



JOÃO FRANCISCO AMARAL MACIEL

**CULTIVO DE *Thymus vulgaris* L. SOB DIFERENTES FONTES DE
ESTERCO: PRODUÇÃO DE BIOMASSA, ÓLEO ESSENCIAL E
TIMOL**

LAVRAS – MG

2019

JOÃO FRANCISCO AMARAL MACIEL

**CULTIVO DE *Thymus vulgaris* L. SOB DIFERENTES FONTES DE
ESTERCO: PRODUÇÃO DE BIOMASSA, ÓLEO ESSENCIAL E
TIMOL**

Monografia apresentada à
Universidade Federal de
Lavras, como parte das
exigências do Curso de
Ciências Biológicas, para a
obtenção do título de Bacharel.

Orientadora

Prof. Dra. Suzan Kelly Vilela Bertolucci

Coorientador

Me. Alan da Cunha Honorato

LAVRAS – MG

2019

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha família, especialmente aos meus pais Ana Lúcia e Luiz Antônio por estarem sempre ao meu lado dando o apoio necessário e por acreditarem em mim e em minhas escolhas, por todo o sacrifício e pelas oportunidades de poder estudar e conseguir realizar um sonho de seguir uma carreira voltada aos meus interesses.

Aos meus queridos amigos e irmãos da República Araguaia, pelos ensinamentos e pela amizade que conquistei com cada um, por todos os momentos maravilhosos de risadas e companheirismo, pelos conselhos e pelo apoio nos momentos de tristeza, e que essa chama se mantenha sempre acesa e forte, nos reunindo em qualquer lugar.

Aos meus companheiros de curso, Thaiara e Caíque, pelos longos anos de amizade e pelos ótimos encontros que tivemos ao longo da graduação.

Agradeço a minha professora orientadora Suzan Kelly Vilela Bertolucci e meu coorientador doutorando Alan da Cunha Honorato pela oportunidade, atenção, orientação e dedicação que possibilitaram a realização desse trabalho.

A todos que conheci no Laboratório de Plantas Mediciniais, técnicos, alunos e professores, pelos momentos e experiências que compartilhamos.

Aos técnicos do Horto de Plantas Mediciniais da Universidade Federal de Lavras, Giulia, Dico e Paulinho, por toda a experiência e conhecimento transmitido ao longo desses anos sobre o maravilhoso universo das plantas medicinais e condimentares.

A todos que de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

O presente trabalho foi realizado com o intuito de avaliar as respostas de produção de biomassa, óleo essencial e timol de tomilho (*Thymus vulgaris* L.) cultivado em substrato com esterco de diferentes fontes animais. As mudas foram cultivadas em vasos contendo terra e areia (2:1) e a dose estabelecida de 8 kg/m² de adubo orgânico para cada tratamento. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com cinco tratamentos sendo eles: controle (sem esterco), esterco bovino, esterco caprino, esterco codorna e mix (bovino + caprino + codorna). Avaliou-se a biomassa seca de raízes (BSR), folhas (BSF), caule (BSC), total da planta (BST), teor e rendimento do óleo essencial nas folhas, assim como a produção, rendimento e produtividade de timol. Houve um aumento significativo na biomassa de folhas, caule, raízes e total da planta em plantas cultivadas com os estercos de codorna e mix, tendo um desempenho superior aos outros tratamentos. Os valores obtidos, em gramas, foram: BSR: 18,17 e 17,92; BSF: 11,59 e 10,78; BSC: 14,57 e 13,09; BST: 44,33 e 41,79, respectivamente. Os tratamentos com esterco bovino e caprino apresentaram um aumento significativo no teor do óleo essencial com 1,21% e 1,14%, respectivamente. Enquanto para rendimento (g/planta) e produtividade (kg/ha), os tratamentos com os melhores desempenhos foram codorna, bovino e o mix, trazendo uma média de 0,0593; 0,0580 e 0,0520 e 4,94; 4,84 e 4,34, respectivamente. Em relação ao conteúdo de timol, os tratamentos com o esterco caprino e mix apresentaram maior quantidade com 6,92 µg/mL e 6,79 µg/mL. Para rendimento (g/planta) e produtividade (kg/ha) do timol, os tratamentos com esterco de codorna, bovino e mix apresentaram as maiores médias com 0,411; 0,384 e 0,381 e 34,29; 32,06 e 31,80, respectivamente. Neste sentido, a resposta da adubação provavelmente está atrelada as fontes, visto que, possuem composições químicas diferentes, que podem levar a respostