centímetros, número de brotos (NB), biomassa seca das folhas (BSF), caule (BSC), raiz (BSR) e total (BST) em miligramas.

2.3 Análise dos pigmentos fotossintéticos

Os pigmentos fotossintetizantes foram extraídos e mensurados seguindo o método desenvolvido por Hiscox e Israelstam (1979). Os extratos foram preparados a partir de 50 mg de folhas frescas, sem nervuras coletadas em sala escura, iluminada com luz verde. As folhas foram colocadas em tubos Falcon revestidos com papel alumínio, onde foi adicionado 10 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) saturado com carbonato de cálcio (CaCO_3), sendo posteriormente mantidos em estufa de circulação forçada por 24h a 65°C . Uma amostra branca foi preparada apenas com DMSO.

A absorvância das amostras foram lidas em cubeta de quartzo, a partir da solução extrativa diluída em DMSO na proporção de 1:1, nos comprimentos de onda de 480 (carotenoides), 649 (clorofila a) e 665 (clorofila b) nm no espectrofotômetro TECAN INFINITY M200 PRO, contra o branco. As amostras foram preparadas em triplicata.

Para determinação das concentrações das clorofilas *a*, *b* e carotenoides foi utilizado as equações propostas por Wellburn (1994): Clorofila *a* = $(12,47 \times A_{665}) - (3,62 \times A_{649})$; clorofila *b* = $(25,06 \times A_{649}) - (6,5 \times A_{665})$; carotenóides: $(1000 \times A_{480} - 1,29 \times A_{649} - 53,78 \times A_{665})/220$. Para determinar a clorofila total foi realizada a soma dos resultados das equações da clorofila *a* e *b*. Todos os resultados foram expressos em mg (de pigmentos) g^{-1} (por matéria fresca de folha).

2.4 Análise dos compostos voláteis

Amostras de 30 mg de folhas secas de *M. piperita*, foram acondicionadas em *vials* de 20 mL, vedados com septo de silicone/PTFE. Em seguida, os *vials* foram transferidos para o extrator *headspace* automático CombiPAL Autosampler System (CTC Analytic AG, Switzerland) acoplado ao sistema de CG/EM (Cromatógrafo Gasoso/Espectrômetro de Massa). As condições operacionais do extrator foi temperatura de incubação da amostra de

110°C durante 30 min, temperatura da seringa a 120°C e o volume de injeção de 500 µL da fase de vapor, injetados em modo *split* na razão 10:1.

Foi utilizada uma coluna capilar de sílica fundida HP-5MS (30 m de comprimento x 0,25 mm de diâmetro interno x 0,25 µm de espessura do filme) (Califórnia, EUA). O gás hélio como gás de arraste com fluxo de 1,0 mL min⁻¹; as temperaturas do injetor e da linha de transferência foram mantidas em 250°C. A temperatura inicial do forno foi de 60°C, seguido por uma rampa de temperatura de 3°C/min até 240°C, seguida de uma rampa de 10°Cmin⁻¹ até 280°C. As concentrações dos constituintes presentes na fração volátil foram calculadas através da área integral de seus respectivos picos, relacionando a área total de todos os picos. As amostras foram realizadas em triplicata e os resultados expressos na área relativa percentual ± desvio padrão (n=3).

Foram identificados compostos com área superior a 1% por meio da comparação dos seus índices de retenção relativos à co-injeção de uma solução padrão de *n*-alcanos (C8-C20, Sigma-Aldrich®, St. Louis, USA) e por comparação dos espectros de massas do banco de dados da biblioteca NIST/EPA/NHI (Nist, 2008) e da literatura (Adams, 2017; ТКАЧЁВ, 2008). Os índices de retenção foram calculados usando a equação de Van den Dool e Kratz (1963).

2. 6 Análise de estatística

A análise estatística foi realizada por meio do software Sisvar, para comparação das médias foi utilizado o teste de Scott Knott a 5% de probabilidade (FERREIRA, 2011).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3. 1 Análise do desenvolvimento da hortelã pimenta em diferentes qualidades de luz

Morfologicamente as plântulas cultivadas sobre luz monocromática vermelha ficaram com o caule mais alongado, entrenós espaçados e poucas raízes. Essas características de plantas estioladas se evidenciam quando os fitocromos captam variações sutis na proporção do vermelho para vermelho distante (Kalaitzoglou et al., 2021). Os brotos que cresceram sobre luz monocromática branca, azul e combinações (50%V:50%A, 30V%:70%A) tiveram características muito semelhantes com crescimento compacto e raízes volumosas (Figura 1).

Figura 1: Desenvolvimento das plântulas de *Mentha piperita* L. em diferentes qualidades de luz.



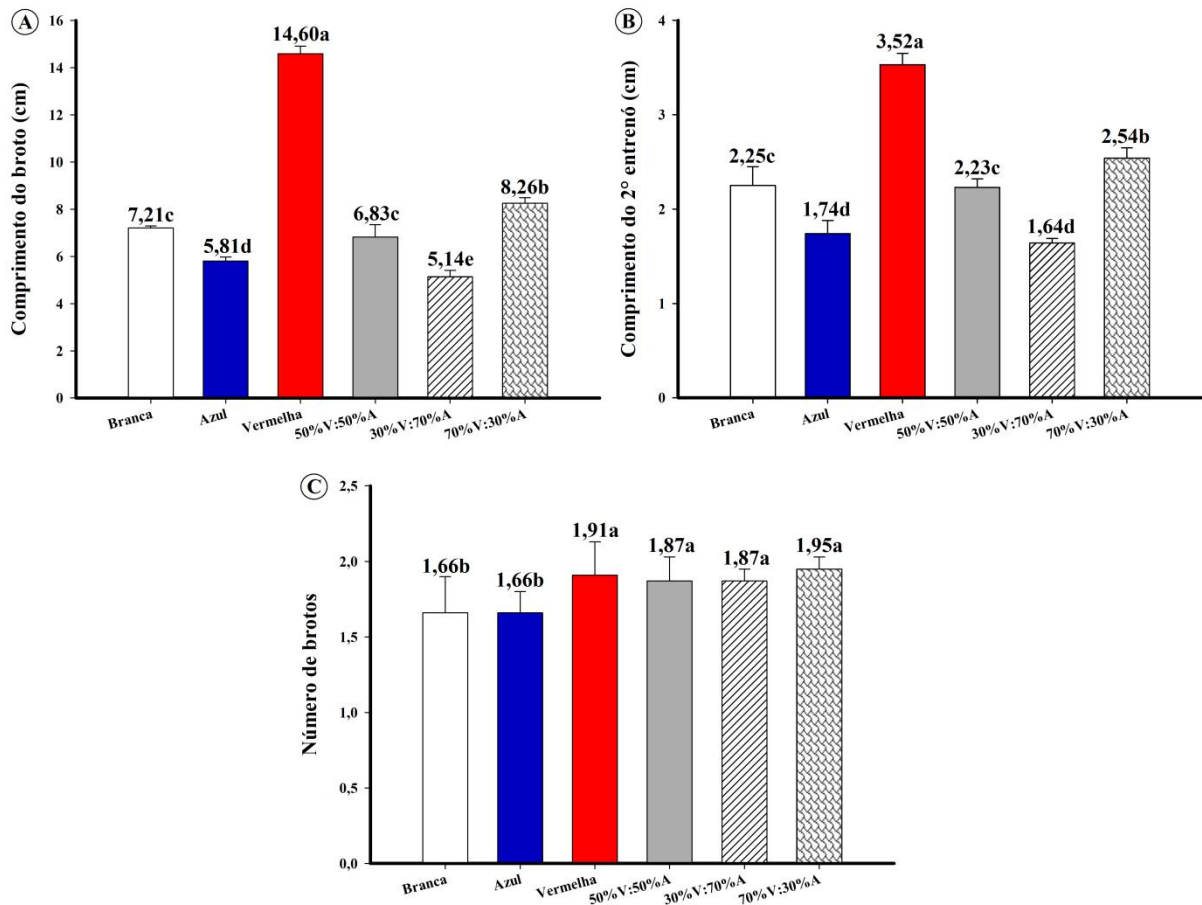
Fonte: Autores (2025).

As plântulas cultivadas sob luz vermelha tiveram o maior índice de crescimento do broto (14,6 cm) e 2º entrenó (3,53 cm), seguida pelas que se desenvolveram em 70%V:30%A (8,26 e 2,54 cm) (Figura 2 A e B). O alongamento do caule é uma foto resposta mediada pelos fitocromos inativos que captam luz vermelha distante, que causa nas plantas um efeito de sombra. Por isso o caule cresce para evitar a limitação da luz, quando o fotorreceptor passa a absorver luz vermelha fica ativo e o crescimento da planta volta ao normal (Franklin, 2020; Botterweg-Paredes et al., 2020). Essa mudança estimula a biossíntese e o transporte de auxina devido à redução da radiação fotossinteticamente ativa, diminuindo a absorção pelas clorofilas dos principais espectros de luz para a fotossíntese, como o azul e o vermelho, o que impacta negativamente o processo fotossintético (Hornistschek et al., 2012). Outro fitohormônio envolvido no crescimento do caule é a giberelina, que é induzida pela detecção de luz vermelha pelos fitocromos (Toyomasu et al., 1993; Martinez; Gil, 2001).

As plântulas cultivadas sobre luz monocromática azul e 30%V:70%A ficaram com o crescimento do caule e os entrenós compactos, devido esse comprimento de onda causar um

efeito fotomorfogênico de diminuição do alongamento do caule sem afetar a fotossíntese (Kalaitzoglou et al., 2021). Isso pode estar associado ao comprimento de onda azul ser mais energético, conseqüentemente, ocorre o aumento da radiação fotossinteticamente ativa, que estimula a produção dos fotoassimilados e inibição da produção de auxina, quebrando a dominância apical.

Figura 2: Efeitos da qualidade de luz no comprimento do broto (A), 2º entrenó (B) e número de broto (C).



*Medias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, entre os tratamentos pelo teste de Scott Knott a nível de 5% de probabilidade.

Fonte: Autores (2025).

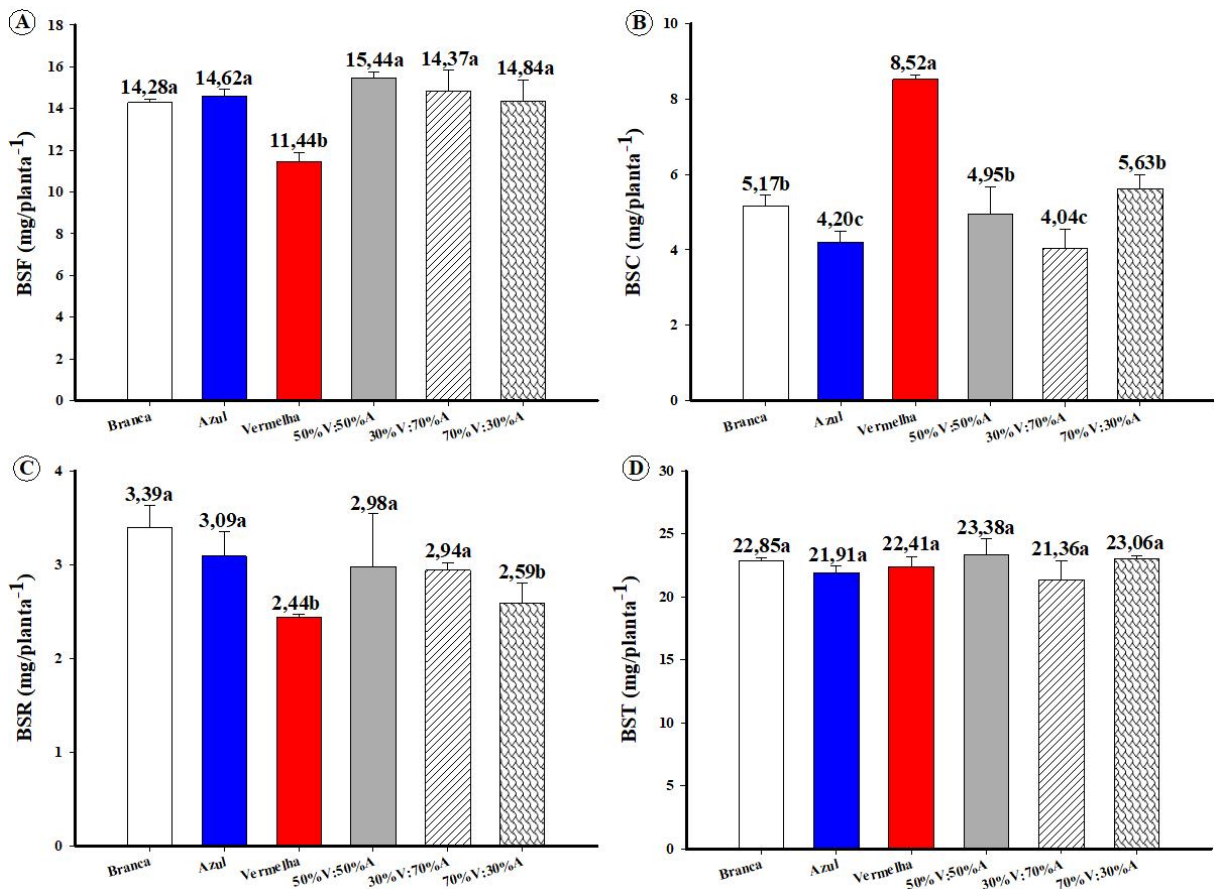
Outras espécies de plântulas como *Lomantozona artemisiifolia* (Asteraceae) ficaram com maior comprimento quando cultivadas *in vitro* em luz monocromática vermelha ou 70%V:30%A (Silva et al., 2020). Nas espécies *Paulownia tomentosa* (Thunb) Stud (Paulowniaceae) e o híbrido *Paulownia Zucc x Elongata*, também tiveram maior alongamento

do caule sob luz vermelha (Djanggalina et al., 2023), esses trabalhos corroboraram com os resultados no presente trabalho.

A formação de novos brotos foi estimulada a partir da luz monocromática vermelha e combinações (50%V:50%A; 30%V:70%A; 70%:30%A), Figura 2C. O balanço das luzes pode influenciar o equilíbrio hormonal endógeno das plântulas, causando o estímulo de novas brotações.

As plântulas que cresceram na luz vermelha tiveram menor produção de biomassa seca das folhas (11,44 mg) e maior acúmulo no caule (8,52 mg) (Figura 3). As plântulas com crescimento compacto (luz azul e 30%V:70%A) armazenaram maior quantidade de peso seco nas folhas do que no caule, sendo a sua produtividade fotossintética semelhante à das plântulas que cresceram sobre luz branca, 50%V:50%A e 70%V:30%A. Apesar de não haver diferença significativa entre a luz branca, monocromática azul e as combinações (50%V:50%A e 30%V:70%A), as plântulas que cresceram sob luz branca teve o maior acúmulo de biomassa seca nas raízes (3,39 mg)(Figura 3). Não houve diferença significativa entre os tratamentos para peso seco total. Entretanto, as plântulas que cresceram sob 50%V:50%A acumulou maior quantidade de biomassa seca total (23,38 mg)(Figura 3).

Figura 3: Influência dos diferentes espectros na produção da biomassa seca da folha-BSF (A), caule-BSC (B), raiz-BSR (C) e total-BST (D).



*Medias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, entre os tratamentos pelo teste de Scott Knott a nível de 5% de probabilidade.

Fonte: Autores (2025).

Os LEDs têm seu espectro luminoso otimizado de acordo com a região ativa da fotossíntese das plantas (Sena et al., 2024). Por conta disso a luz branca também pode auxiliar no aumento da produção de biomassa seca, já que possui todos os espectros. As luzes monocromáticas e as combinações estimulam a produção de biomassa seca das folhas e raiz, porque os comprimentos de onda azul e vermelho regulam os genes das vias metabólicas, influenciam desenvolvimento da parte aérea e o sistema radicular. Devido a regulação dos fitohormônios e participam dos processos fisiológicos, como a fotossíntese e a biossíntese dos metabolitos secundários e da parede celular (Fan et al., 2022).

A luz azul regula a abertura dos estômatos, favorecendo a fixação de carbono pela enzima ribulose-1,5-bifosfato carboxilase (Taiz et al., 2017). Junto a luz vermelha a luz azul aumenta, a taxa fotossintética das plantas ao estimular as enzimas responsáveis pela síntese de

carboidratos, amido e sacarose (Li et al., 2017). Ao detectar a luz vermelha, o fitocromo A se converte em sua forma ativa (Prf), promovendo o crescimento radicular (Kurata; Yamamoto, 1997). Além disso, os fotoassimilados são transportados pelo floema para as células e partes inferiores da planta, como a raiz (Lim et al., 2020). Apesar das plântulas estioladas terem crescido sob espectro vermelho a baixa produção fotossintética afetou negativamente o acúmulo de biomassa nas raízes, assim como aquelas que cresceram em 70%V:30%A.

Em estudos realizados com *Origanum manjorana* L. o maior peso seco foliar foi observado sob luz branca (Cossa et al., 2024); em noqueira (*Junglas regia* L., Jugladiaceae) as combinações de azul-vermelho e vermelho-vermelho distante estimulam a produção de peso seco total e as características morfológicas variam de acordo com cada espectro (Saeedi et al., 2024). As plântulas de framboesa (*Rubus idaeus* L.) sobre luz vermelha possui baixo enraizamento, peso seco e ficaram estioladas (Nacheva et al., 2023); *Mentha spicata* L. quando cultivada em 70%A:30%V as plântulas acumulam maior biomassa seca das folhas, raiz e total (Cunha et al., 2019); *Solanum tuberosum* L. cultivada *in vitro* em luz vermelha+azul sobre imersão, tem produção de matéria seca, amido e formação de microtubérculos (Al-Shareefi et al., 2020); *Rubus fruticosus* (Dewir et al., 2023) e pitaya (*Hylocereus undatus* Britt & Rose, Cactaceae) (Huang et al., 2022) tem maior crescimento vegetativo e enraizamento, quando as plântulas são micropropagadas sob 30%A:70%V.

Os resultados descritos corroboram com os resultados do estudo com a *Mentha piperita* e outros não, demonstrando que cada genótipo requer um espectro específico para seu desenvolvimento ideal. Além disso, a utilização de diferentes comprimentos de onda é essencial para o processo de aclimatização da espécie, já que as luzes vermelha e azul favorecem a adaptação das plantas, otimizando a fotossíntese ao promover melhorias na morfologia e fisiologia das plantas (Tarakanov et al., 2021).

3. 2 Análise dos pigmentos fotossintéticos produzidos em brotos de *M. piperita* L. *in vitro*

Os diferentes comprimentos de onda influenciam significativamente ($p < 0,05$) os pigmentos fotossintéticos da hortelã pimenta. As folhas acumulam maior teor de clorofila *a*, total e carotenoides sobre 50%V:50%A (0,88; 1,25 e 0,19 mg g⁻¹ MF). Seguida pela luz branca, 30%V:70%A e 70%V:30%A. Sendo os menores teores observados em plântulas que se desenvolveram em luz monocromática azul (0,65; 0,94 e 0,13 mg g⁻¹ MF), Tabela 1.

A combinação de cores pode beneficiar o acúmulo de clorofila, conseqüentemente a produção de biomassa seca, porque uma das vantagens da LED é a emissão dos comprimentos de onda no pico específico de absorção da clorofila para a alta eficiência fotossintética (Vieira

et al., 2015). Uma quantidade mínima de luz azul é necessária para que ocorra o desenvolvimento normal das plantas, já que esse espectro estimula o amadurecimento dos cloroplastos, biossíntese da clorofila (Cavallaro e al., 2022), abertura dos estômatos e realização da fotossíntese (Nowakowska et al., 2023).

Tabela 1: Concentração dos pigmentos fotossintéticos em plântulas de hortelã pimenta cultivada sobre diferentes espectros de luz.

Qualidade de Luz	Clorofila			Carotenóides
	a	b	Total	
	mg g ⁻¹ MF			
Branca	0,76±0,00 b	0,38±0,00 b	1,15±0,00 b	0,16±0,00 b
Azul	0,65±0,05 d	0,29±0,03 c	0,94±0,02 c	0,13±0,01 c
Vermelho	0,71±0,00 c	0,59±0,02 a	1,29±0,01 a	0,13±0,01 c
50%V:50%A	0,88±0,03 a	0,37±0,01 b	1,25±0,04 a	0,19±0,04 a
30V%:70%A	0,77±0,02 b	0,42±0,08 b	1,19±0,06 b	0,16±0,01 b
70V%:30%A	0,77±0,02 b	0,38±0,07 b	1,15±0,06 b	0,16±0,01 b
CV (%)	4,00	12,15	3,67	9,27

*Medias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, entre os tratamentos pelo teste de Scott Knott a nível de 5% de probabilidade.

Fonte: Autores (2025).

Resultado semelhante foi encontrado na espécie *Tetrastigma hemsleyanum* cultivada em estufas sobre luz azul que teve a biossíntese de clorofila baixa, porém isso não afetou a produção de biomassa seca das folhas (Zhao et al., 2024). Em *Paulownia tomentosa* (Thunb) Stud (Paulowniaceae) o espectro vermelho estimulou a formação de clorofila a e b, enquanto, que no híbrido *Paulownia Zucc x Elongata* os pigmentos fotossintéticos foram induzidos pelo azul (Djangalina et al., 2023). O híbrido *Prunus cerasus x Prunus canescenses* cultivado sob vermelho:azul tem maior índice de clorofila b e carotenoides (Sorroupolou et al., 2023). Em *M. canadensis* L. quando cultivada em sistema hidropônico sob LED branca acrescida da azul, ocorre o aumento da biossíntese de clorofila total (Ueda et al., 2021).

De acordo com os trabalhos apresentados acima é importante identificar qual comprimento de onda e suas misturas proporcionam o melhor desenvolvimento do aparato fotossintético, já que a sinalização dos fotorreceptores mais importantes ocorre na faixa do vermelho (660-730) e azul (340-500).

3.3 Análise da fração volátil das folhas de *Mentha piperita* L.

O comprimento de onda influenciou a quantidade e qualidade dos metabolitos secundários produzidos nas folhas de hortelã pimenta. Maior percentagem de monoterpênos oxigenados foram observados em luz branca (100%) (Tabela 2). A biossíntese do α pineno e β pineno é beneficiada pela luz monocromática vermelha (1,85 e 1,27 %). A produção de pulegona é estimulada sob luz azul (17,87%) e em condições com maior intensidade dessa luz, como nas combinações 50% vermelho: 50% azul (16,82%) e 30% vermelho: 70% azul (18,24%) (Tabela 2).

O espectro e a quantidade de luz influencia diretamente o metabolismo e desenvolvimento das plantas (Sena et al., 2024). A variação do perfil volátil nas luzes monocromáticas e combinações, ocorre porque a produção dos metabolitos secundários, como os terpenos está intimamente ligada a luz; os fotorreceptores fitocromo e criptocromo regula a biossíntese dos monoterpênos e sesquiterpenos, onde as maiores frações de vermelho sobre a luz azul beneficia a síntese desses compostos, enquanto que o espectro azul suprime alguns genes responsáveis pela produção dos terpenos (Avilés et al., 2024). Maior teor de mentofurano ocorreu sob iluminação vermelha e na combinação de luzes com maior intensidade no espectro vermelho (70%V:30%A e 50%V:50%A). Esse composto também foi observado em maior quantidade sob luz branca LED, que possui espectro no vermelho (Tabela 2)

A rota metabólica metileritritol-4-fosfato tem como precursor o gliceraldeído-3-fosfato e o piruvato, enquanto, que o mevalonato possui a acetil-CoA como precursor. A luz vermelha é o principal espectro que ativa uma sequência de reações enzimáticas que sintetizam esses compostos em geranyl difosfato (Zhang et al., 2021). Os resultados indicam que a atividade da mentofurano sintase é ativada pelo espectro vermelho, que beneficia a via oxidativa da *M. piperita* L. (pulegona \rightarrow mentofurano), enquanto, que a via redutora (pulegona \rightarrow mentona) é influenciada pela luz azul, que ativa a pulegona redutase, responsável por reduzir a pulegona e em mentona, posteriormente em mentol no interior do citosol.

Tabela 2: Composição volátil das folhas de *Mentha piperita* L. em diferentes qualidades de luz.

N° Componentes	IR	IR Lit	Área (%)						
			Branca	Azul	Vermelha	50%V:50%A	30%V:70%A	70%V:30%A	
1	3-metilciclopentanona	846	842	nd	nd	0,14±0,04	nd	nd	nd
2	α-pinene	930	932	1,41±0,11 c	1,45±0,04 c	1,85±0,01 a	1,44±0,15 c	1,46±0,06 c	1,63±0,11 b
3	3-metilciclohexanona	945	945	0,12±0,02	nd	0,11±0,05	nd	nd	nd
4	sabineno	969	969	0,19±0,02	0,21±0,01	0,26±0,01	0,20±0,03	0,20±0,01	0,22±0,02
5	β-pineno	973	974	1,00±0,08 c	1,01±0,02 c	1,27±0,05 a	1,03±0,10 c	1,03±0,04 c	1,13±0,07 b
6	mirceneno	990	988	0,26±0,01	0,30±0,02	0,27±0,16	0,27±0,01	0,28±0,01	0,29±0,03
7	limoneno	1024	1024	1,08±0,06 a	1,27±0,27 a	1,11±0,09 a	1,01±0,19 a	1,18±0,13 a	1,11±0,20 a
8	1,8-cineol	1027	1026	0,38±0,13	0,50±0,05	0,31±0,05	0,41±0,13	0,30±0,08	0,39±0,06
9	hidrato de <i>cis</i> -sabineno	1062	1065	0,53±0,06	0,52±0,07	0,22±0,08	0,48±0,03	0,41±0,04	0,41±0,04
10	mentona	1149	1148	0,19±0,02	0,27±0,20	nd	nd	0,12±0,05	nd
11	mentofurano	1162	1159	78,86±0,78 a	75,12±0,82 b	80,03±0,42a	77,87±0,49 a	76,08±1,85 b	78,45±1,37 a
12	mentol	1169	1175	0,37±0,12 a	0,34±0,36 a	0,33±0,03 a	0,33±0,03 a	0,30±0,03 a	0,35±0,02 a
13	isopulegona	1172	1177	0,25±0,21	0,34±0,05	nd	nd	nd	nd
14	pulegona	1236	1233	15,50±0,18 b	17,87±0,45 a	14,02±0,40 b	16,82±1,12 a	18,14±1,49 a	15,76±1,06 b
15	acetato de mentila	1292	1294	nd	0,68±0,38	nd	nd	nd	nd
16	(Z)-cariofileno	1409	1408	nd	0,09±0,01	nd	nd	0,10±0,05	nd
17	germacreno D	1470	1480	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Monoterpenos Oxigenados				96,08%	95,64%	94,91%	95,91%	95,35%	95,36%
Monoterpenos Hidrocarbonetos				3,94%	4,24%	4,76%	3,95%	4,15%	4,38%
Sesquiterpenos Oxigenados				0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
Sesquiterpenos Hidrocarbonetos				0,00%	0,09%	0,00%	0,00%	0,10%	0,00%
Total (%)				100%	99,88%	99,67%	99,86%	99,50%	99,74%

*Medias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, entre os tratamentos pelo teste de Scott Knott a nível de 5% de probabilidade.

*IR, Índice de retenção para a série n-alcano (C8-C20) na coluna HP-5 MS por ordem de eluição. DP, desvio padrão (n=3). nd., não detectado.

Fonte: Autores (2025).

4. CONCLUSÃO

A luz monocromática vermelha gera nas plantas micropropagadas uma foto resposta de estiolamento. O indicado é cultivar a espécie em 70%V:30%A para a obtenção de mudas com bom desenvolvimento da parte aérea, maior acúmulo de biomassa seca das folhas e caule, e produção dos pigmentos fotossintéticos. A luz vermelha estimula a biossíntese de mentofurano.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, R.P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry**. 4.1 ed (online). Illinois: Allured Publishing, 804 p. 2017.
- AL-SHAREEFI, M. J. H.; ABBASS, J. A.; ABDULHUSSEIN, M. A. A. Effect of light sources and culture systems on microtubers production of potato (*Solanum tuberosum* L.) *in vitro*. **International Journal Agriculture Stat. Science**, v. 16, n. 2, p. 679-686, 2020. <https://connectjournals.com/03899.2020.16.679>
- AVILÉS, W. C.; HEUVELINK, E.; MARCELIS, L. F. M.; KAPPERS, I. F. Ménage à trois: light, terpenoids, and quality of plants. **Trends in Plant Science**, v. 20, n. 20, p. 1-17, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2024.02.007>
- BIESKI, I. G. C.; SANTOS, J. L. U. D.; FERREIRA, M. D. L.; GARCIA, P. C.; DOURADO, S. H. A.; JANUÁRIO, A. B.; MESSIAS, T. E.; APOLINÁRIO, J. M. dos S. da. Potencial econômico e terapêutico dos óleos essenciais mais utilizados no Brasil. **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, n. 1, p. 125-137, 2022. 10.32712/2446-4775.2022.1203
- BIZZO, H. R.; REZENDE, C. M. O mercado de óleos essenciais no Brasil e no mundo na última década. **Química Nova**, v. 45, p. 949-958, 2022. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170889>
- BOTTERWEG-PAREDES, E.; BLAAKMEER, A.; HONG, S. Y.; SUN, B.; MINERI, L.; KRUSVEE, V.; XIE, Y.; STRAUB, D.; MÉNARD, D.; PESQUET, E.; WENKEL, S. Light affects tissue patterning of the hypocotyl in the shade-avoidance response. **PLoS Genetics**, v. 16, n. 3, p. e1008678, 2020. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1008678>
- BRAGA, F. T.; PASQUAL, M.; CASTRO, E. M. D.; DIGNART, S. L.; BIAGIOTTI, G.; PORTO, J. M. P. Quality of light on the *in vitro* culture of *Dendranthema grandiflorum* cv. Rage: morphophysiological characteristics. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, p. 502-508, 2009. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542009000200022>
- BUPESH, G.; AMUTHA, C.; NANDAGOPAL, S.; GANESHKUMAR, A.; SURESHKUMAR, P.; MURALI, K. S. Antibacterial activity of *Mentha piperita* L.(peppermint) from leaf extracts-a medicinal plant. **Acta Agriculturae Slovenica**, v. 89, n. 1, p. 73-79, 2007.
- CHRISTOPHE, A.; MOULIA, B.; VARLET-GRANCHER, C. Quantitative contributions of blue light and PAR to the photocontrol of plant morphogenesis in *Trifolium repens* (L.). **Journal of Experimental Botany**, v. 57, n. 10, p. 2379-2390, 2006. <https://doi.org/10.1093/jxb/erj210>
- COSSA, M. C. V.; ROCHA, J. P. M.; ASSIS, R. M. A. de; LEITE, J. J. F.; TEXEIRA, L. F.; BERTOLUCCI, S. K. V.; PINTO, J. E. B. P. Impact of photon flux density and light spectral quality on biomass production and arbutin compound accumulation in *Origanum majorana* L. plantlets. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 156, n. 1, p. 12, 2024. <https://doi.org/10.1007/s11240-023-02658-5>

CUNHA, S. H. B. da; Silva, S. T.; Bertolucci, S. K. V.; Carvalho, A. A.; Rocha, T. T.; Pinto, J. E. B. P. Influência da qualidade de luz no crescimento e acúmulo de voláteis de *Mentha spicata* cultivada *in vitro*. **Scientia Plena**, v. 15, n. 9, 2019.

<https://doi.org/10.14808/sci.plena.2019.090201>

DEWIR, Y. H.; AL-ALI, A. M.; RIHAN, H. Z.; ALSHAHRANI, T.; ALWAHIBI, M. S.; ALMUTAIRI, K. F.; NAIDOO, Y.; FULLER, M. P. Effects of artificial light spectra and sucrose on the leaf pigments, growth, and rooting of blackberry (*Rubus fruticosus*) microshoots. **Agronomy**, v. 13, n. 1, p. 89, 2022. <https://doi.org/10.3390/agronomy13010089>

DJANGALINA, E. D.; KAPYTINA, A. I.; KAIGERMAZOVA, M. A.; MAMIROVA, A. A.; SHADENOVA, E. A. Influence of light-emitting diodes on the efficiency of valuable woody plants micropropagation. **International Journal of Biology and Chemistry**, v. 16, n. 1, p. 49-57, 2023. <https://doi.org/10.26577/ijbch.2023.v16.i1.05>

DOU, H.; NIU, G. Plant responses to light. **Plant Factory**, p.153–166, 2020.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816691-8.00009-1>

FAN, C.; MANIVANNAN, A.; WEI, H. Light Quality-Mediated Influence of Morphogenesis in Micropropagated Horticultural Crops: A Comprehensive Overview. **BioMed Research International**, v. 2022, n. 1, p. 4615079, 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/4615079>

FERREIRA, D. F. Sisvar: um sistema computacional de análise estatística. **Ciência e agrotecnologia**, v. 35, p. 1039-1042, 2011. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542011000600001>

FONTANA, E.; NICOLA, S.; HOEBERECHTS, J. Rooting products and cutting timing for peppermint (*Mentha × piperita* L.) radication. In: **I International Symposium on the Labiatae: Advances in Production, Biotechnology and Utilisation 723**. p. 297-302, 2006.

FRANKLIN, K. A. PRR proteins of the circadian clock call time on shade avoidance. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 117, n. 10, p. 5095-5096, 2020. <https://doi.org/10.1073/pnas.2000716117>

HISCOX, J. D.; ISRAELSTAM, G. F. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. **Canadian Journal of Botany**, v. 57, n.12, p. 1332–1334, 1979. <https://doi.org/10.1139/b79-163>

HOLM, Y.; JOKINEN, K.; SAARIKKO, E.; HILTUNEN, R. The quality of peppermint oil in micropropagation experiments. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 4, p. 2,p. 81–84, 1989. <https://doi.org/10.1002/ffj.2730040210>

HORNITSHEK, P.; KOHNEN, M. V.; LORRAIN, S.; ROUGEMONT, J.; LJUNG, K.; LÓPEZ-VIDRIERO, I.; FRANCO-ZORRILLA, J. M.; SOLANO, R.; TREVISAN, M.; PRADERVAND, S.; XENARIOS, I.; FANHAUSER, C. Phytochrome interacting factors 4 and 5 control seedling growth in changing light conditions by directly controlling auxin signaling. **The Plant Journal**, v. 71, n. 5, p. 699-711, 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2012.05033.x>

HUANG, W.; YANG, G.; LIU, D.; LI, Q.; ZHENG, L.; MA, J. Metabolomics and transcriptomics analysis of vitro growth in pitaya plantlets with different LED Light spectra

treatment. **Industrial Crops and Products**, v. 186, p. 115237, 2022.

<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115237>

JUROWSKI, K.; PIETRUSZKA, E. K.; KROŚNIAK, M. The toxicological safety assessment of heavy metal impurities (As, Pb, and Cd) in mint tea infusions (*Mentha piperita* L.) available in Polish markets. **Biological Trace Element Research**, v. 201, n. 5, p. 2627-2635, 2023. <https://doi.org/10.1007/s12011-022-03348-7>

KALAITZOGLU, P.; TAYLOR, C.; CALDERS, K.; HOGERVORST, M.; VAN IEPEREN, W.; HARBINSON, J.; VISSER, P. DE; NICOLE, C. C. S.; MERCELIS, L. F. M. Unraveling the effects of blue light in an artificial solar background light on growth of tomato plants. **Environmental and Experimental Botany**, v. 184, p. 104377, 2021.

<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2021.104377>

KHOURI, A. G.; SOUZA, Á. P. S.; MAGALHÃES, F. G.; DE SOUSA PAIVA, C. C.; DA SILVEIRA, A. A.; DE MORAIS, M. C. Utilização de *Mentha piperita* para o tratamento da síndrome do intestino irritável (SII): Revisão narrativa. **Referências em Saúde do Centro Universitário Estácio de Goiás**, v. 4, n. 02, p. 35-39, 2021.

KURATA, T.; YAMAMOTO, K. T. Light-stimulated root elongation in *Arabidopsis thaliana*. **Journal of Plant Physiology**, v. 151, n. 3, p. 346-351, 1997.

[https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(97\)80263-5](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(97)80263-5)

LI, Y.; XIN, G.; WEI, M.; SHI, Q.; YANG, F.; WANG, X. Carbohydrate accumulation and sucrose metabolism responses in tomato seedling leaves when subjected to different light qualities. **Science Horticulturae**, v. 225, p. 490–497, 2017.

<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.07.053>

LIM, C. H.; GUAN, T. S.; HONG, E. C.; CHOW, Y. L.; LYNN, C. B.; SUBRAMANIAM, S. Effect of different LED lights spectrum on the 'in vitro' germination of gac seed (*Momordica cochinchinensis*). **Australian Journal of Crop Science**, v. 14, n. 11, p. 1715-1722, 2020.

<https://doi.org/10.3316/informit.797621618810558>

MORAES, R. M.; CERDEIRA, A. L.; LOURENÇO, M. V. Using micropropagation to develop medicinal plants into crops. **Molecules**, v. 26, n. 6, p. 1752, 2021.

<https://doi.org/10.3390/molecules26061752>

MARTINEZ, J. L. G.; GIL, J. Light regulation of gibberellin biosynthesis and mode of action. **Journal of plant growth regulation**, v. 20, n. 4, 2001. 10.1007/s003440010033

NACHEVA, L.; DIMITROVA, N.; KOLEVA-VALKOVA, L.; STEFANOVA, M.; GANEVA, T.; NESHEVA, M.; TARAKANOV, I.; VASSILEV, A et al. Effect of LED lighting on the rooting of micropropagated raspberry (*Rubus idaeus* L.) plants. **Acta Horticulturae**, p. 113-122, 2022. 10.17660/ActaHortic.2023.1359.13

NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY. **PC version 2.0 of the NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library**. Gaithersburg, 2008.

- NOWAKOWSKA, K.; KOWALCZYK, K.; PAWEŁCZAK, A.; GAJC-WOLSKA, J. Energy efficiency of LEDs during micropropagation of *Helleborus* 'Molly's White'. **Agriculture**, v. 13, n. 6, p. 1265, 2023. <https://doi.org/10.3390/agriculture13061265>
- SAEEDI, S. A.; VAHDATI, K.; ALINIAEIFARD, S.; SARIKHANI, S.; DIANATI, S.; DAVARZANI, M.; FAKHARI, S. Enhancing Growth and Morpho-physiological Traits of Tissue-cultured Explants of Persian Walnut through Manipulation of In Vitro Lighting Spectra. **Journal of Nuts**, v. 15, n. 1, p. 71-80, 2024. 10.22034/jon.2024.2004910.1259
- SARROPOULOU, V.; SPERDOULI, I.; ADAMAKIS, I. D.; GRIGORIADOU, K. The use of different LEDs wavelength and light intensities for *in vitro* proliferation of cherry rootstock: Influence on photosynthesis and photomorphogenesis. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 152, n. 2, p. 317-330, 2023. <https://doi.org/10.1007/s11240-022-02408-z>
- SENA, S.; KUMARI, S.; KUMAR, V.; HUSEN, A. Light Emitting Diode (LED) lights for the improvement of plant performance and production: a comprehensive review. **Current Research in Biotechnology**, v. 7, p. 100184, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.crbiot.2024.100184>
- SHELEPOVA, O. V.; OLEKHNOVICH, L. S.; KONOVALOVA, L. N.; KHUSNETDINOVA, T. I.; GULEVICH, A. A.; BARANOVA, E. N. Assessment of essential oil yield in three mint species in the climatic conditions of Central Russia. **Agronomy Research**, v. 19, n. 4, p. 1970–1980, 2021. <https://doi.org/10.15159/AR.21.113>
- SHULGINA, A. A.; KALASHNIKOVA, E. A.; TARAKANOV, I. G.; KIRAKOSYAN, R. N.; CHEREDNICHENKO, M. Y.; POLIVANOVA, O. B.; BARANOVA, E. N.; KHALILUEV, M. R. Influence of light conditions and medium composition on morphophysiological characteristics of *Stevia rebaudiana* Bertoni *in vitro* and *in vivo*. **Horticulturae**, v. 7, n. 7, p. 195, 2021. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7070195>
- SILVA, L. C. da; MOREIRA, M. P.; SILVEIRA, A. A. da C.; SIBOV, S. T. Influence of macronutrients, sucrose and LED on *in vitro* culture of *Lomatozona artemisiifolia* (Asteraceae-Eupatorieae). **Rodriguésia**, v. 72, p. 1-10, 2020. <https://doi.org/10.1590/2175-7860202172054>
- TABBERT, J. M.; SCHULZ, H.; KRÄHMER, A. Investigation of LED light qualities for peppermint (*Mentha x piperita* L.) cultivation focusing on plant quality and consumer safety aspects. **Frontiers in Food Science and Technology**, v. 2, p. 852155, 2022. <https://doi.org/10.3389/frfst.2022.852155>
- TAIZ, L. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Artmed Editora, 2017.
- TALANKOVA-SEREDA, T. E.; KOLOMIETS, J. V.; HOLUBENKO, A. V.; NUZHYNIA, N. V. The influence of clonal micropropagation on productivity and differentiation of *Mentha piperita* plant tissues. **Regulatory Mechanisms in Biosystems**, v. 10, n. 3, 2019. 10.15421/021952
- TARAKANOV, I. G.; KOSOBRYUKHOV, A. A.; TOVSTYKO, D. A.; ANISIMOV, A. A.; SHULGINA, A. A.; SLEPTSOV, N. N.; KALASHNIKOVA, E. A.; VASSILEV, A. V.;

KIRAKOSYAN, R. N. Effects of light spectral quality on the micropropagated raspberry plants during *ex vitro* adaptation. **Plants**, v. 10, n. 10, p. 2071, 2021. <https://doi.org/10.3390/plants10102071>

ТКАЧЁВА.В. **Исследованиелетучихвеществрастений**. Новосибирск: Офсет, 2008, 969 с.

TOYOMASU, T.; TSUJI, H.; YAMANE, H.; NAKAYAMA, M.; YAMAGUCHI, I.; MUROFUSHI, N.; NOBUTAKA TAKAHASHI, N.; INOUE, Y. Light effects on endogenous levels of gibberellins in photoblastic lettuce seeds. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 12, p. 85-90, 1993. <https://doi.org/10.1007/BF00193238>

TREVISAN, S. C. C.; MENEZES, A. P. P.; BARBALHO, S. M.; GUIGUER, E. L. Properties of *Mentha piperita*: a brief review. **World Journal of Pharmaceutical and Medicinal Research**, v. 3, n. 1, p. 309-313, 2017.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas—liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**, v. 11, p. 463-471, 1963.

VIEIRA, L. do N.; FRAGA, H. P. de F.; ANJOS, K. G. dos; PUTTKAMMER, C. C.; SCHERER, R. F.; SILVA, D. A. da; GUERRA, M. P. Light-emitting diodes (LED) increase the stomata formation and chlorophyll content in *Musa acuminata* (AAA) 'Nanicão Corupá' *in vitro* plantlets. **Theoretical and Experimental Plant Physiology**, v. 27, p. 91-98, 2015. <https://doi.org/10.1007/s40626-015-0035-5>

WELLBURN, A. R. The Spectral Determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **Journal of Plant Physiology**, v. 144, n. 3, p. 307-313, 1994. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)81192-2](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81192-2)

WU, Z.; TAN, B.; LIU, Y.; DUNN, J.; GUEROLA, P. M.; TORTAJADA, M.; CAO, Z.; JI, P. Chemical composition and antioxidant properties of essential oils from peppermint, native spearmint and scotch spearmint. **Molecules**, v. 24, n. 15, p. 2825, 2019. <https://doi.org/10.3390/molecules24152825>

ZAULI, I.; APPOLLONI, E.; CAROTTI, L.; PAUCEK, I.; QUAINI, S.; PENNISI, G.; ORSINI, F.; GIANQUINTO, G. Effects of different LEDs wavelengths on secondary metabolites accumulation in medicinal plants cultivated *in vitro*: a review of recent literature. In: **IX International Symposium on Light in Horticulture 1337**. p. 233-240, 2021.10.17660/ActaHortic.2022.1337.31

ZAYOVA, E.; KIROVA, E.; GENEVA, M. Optimized cultural conditions for rapid *in vitro* propagation and conservation of *Mentha piperita* L. **Comptes Rendus Academie Bulgare Scienses**, v. 74, n. 6, p. 945-954, 2021. <https://doi.org/10.7546/crabs.2021.06.18>

ZHANG, S.; ZHANG, L.; ZOU, H.; QIU, L.; ZHENG, Y.; YANG, D.; WANG, Y. Effects of light on secondary metabolite biosynthesis in medicinal plants. **Frontiers in plant science**, v. 12, p. 781236, 2021. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.781236>

ZHAO, H.; REN, S., YANG, H., TANG, S., GUO, C., LIU, M.; TAO, Q.; MING, T.; XU, H. Peppermint essential oil: Its phytochemistry, biological activity, pharmacological effect and application. *Biomedicine & pharmacotherapy*, v. 154, p. 113559, 2022.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113559>

CAPÍTULO 4

Sistema de Ventilação Natural no crescimento e na produção *in vitro* de monoterpenos cíclicos de hortelã pimenta

RESUMO

A hortelã pimenta (*Mentha piperita* L.) é uma espécie grande importância, cerca de 4000 toneladas/ano é produzida mundialmente, devido seu uso na indústria alimentícia, perfumaria, cosmética, higiene pessoal e farmacêutica. Na micropropagação é possível utilizar o Sistema de Ventilação Natural, em que as tampas modificadas são feitas com material de suporte fibroso ou com alta porosidade, para proporcionar melhor difusão dos gases entre o meio externo e o meio interno, proporcionando o desenvolvimento de mudas *in vitro* mais resistentes ao processo de aclimatização. Objetivou-se identificar se o sistema de ventilação natural beneficia o crescimento e a produção dos compostos voláteis da *Mentha piperita* L micropropagada. Segmentos nodais foram cultivados em meio MS, em frascos com tampas modificadas com 1 (SVN1), 2 (SVN2) e 4 (SVN4) membranas porosas e sem membrana (SVN0) (controle), em sala de crescimento com temperatura de 25 ± 1 °C e fotoperíodo 16h/8h. Após 30 dias, foi avaliado o crescimento, a biomassa seca das folhas, caule, raiz e total, pigmentos fotossintéticos e a composição química volátil. As plântulas *in vitro* de *M. piperita* L. tem maior comprimento do broto, acúmulo de biomassa seca das folhas, caule e raiz, quando cultivada em SVN4. A utilização de SVN2 beneficia a produção dos pigmentos fotossintéticos. Conclui-se que os brotos de hortelã pimenta se desenvolvem mais vigorosos em SVN4. As membranas porosas estimulam a produção de mentofurano, composto importante para a indústria da perfumaria.

Palavras-chave: membranas alternativas; *Mentha piperita*; planta medicinal; cultura de tecidos; metabólito secundário.

Natural Ventilation System in the growth and *in vitro* production of cyclic monoterpenes of peppermint

Abstract

Peppermint (*Mentha piperita* L.) is a species of great importance, with approximately 4,000 tons/year produced worldwide due to its use in the food, perfumery, cosmetics, personal hygiene and pharmaceutical industries. In micropropagation, it is possible to use the Natural Ventilation System, in which modified covers are made with fibrous or highly porous support material to provide better diffusion of gases between the external and internal environments, enabling the development of *in vitro* seedlings that are more resistant to the acclimatization process. The objective was to identify whether the natural ventilation system benefits the growth and production of volatile compounds of micropropagated *Mentha piperita* L. Nodal segments were cultured in MS medium, in flasks with modified lids with 1 (SVN1), 2 (SVN2) and 4 (SVN4) porous membranes and without membrane (SVN0) (control), in a growth room with a temperature of 25 ± 1 °C and a 16h/8h photoperiod. After 30 days, growth, dry biomass of leaves, stem, root and total, photosynthetic pigments and volatile chemical composition were evaluated. *In vitro* seedlings of *M. piperita* L. have greater shoot length and accumulation of dry biomass of leaves, stem and root, when grown in SVN4. The use of SVN2 benefits the production of photosynthetic pigments. It is concluded that peppermint shoots develop more vigorously in SVN4. The porous membranes stimulate the production of menthofuran, an important compound for the perfume industry.

Keywords: alternative membranes; *Mentha piperita*; medicinal plant; tissue culture; secondary metabolite.

1. INTRODUÇÃO

As espécies do gênero *Mentha* L. (Lamiaceae) são ervas medicinais e aromáticas de grande importância mundial, populares e antigas, com ampla utilização na indústria cosmética e alimentícia, muito consumida como chá, devido suas propriedades medicinais, que variam de espécie para espécie, por conta da sua composição química (Taraseviciene et al., 2019)

A hortelã pimenta (*Mentha piperita* L.) é uma das espécies mais populares do gênero é consumida no mundo todo, cerca de 4000 toneladas/ano é produzida mundialmente, principalmente pelo óleo essencial (Gholamipourfard; Salehi; Banchio, 2021), que contém compostos voláteis importantes, como o mentol, mentofurano, pulegona e mentona.

A espécie pode ser usada para tratamento de infecções respiratórias agudas, alergias, problemas digestivos e enxaqueca (Afkar; Karimzadeh, 2024). A presença do neomentol e a isomentona confere atividade anti-inflamatória, antibacteriana, antiviral, imunomoduladora, neuroprotetora, antifadiga e antioxidantes (Zhao et al., 2022).

O mentofurano, composto orgânico aromático produzido naturalmente nos botões florais da hortelã pimenta. Este é um componente de grande importância já que a indústria de aromas possui uma demanda estimada em 150-200 Mt/ano, para produção de perfumes (Kumar; Shukla; Samad, 2014).

A micropropagação é uma técnica que permite o cultivo *in vitro* das espécies medicinais, em condições assépticas, com meio adequado, para produção de plantas homogêneas, em larga escala, independente dos fatores climáticos e estações do ano, além de poder ser utilizada em plantas sem semente para fornecer frequentemente material vegetal de alta qualidade (Thiem et al., 2023).

No entanto, a vedação dos tubos com tampas de polipropileno no cultivo *in vitro* convencional, dificulta as trocas gasosas, conseqüentemente causa distúrbios morfofisiológicos, as plantas ficam menos vigorosas e aumenta o acúmulo de água no interior dos frascos, esses fatores podem causar a falha da aplicação da técnica causando prejuízos econômicos e perda das plantas (Junior et al., 2022).

Na micropropagação é possível utilizar o Sistema de Ventilação Natural, as tampas modificadas são feitas com material de suporte fibroso ou com alta porosidade, para proporcionar melhor difusão dos gases entre o meio externo e o meio interno (Xiao; Niu; Kozai, 2011). Este processo caracteriza o cultivo fotoautotrófico que ocorre na ausência da sacarose, onde o explante cresce e se desenvolve utilizando a energia luminosa e assimilando o CO₂ para realização da fotossíntese (Shi; Collado; Hernández, 2024).

No cultivo *in vitro* com o uso de membranas porosas, é essencial manter as folhas nos explantes. Esses explantes folhosos ou clorofilados possuem alta capacidade fotossintética, permitindo sua micropropagação em larga escala de forma uniforme, com desenvolvimento acelerado, sem a necessidade de reguladores de crescimento e apresentando baixo índice de contaminação, devido à ausência de sacarose, que normalmente favorece o crescimento de microrganismos (Kozai, Kubota e Jeong, 1997)

Essa forma de cultivo permite a obtenção de mudas de alta qualidade, mais responsivas e vigorosas. O cultivo com as membranas porosas melhora os processos fisiológicos, anatômicos, crescimento, diminui a contaminação, permiti o cultivo fotoautotrófico das plantas (Silva et al., 2017; Junior et al., 2022). Além disso, diminui a umidade, auxilia na eliminação do etileno (Schuelter et al., 2015), desenvolve um melhor sistema radicular, maior área foliar (Cha-Um et al., 2011). Braga et al. (2010), reportaram que as folhas obtém estômatos mais funcionais, que diminui a dessecação das plântulas e aumenta a taxa de sobrevivência durante o processo de aclimatização (Braga et al., 2010).

As plantas medicinais quando cultivadas sobre sistema de ventilação natural tem um aumento da concentração de compostos volateis, como observado na micropropagação de *Mentha viridis* L. (Oliveira et al., 2021) e *Lippia gracilis* Schauner (Lazzarini et al., 2019).

Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi identificar se o sistema de ventilação natural beneficia o desenvolvimento e os compostos voláteis da *Mentha piperita* L.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local do experimento e origem do material botânico

O estabelecimento *in vitro* e cultivo das plântulas de *Mentha piperita* L. foram realizados no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais e Plantas Mediciniais do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (DAG / UFLA) e as análises fitoquímicas no Laboratório de Fitoquímica e Controle de Qualidade (DAG / UFLA), localizado na região sul de Minas Gerais, Brasil, nas coordenadas 21°14 ' S e 45°00 ' W, com 918 m de altitude.

Para o estabelecimento *in vitro* foi coletado de plantas matrizes cultivadas no Horto de Plantas Mediciniais (DAG / UFLA) segmentos nodais de 1cm. A assepsia dos explantes foi feita com detergente e água corrente durante 30 minutos. Posteriormente foram imersos em água sanitária (1,25% de cloro ativo) durante 15 min. Na capela de fluxo laminar os explantes foram lavados três vezes com água destilada estéril. Com o auxílio do bisturi e pinça as folhas foram removidas e os segmentos nodais foram inoculados em tubos de ensaio com 12,5 ml do

meio de cultura MS (Murashige Skoog, 1962), contendo 30 gL⁻¹ de sacarose e 5,5 gL⁻¹ de ágar, com pH ajustado para 5,7 ± 0,1 antes de ser autoclavado, durante 20 min a 121 C°).

2. 2 Implantação do experimento em Sistema de Ventilação Natural

Segmentos nodais com um par de folhas de plântulas de *M. piperita* L. previamente estabelecidas foram inoculadas verticalmente em frascos com tampas sem nenhum filtro, com um filtro, dois filtros e quatro filtros contendo 40 mL de meio de cultura MS, sem sacarose em capela de fluxo laminar. Após a inoculação dos explantes eles foram levados para a sala de crescimento, onde ficaram durante 30 dias, em um fotoperíodo de 16h/8h a uma temperatura de 25 ± 1 °C.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com 4 tratamentos, sendo tampa sem filtro (SVN0 - controle), com um filtro (SVN2), dois filtros (SVN2) e quatro filtros (SVN4)), 5 repetições, tendo 2 frascos por repetição, com 5 explantes cada frasco, totalizando 200 plântulas. Após 30 dias foram avaliados comprimento do broto (CB) em centímetros, número de brotos (NB), área foliar total (AFT) cm², biomassa seca das folhas (BSF), caule (BSC), raiz (BSR) e total (BST) em miligramas.

Área foliar total (AFT) foi mensurada pelo software WinFOLIA™ e scanner EPSON PERFECTION V700 PHOTO, e a partir dos dados obtidos para AFT e acúmulo de matérias secas, foi calculado o crescimento da área foliar, seguindo as recomendações descritas em Benicasa (2003).

2. 3 Análise dos pigmentos fotossintéticos

Os pigmentos fotossintetizantes foram extraídos e mensurados seguindo o método desenvolvido por Hiscox e Israelstam (1979). Os extratos foram preparados a partir de 50 mg de folhas frescas, sem nervuras coletadas em sala escura, iluminada com luz verde. As folhas foram colocadas em tubos Falcon revestidos com papel alumínio, onde foi adicionado 10 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) saturado com carbonato de cálcio (CaCO₃), sendo posteriormente mantidos em estufa de circulação forçada por 24h a 65°C. Uma amostra branca foi preparada apenas com DMSO.

A absorbância das amostras foram lidas em cubeta de quartzo, a partir da solução extrativa diluída em DMSO na proporção de 1:1, nos comprimentos de onda de 480 (carotenoides), 649 (clorofila a) e 665 (clorofila b) nm no espectrofotômetro TECAN INFINITY M200 PRO, contra o branco. As amostras foram preparadas em quintuplicata.

Para determinação das concentrações das clorofilas *a*, *b* e carotenóides foi utilizado as equações propostas por Wellburn (1994): Clorofila *a* = (12,47 x A665) – (3,62 x A649); clorofila *b* = (25,06 x A649) – (6,5 x A665); carotenóides: (1000 x A480 – 1,29 x Ca – 53,78 x Cb)/220. Para determinar a clorofila total foi realizada a soma dos resultados das equações da clorofila *a* e *b*. Todos os resultados foram expressos em mg (de pigmentos) g⁻¹ (por matéria fresca de folha).

2. 4 Análise dos compostos voláteis

Amostras de 30 mg de folhas secas de *M. piperita*, foram acondicionadas em *vials* de 20 mL, vedados com septo de silicone/PTFE. Em seguida, os *vials* foram transferidos para o extrator *headspace* automático CombiPAL Autosampler System (CTC Analytic AG, Switzerland) acoplado ao sistema de CG/EM (Cromatógrafo Gasoso/Espectrômetro de Massa). As condições operacionais do extrator foi temperatura de incubação da amostra de 110°C durante 30 min, temperatura da seringa a 120°C e o volume de injeção de 500 µL da fase de vapor, injetados em modo *split* na razão 10:1.

Foi utilizada uma coluna capilar de sílica fundida HP-5MS (30 m de comprimento x 0,25 mm de diâmetro interno x 0,25 µm de espessura do filme) (Califórnia, EUA). O gás hélio como gás de arraste com fluxo de 1,0 mL min⁻¹; as temperaturas do injetor e da linha de transferência foram mantidas em 250°C. A temperatura inicial do forno foi de 60°C, seguido por uma rampa de temperatura de 3°C/min até 240°C, seguida de uma rampa de 10°Cmin⁻¹ até 280°C. As concentrações dos constituintes presentes na fração volátil foram calculadas através da área integral de seus respectivos picos, relacionando a área total de todos os picos. As amostras foram realizadas em triplicata e os resultados expressos na área relativa percentual ± desvio padrão (n=3).

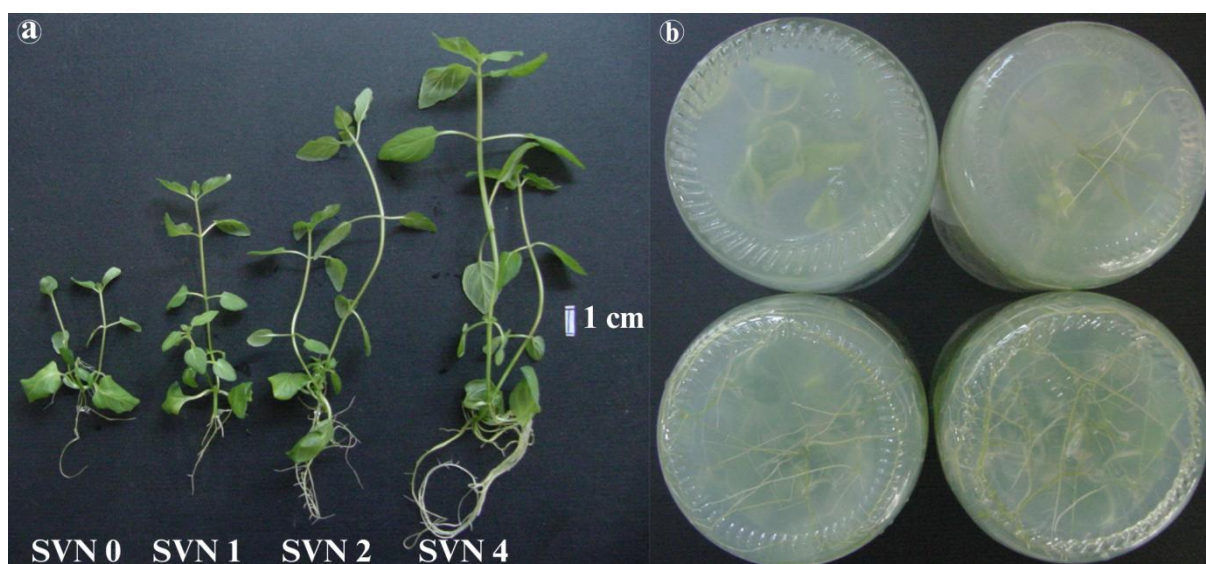
Foram identificados compostos com área superior a 1% por meio da comparação dos seus índices de retenção relativos à co-injeção de uma solução padrão de *n*-alcanos (C8-C20, Sigma-Aldrich®, St. Louis, USA) e por comparação dos espectros de massas do banco de dados da biblioteca NIST/EPA/NHI (Nist, 2008) e da literatura (Adams, 2017; ТКАЧЁВ, 2008). Os índices de retenção foram calculados usando a equação de Van den Dool e Kratz (1963).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3. 1 Parâmetros de crescimento da *Mentha piperita* cultivada em Sistema de Ventilação Natural

As plântulas de hortelã pimenta sofrem influência significativa ($p < 0,05$) no crescimento e desenvolvimento, quando cultivadas *in vitro* no Sistema de Ventilação Natural. Morfologicamente as mudas do SVN4 tiveram desenvolvimento mais vigoroso, com folhas largas e caule grosso, esverdeado, presença de dois brotos e sistema radicular bem desenvolvidos, o que pode auxiliar na adaptação das plântulas durante o processo de aclimatização. Quando comparada com SVN0 e 1, em que as mudas ficaram com a parte aérea pouco desenvolvida e em algumas plântulas as raízes estavam ausentes (Figura 1a e b).

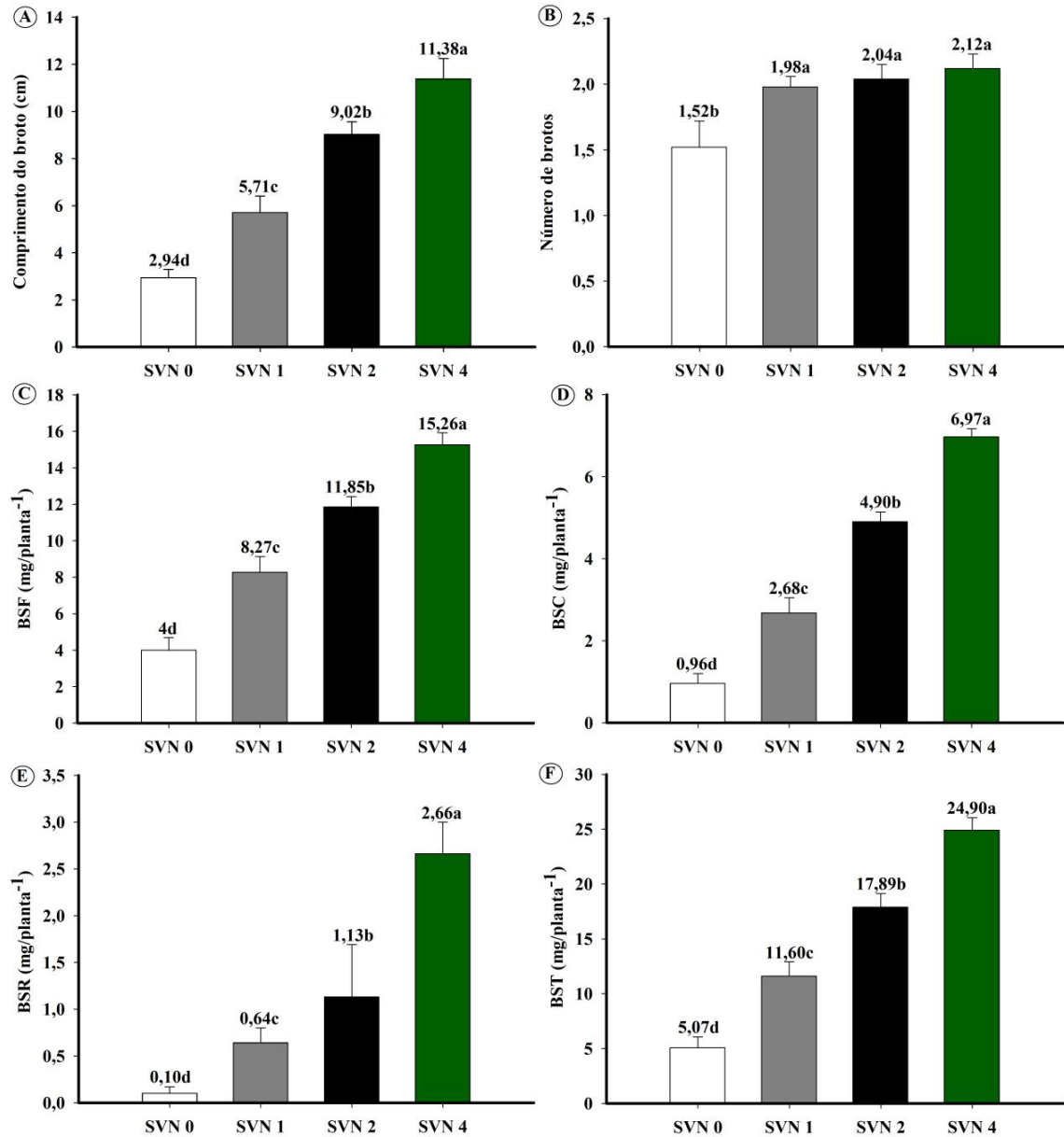
Figura 1: Plântulas de hortelã pimenta cultivadas em diferentes sistemas de ventilação natural (a) e o desenvolvimento das raízes no interior dos frascos (b).



Fonte: Autores (2025).

De modo geral as maiores médias do comprimento do broto (11,38 cm), biomassa seca das folhas (15,26 mg), caule (6,97 mg), raiz (2,66 mg) e total (24,90 mg), foram observadas quando as plântulas são cultivadas no SVN4 (Figura 2A, C, D, E, F). O aumento das membranas porosas causou um desenvolvimento proporcional das plântulas. A utilização de membranas porosas estimulou a formação de brotos secundários (Figura 2B). Resultados semelhantes foram observados em *Lippia dulcis* Trevir. (Verbenaceae), em que as mudas tiveram maior quantidade de número de brotos, comprimento dos brotos, biomassa seca das folhas, caule, raiz e total em SVN4 (Rocha et al., 2022).

Figura 2: Influência do Sistema de Ventilação Natural no comprimento do broto (A), número de brotos (B), biomassa seca das folhas - BSF (C), caule - BSC (D), raiz - BSR (E) e total - BST (F).



*Medias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, entre os tratamentos pelo teste de Scott Knott a nível de 5% de probabilidade.

Fonte: Autores (2025).

Os danos físicos sofridos pelos tecidos vegetais induz a síntese de etileno (León; Rojo; Serrano, 2004; Schlink, 2011). O etileno é considerado o fitohormônio do estresse, responsável por causar a senescência, abscisão foliar, amadurecimento dos frutos, floração e a clorose das folhas (Taiz et al., 2017), além de ser um inibidor do alongamento do caule, isso pode ser um dos indicativos das plântulas do SVN0 terem ficado pequenas, com as folhas e

raízes pouco desenvolvidas (Figura 1a e 2a) (Netto et al., 2006). A utilização de membranas porosas é muito importante para que o etileno saia do interior dos frascos, já que os danos físicos (cortes) sofridos pelo explante durante a inoculação é um estresse que promove a produção de etileno. O uso de tampas que permitem as trocas gasosas promove o desenvolvimento de mudas com alta qualidade, que são mais vigorosas e responsivas (Guanais et al., 2022), conseqüentemente, quando aclimatizadas as plântulas apresentam maior taxa de sobrevivência.

Estudos realizados com diferentes híbridos de videiras (Silva et al., 2022), *Dendrobium bigibbum* Lindl. (Orchidaceae) (Ribeiro et al., 2019), *Eryngium foetidum* (Silva et al., 2024), *Prunus campanulata* (Maxim.) (Rosaceae) (Sanson et al., 2024), *Doritaenopsis* sp. (Orchidaceae) (Shin; Park; Paek, 2014), demonstraram que as plântulas tiveram um bom desenvolvimento e alta plasticidade durante a aclimatização. A *Lippia dulcis* Trevir. (Verbenaceae) quando

O uso de frascos com tampas convencionais dificulta as trocas gasosas, conseqüentemente, os explantes se desenvolvem com vários distúrbios morfofisiológicos, que podem causar falhas na técnica e perdas econômicas (Junior et al., 2022). Enquanto, que a utilização da ventilação natural estimula o desenvolvimento das brotações *in vitro* com características anatômicas e fisiológicas semelhantes a mudas *ex vitro*. Sendo assim, podem auxiliar na redução do estresse dessas plântulas durante o processo de transição para casa de vegetação (Sáez et al., 2012).

Em frascos completamente tampados, sem a membrana porosa, as plântulas não conseguem atingir a capacidade fotossintética total, já que as concentrações de CO₂ é baixa e os explantes precisam assimilar a sacarose presente no meio de cultura. Entretanto, o crescimento dos brotos pode ser acelerado quando se proporciona maior entrada de CO₂ nos frascos e diminui a concentração de sacarose no meio de cultura (Kozai; Iwanami, 1988).

O acúmulo de biomassa seca das folhas pode estar relacionado com a eficiência fotossintética, já que o aumento da fixação/assimilação de CO₂ contribui com a biossíntese de carboidratos. Em estudos realizados com *Dalbergia nigra* cultivada *in vitro* com membranas, os brotos ao longo do seu desenvolvimento tiveram altas concentrações de CO₂ e baixa de etileno, além de ocorrer o aumento da atividade fotossintética, devido ao acúmulo de enzimas como a ribulose bifosfato carboxilase (Carrari-Santos et al., 2024), que é fixadora de carbono.

O cultivo fotoautotrófico é realizado na ausência da sacarose e acelera o crescimento das mudas, devido a maior entrada de CO₂ no interior dos frascos, conseqüentemente aumenta a taxa fotossintética, o que beneficia o acúmulo de biomassa seca (Kanечи et al., 1998). Na

ventilação natural com as membranas porosas, os brotos desenvolvem estômatos com maior densidade, funcionais, ficam pouco abertos, diminuindo a taxa de transpiração e condutância estomática, além do uso eficiente de água (Saéz et al., 2012). O desenvolvimento comprometido das plantas que cresceram em frascos sem a membrana porosa (SVN0) pode estar associada a baixa eficiência fotossintética, devido à baixa concentração de CO₂ livre no interior dos frascos (During; Harst, 1996), já que as tampas sem membranas dificultam as trocas gasosas entre o frasco e o meio externo.

O sistema radicular bem desenvolvido (Figura 1 e 2) aumenta a absorção dos macros e micronutrientes presentes no meio de cultura, além disso, as plântulas quando aclimatizadas conseguem fixar no substrato e absorver água e sais minerais, aumentando as suas chances de sobrevivência. Estudos com *Cannabis sativa* L. evidenciaram que quando é grande a taxa de ventilação no interior dos frascos, o alongamento dos brotos e o desenvolvimento do sistema radicular, ocorrem simultaneamente, além disso, as plântulas com essas características podem ter um período menor de aclimatização (Shi; Collado; Hernández, 2024). Resultados diferentes foram encontrados para *Pauteria gardneriana* Radlk. que somente se regenera em condições fotomixotróficas (Leite et al., 2017).

3. 2 Análise dos pigmentos fotossintéticos e área foliar

O acúmulo de pigmentos fotossintéticos foram influenciados significativamente pelo Sistema de Ventilação Natural (Tabela 1). As plântulas que se desenvolveram em SVN2 tiveram maior acúmulo de clorofila *a* (0,98 mg g⁻¹ MF), *b* (0,27 mg g⁻¹ MF), total (1,25 mg g⁻¹ MF) e carotenoides (0,26 mg g⁻¹ MF). As menores médias de clorofila *a*, *b* e total foram observadas em SVN0 e SVN1.

O aumento da área foliar foi proporcional à quantidade de membranas utilizadas nas tampas (Tabela 1). As folhas dos brotos que cresceram em SVN4 tiveram melhor expansão (0,73 mg/cm²). Esse fator de crescimento favorece o desenvolvimento das plantas, proporcionando maior área para a assimilação de CO₂ e realização da fotossíntese.

Tabela 1: Produção de pigmentos fotossintéticos e análise da área foliar das plântulas de hortelã pimenta micropropagadas sob sistema de ventilação natural (SVN).

Sistema de Ventilação Natural	Clorofila			Carotenóides	Área Foliar (mg/cm ²)
	a	b	Total (mg g ⁻¹ FM)		
SVN0	0,74±0,00 c	0,20±0,00 b	0,94±0,00 c	0,18±0,01 c	0,02±0,00 d
SVN1	0,76±0,01 c	0,19±0,00 b	0,95±0,01 c	0,19±0,00 b	0,25±0,03 c
SVN2	0,98±0,01 a	0,27±0,04 a	1,25±0,04 a	0,26±0,01 a	0,66±0,03 b
SVN4	0,89±0,02 b	0,24±0,04 a	1,13±0,05 b	0,20±0,01 b	0,73±0,03 a
CV (%)	1,68	12,45	3,19	4,28	6,52

*Medias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, entre os tratamentos pelo teste de Scott Knott a nível de 5% de probabilidade.

Fonte: Autores (2025).

Brotos de *Protea cynaroides* micropropagados em condições fotoautotróficas tiveram maior área foliar, conseqüentemente, as mudas ficaram bem desenvolvidas, com alta taxa fotossintética e acúmulo de biomassa seca, resultando em plântulas de alta qualidade (Wu; Lin, 2013).

As trocas gasosas no interior dos frascos e a ausência de sacarose no meio de cultura força os explantes a desenvolverem o aparelho fotossintético, além de proporcionar o desenvolvimento de estômatos funcionais, que irão auxiliar na entrada de CO² (Zobayed; Armstrong; Armstrong, 2001).

O excesso de sacarose compromete a eficiência fotossintética, pois reduz a formação de clorofila, inativa ou é ausente as enzimas RuBisco e PepCase, devido à condição heterotrófica da planta, além disso, estruturas essenciais, como estômatos, cera epicuticular e compartimentos anatômicos, têm desenvolvimento anormal, resultando em disfunções fisiológicas; embora os brotos aparentem um desenvolvimento normal devido à absorção de sacarose, eles enfrentam dificuldades de adaptação e sobrevivência durante o processo de aclimatização (Hazarika, 2006). Os baixos índices de sacarose podem promover a produção de carboidratos endógenos (Khan et al., 2002).

Os brotos que se crescem em condições fotoautotrófica desenvolvem o metabolismo primário e secundário, podendo sobreviver realizando suas funções fisiológicas, como a

fotossíntese sem precisar de fontes exógenas de sacarose, além de estômatos funcionais que realizaram as trocas gasosas.

Em estudos com maçã (*Malus pumila* híbrido *paradisiaca* x *Northern Spy*, Rosaceae) em cultivo fotoautotrófico, cerca de 77,3% da biomassa fresca total é resultado do CO₂ fixado pela planta. Enquanto, em condições fotomixotróficas os brotos 21,2% da massa fresca total foi resultado da assimilação de CO₂ fixado (Morini; Melai, 2003). A *Caladium bicolor* (Araceae) apesar de ter tido baixo peso seco em alta ventilação natural, as mudas se desenvolveram melhor durante o processo de aclimatização (Ogasawara, 2003). Em *Eryngium foetidum* a utilização de membranas porosas melhorou os aspectos da fluorescência da clorofila e a taxa fotossintética (Silva et al., 2024). Nas plântulas de abacaxizeiro (*Ananas comosus* L., Bromeliaceae) houve melhora do teor de clorofila a, b e total, promovendo a eficiência do sistema fotossintético (Mendes et al., 2015).

3. 3 Produção dos Compostos Voláteis da *Mentha piperita* em Sistema de Ventilação Natural

A fração volátil presente nas folhas de hortelã pimenta foi influenciada qualitativamente e quantitativamente pelo Sistema de Ventilação Natural (Tabela 2). A utilização de membranas porosas nas tampas estimulou a biossíntese de α pineno e β pineno. A mentona que é precursora do mentol não foi detectada no SVN0, SVN1 e SVN4. Apesar de não haver diferença significativa para a produção de pulegona, o uso das membranas proporcionou as maiores médias, que ficaram entre 13,22% e 13,95%.

Os diferentes tipos de tampas e o sistema de ventilação natural afetam o metabolismo secundário das plantas *in vitro* (Oliveira et al., 2021), por influenciar o desenvolvimento dos brotos. A *Mentha arvensis* L. (Lamiaceae) quando cultivada com membranas porosas tem o aumento da síntese de mentol, mentona e limoneno, enquanto, que a *Mentha viridis* L. (Lamiaceae) sintetiza principalmente mentol, trans-sabineno, linalol e limoneno (Oliveira et al., 2021). A *Ruta graveolens* quando cultivada em baixas concentrações de CO₂ tem baixa taxa fotossintética, conseqüentemente, afeta a produção dos metabolitos secundários (Mohamed; Ibrahim, 2012). As baixas taxas fotossintéticas diminuem a biossíntese de gliceraldeído-3-fosfato, fotoassimilado importante para a produção dos terpenóides (Schurgers et al., 2009).

As altas concentrações de mentofurano é um sinal de estresse sofrido pelos tecidos cultivados ou de condições não favoráveis para a síntese de mentol. Em condições desfavoráveis a enzima mentofurano sintase oxida pulegona em mentofurano, porém quando

ideais favorece a redução de pulegona em mentona, posteriormente em mentol, pela mentona redutase (Mahmound; Croteau, 2003).

In vitro, as plântulas encontram-se no estado juvenil, ou seja, todos os tecidos produzidos são jovens. Em *M. piperita* L., folhas jovens biossintetizam maiores teores de mentofurano, devido à imaturidade dos tricomas glandulares (Tabbert; Schulz; Krahmer, 2022). O sistema de ventilação natural pode ser uma fonte alternativa de produção de matéria prima rica em mentofurano para a indústria de aromas e perfumaria.

Tabela 2: Composição volátil da *M. piperita* L. cultivada em Sistema de Ventilação Natural.

N° Componentes	IR	IR Lit	Área (%)			
			SVN0	SVN1	SVN2	SVN4
1 3-metilclopentanona	847	842	nd	0,04±0,00	0,04±0,02	0,05±0,01
2 α-pinene	930	932	1,06±0,10 b	1,44±0,16 a	1,47±0,05 a	1,41±0,15 a
3 3-metilciclohexanona	945	945	nd	0,06±0,01	0,07±0,05	0,05±0,04
4 sabineno	970	969	0,09±0,04	0,18±0,01	0,18±0,01	0,20±0,01
5 β-pineno	973	974	0,81±0,13 b	1,05±0,10 a	1,05±0,02 a	1,08±0,06 a
6 mirceno	990	988	0,12±0,02	0,21±0,05	0,21±0,02	0,20±0,07
7 p-cimeno	1021	1021	nd	0,03±0,00	0,04±0,00	0,05±0,02
8 limoneno	1024	1024	0,80±0,32 a	0,96±0,36 a	0,62±0,03 a	0,67±0,17 a
9 1,8-cineol	1027	1026	0,04±0,00	0,10±0,02	0,21±0,08	0,35±0,05
10 hidrato de cis-sabineno	1062	1065	0,14±0,10	0,16±0,06	0,27±0,06	0,36±0,09
11 mentona	1149	1148	nd	nd	0,11±0,01	nd
12 mentofurano	1163	1159	82,15±1,09 a	81,63±0,22 a	82,20±0,30 a	81,22±0,12 a
13 mentol	1171	1175	0,13±0,09 a	0,26±0,07 a	0,29±0,04 a	0,28±0,03 a
14 pulegona	1235	1241	11,76±1,88 a	13,56±0,72 a	13,22±0,60 a	13,95±0,40 a
15 acetato de neo-mentila	1272	1271	0,18±0,01	nd	nd	nd
16 acetato de mentila	1292	1294	2,47±1,21	0,27±0,23	nd	nd
Monoterpenos Oxigenados			96,87%	95,98%	96,30%	96,16%
Monoterpenos Hidrocarbonetos			2,88%	3,87%	3,57%	3,61%
Sesquiterpenos Oxigenados			0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
Sesquiterpenos Hidrocarbonetos			0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
Total (%)			99,75	99,85	99,87	99,77

*Medias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, entre os tratamentos pelo teste de Scott Knott a nível de 5% de probabilidade.

*IR, Índice de retenção para a série n-alcano (C8-C20) na coluna HP-5 MS por ordem de eluição. DP, desvio padrão (n=3). nd., não detectado.

Fonte: Autores (2025).

4. CONCLUSÃO

As plântulas de *Mentha piperita* L. apresentam um desenvolvimento mais vigoroso quando cultivadas em um Sistema de Ventilação Natural com quatro membranas porosas. A produção de pigmentos fotossintéticos é estimulada pelo uso de duas membranas porosas. O elevado teor de mentofurano biossintetizado por plântulas cultivadas *in vitro* representa um potencial fonte de matéria-prima para a indústria da perfumaria, que utiliza esse constituinte químico na formulação de fragrâncias.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Futuros estudos precisam ser realizados para elucidar a dinâmica do desenvolvimento dos tricomas glandulares e na regulação das vias metabólicas sob diferentes espectros e intensidades de luz ao longo do ciclo de cultivo da *M. piperita* L.

Com base nos resultados obtidos, recomenda-se o cultivo da espécie sob intensidade luminosa de $78 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, por se tratar da condição ideal para seu crescimento, além de representar uma alternativa economicamente viável.

A combinação espectral de 70% luz vermelha e 30% luz azul demonstrou ser a mais adequada para a obtenção de plântulas vigorosas, promovendo um bom desenvolvimento da parte aérea, maior acúmulo de biomassa seca e maior produção de pigmentos fotossintéticos. A luz vermelha, em particular, foi eficaz na indução da biossíntese de mentofurano, composto de grande interesse industrial.

Além disso, o cultivo em Sistema de Ventilação Natural com quatro membranas porosas proporcionou um desenvolvimento mais robusto das plântulas, associado a uma elevada produção de mentofurano. Dessa forma, as plântulas de *M. piperita* L. cultivadas *in vitro* configuram-se como uma fonte alternativa promissora para a indústria da perfumaria, devido ao alto teor desse composto volátil com valor comercial de grande importância.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, R.P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry**. 4.1 ed (online). Illinois: Allured Publishing, 804 p. 2017.
- AFKAR, S.; KARIMZADEH, G. Changes in Physiological Traits, Gene Expression and Phytochemical Profile of *Mentha piperita* in Response to Elicitor. **Biochemical Genetics**, p. 1-15, 2024. <https://doi.org/10.1007/s10528-024-10805-6>
- BRAGA, F. T.; PASQUAL, M.; CASTRO, E. M. D.; DIGNART, S. L.; BIAGIOTTI, G.; PORTO, J. M. P. Quality of light on the *in vitro* culture of *Dendranthema grandiflorum* cv. Rage: Morphophysiological characteristics. **Ciencia e Agrotecnologia**, v. 33, n. 2, p. 502-508, 2009. <https://doi.org/10.1590/s1413-70542009000200022>
- CARRARI-SANTOS, R.; VETTORAZZI, R. G.; OLIVEIRA, T. D. R.; RODRIGUES, M. S.; SENA, E. de O. A.; OLIVEIRA, J. G. de; SILVEIRA, V.; SANTA-CATARINA, C. Enhancing *in vitro* growth and development of *Dalbergia nigra* shoots using microporous membranes: impacts on gas exchange, protein profile, ethylene, and polyamine levels. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 158, n. 2, p. 34, 2024. <https://doi.org/10.1007/s11240-024-02828-z>
- CHA-UM, S.; CHANSEETIS, C.; CHINTAKOVID, W.; PICHAKUM, A.; SUPAIBULWATANA, K. Promoting root induction and growth of *in vitro* macadamia (*Macadamia tetraphylla* L. 'Keauu') plantlets using CO₂-enriched photoautotrophic conditions. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 106, p. 435-444, 2011. <https://doi.org/10.1007/s11240-011-9940-8>
- DÜRING, H.; HARST, M. Stomatal behaviour, photosynthesis and photorespiration of *in vitro*-grown grapevines: Effects of light and CO₂. **VITIS-Journal of Grapevine Research**, v. 35, n. 4, p. 163, 2015
- FEJÉR, J.; GRUĽOVÁ, D.; FEO, V. de; ŮRGEOVÁ, E.; OBERT, B.; PREŤOVÁ, A. *Mentha* × *piperita* L. nodal segments cultures and their essential oil production. **Industrial Crops and Products**, v. 112, p. 550-555, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.12.055>
- FORTINI, E. A.; BATISTA, D. S.; MAMEDES-RODRIGUES, T. C.; FELIPE, S. H. S.; CORREIA, L. N. F.; CHAGAS, K.; SILVA, P. O.; ROCHA, D. I.; OTONI, W. C. Gas exchange rates and sucrose concentrations affect plant growth and production of flavonoids in *Vernonia condensata* grown *in vitro*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 144, p. 593–605, 2021. <https://doi.org/10.1007/s11240-020-01981-5>
- GHOLAMIPOURFARD, K.; SALEHI, M.; BANCHIO, E. *Mentha piperita* phytochemicals in agriculture, food industry and medicine: Features and applications. **South African Journal of Botany**, 141, 183-195, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.05.014>
- GUANAIS, D. D.; MORAES, F.; JUNIOR, P. C. F. Cultivo *in vitro* de *Acca sellowiana* (o. berg.) burret. em sistema de ventilação natural com tampas comerciais. **Enciclopédia biosfera**, v. 19, n. 42, p. 190-197, 2022.

HAZARIKA, B. N. Morpho-physiological disorders in *in vitro* culture of plants. *Scientia horticulturae*, v. 108, n. 2, p. 105-120, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2006.01.038>

JUNIOR, J. B. O.; PESSOA, C. M. P.; SCHERWINSKI-PEREIRA, J. E.; LOPES, H. DA S.; & DA COSTA, F. H. DE S. A simple, alternative and efficient sealing system to improve natural ventilation in culture vessels and the morphophysiological and anatomical quality of *Croton lechleri* (Muell. Arg.) grown *in vitro*. *Biologia*, v. 77, n. 10, p. 2945-2954, 2022. <https://doi.org/10.1007/s11756-022-01140-5>

KANECHI, M.; OCHI, M.; ABE, M.; INAGAKI, N.; MAEKAWA, S. The effects of carbon dioxide enrichment, natural ventilation, and light intensity on growth, photosynthesis, and transpiration of cauliflower plantlets cultured *in vitro* photoautotrophically and photomixotrophically. *Journal of the American Society*, v. 123, n. 2, p. 176-181, 1998. 10.21273/jashs.123.2.176

KHAN, P. S. S. V.; KOZAI, T.; NGUYEN, Q. T.; KUBOTA, C.; DHAWAN, V. Growth and net photosynthetic rates of *Eucalyptus tereticornis* Smith under photomixotrophic and various photoautotrophic micropropagation conditions. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, v. 71, n. 2, p. 141-146, 2002.

KOZAI, T.; KUBOTA, C.; JEONG, B. R. Environmental control for the large-scale production of plants through *in vitro* techniques. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, v. 51, p. 49-56, 1997. <https://doi.org/10.1023/A:1005809518371>

KUMAR, B.; SHUKLA, A. K.; SAMAD, A. Development and characterization of the menthofuran-rich inter-specific hybrid peppermint variety CIMAP-Patra. *Molecular breeding*, v. 34, p. 717-724, 2014. <https://doi.org/10.1007/s11032-014-0069-4>

LAZZARINI, L. E. S.; BERTOLUCCI, S. K. V.; CARVALHO, A. A. de; SANTIAGO, A. C.; PACHECO, F. V.; YUCESAN, B.; PINTO, J. E. B. P. Explant type and natural ventilation systems influence growth and content of carvacrol and thymol of *Lippia gracilis* Schauer. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, v. 137, p. 33-43, 2019. <https://doi.org/10.1007/s11240-018-01548-5>

LEITE, M. S.; SILVA, F. G.; ASSIS, E. S.; RUBIO, A.; MENDES, G. C.; ROSA, M. Morphoanatomy and physiology of *Pouteria gardneriana* Radlk plantlets grown *in vitro* at varied photosynthetic photon flux densities. *Acta Scientiarum. Agronomy*, v. 39, n. 2, p. 217-224, 2017. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v39i2.32515>

MAHMOUD, S. S.; CROTEAU, R. B. Menthofuran regulates essential oil biosynthesis in peppermint by controlling a downstream monoterpene reductase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 100, n. 24, p. 14481-14486, 2003. <https://doi.org/10.1073/pnas.2436325100>

MORINI, S.; MELAI, M. CO₂ dynamics and growth in photoautotrophic and photomixotrophic apple cultures. *Biologia plantarum*, v. 47, p. 167-172, 2003. <https://doi.org/10.1023/B:BIOP.0000022246.09161.63>

NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY. **PC version 2.0 of the NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library**. Gaithersburg, 2008.

OGASAWARA, N. Ventilation and light intensity during *in vitro* culture affect relative growth rate and photosynthate partitioning of *Caladium* plantlets after transplanting to *ex vitro*. **Acta Horticulturae**, v. 616, p. 143-149, 2003. [10.17660/ActaHortic.2003.616.14](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2003.616.14)

OLIVEIRA, T. de; BALDUINO, M. C. M.; CARVALHO, A. A. de; BERTOLUCCI, S. K. V.; COSSA, M. C.; COELHO, A. D; LEITE, J. J. F.; PINTO, J. E. B. P. The effect of alternative membrane system, sucrose, and culture methods under photosynthetic photon flux on growth and volatile compounds of mint *in vitro*. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, v. 57, p. 529-540, 2021. <https://doi.org/10.1007/s11627-020-10147-z>

ROCHA, T. T.; ARAÚJO, D. X.; SILVA, A. M. da; OLIVEIRA, J. P. V. de; CARVALHO, A. A. de; GAVILANES, M. L.; BERTOLUCCI, S. K. V.; ALVES, E.; PINTO, J. E. B. P. Morphoanatomy and changes in antioxidant defense associated with the natural ventilation system of micropropagated *Lippia dulcis* plantlets. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 151, n. 3, p. 467-481, 2022. <https://doi.org/10.1007/s11240-022-02364-8>

SÁEZ, P. L.; BRAVO, L. A.; LATSAGUE, M. I.; SÁNCHEZ, M. E.; RÍOS, D. G. Increased light intensity during *in vitro* culture improves water loss control and photosynthetic performance of *Castanea sativa* grown in ventilated vessels. **Scientia Horticulturae**, v. 138, p. 7-16, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.02.005>

SCHUELTER, A. R.; LUZ, C. L. da; SCHERER, A. M.; SOUZA, C. S. de; STEFANELLO, S. Disponibilidade de luz, tipo de vedação e de frasco na germinação e crescimento inicial *in vitro* de plântulas de cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal). **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 14, n. 3, p. 183-190, 2015. <https://doi.org/10.18188/sap.v14i3.10212>

SHI, X.; COLLADO, C. E.; HERNÁNDEZ, R. Improve *Cannabis sativa* micropropagation through increasing air change rate in photoautotrophic and traditional tissue culture. **Scientia Horticulturae**, v. 333, p. 113238, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2024.113238>

SHIN, K. S.; PARK, S. Y.; PAEK, K. Y. Physiological and biochemical changes during acclimatization in a *Doritaenopsis* hybrid cultivated in different microenvironments *in vitro*. **Environmental and Experimental Botany**, v. 100, p. 26-33, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2013.12.004>

SILVA, L. M. da; Carvalho, V. S.; Generoso, A. L.; Miranda, D. P.; Júnior, O. D. da C.; Simioni, P. F.; Santana, D. B.; Cunha, M. da; Oliveira, J. G. de; Viana, A. P. Micropropagation of interspecific hybrids of *Vitis spp.* in microenvironments with different gas exchanges. **Scientia Horticulturae**, v. 305, p. 111413, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.111413>

SILVA, S. T.; BERTOLUCCI, S. K. V.; CUNHA, S. H. B. DA; LAZZARINI, L. E. S.; TAVARES, M. C.; PINTO, J. E. B. P. Effect of light and natural ventilation systems on the growth parameters and carvacrol content in the *in vitro* cultures of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 129, p. 501-510, 2017. <https://doi.org/10.1007/s11240-017-1195-6>

TAIZ, L. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Artmed Editora, 2017.

TARASEVIČIENĖ, Ž.; VELIČKA, A.; JARIENĖ, E.; PAULAUŠKIENĖ, A.; KIELTYKA-DADASIEWICZ, A.; SAWICKA, B.; GAJEWSKI, M. Comparison of chemical composition and colour parameters of different *Mentha* genus plants grown under organic conditions. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v. 47, n. 1, p. 92-99, 2019. 10.15835/nbha47111211

ТКАЧЁВА.В. **Исследование летучих веществ растений**. Новосибирск: Офсет, 2008, 969 с.

THIEM, B.; HERMOSANINGTYAS, A. A.; BUDZIANOWSKA, A.; KIKOWSKA, M. Polish contributions in developing medicinal plant *in vitro* propagation system. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 155, n. 1, p. 1-28, 2023. <https://doi.org/10.1007/s11240-023-02562-y>

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas—liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**, v. 11, p. 463-471, 1963.

WU, H. C.; LIN, C. C. Carbon dioxide enrichment during photoautotrophic micropropagation of *Protea cynaroides* L. plantlets improves *in vitro* growth, net photosynthetic rate, and acclimatization. **HortScience**, v. 48, n. 10, p. 1293-1297, 2013. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.48.10.1293>

WU, Z.; TAN, B.; LIU, Y.; DUNN, J.; GUEROLA, P. M.; TORTAJADA, M.; CAO, Z.; JI, P. Chemical composition and antioxidant properties of essential oils from peppermint, native spearmint and scotch spearmint. **Molecules**, v. 24, n. 15, p. 2825, 2019. <https://doi.org/10.3390/molecules24152825>

XIAO, Y.; NIU, G.; KOZAI, T. Development and application of photoautotrophic micropropagation plant system. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 105, p. 149-158, 2011. <https://doi.org/10.1007/s11240-010-9863-9>

ZHAO, H.; REN, S.; YANG, H.; TANG, S.; GUO, C.; LIU, M.; TAO, Q.; MING, T.; XU, H. Peppermint essential oil: Its phytochemistry, biological activity, pharmacological effect and application. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 154, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113559>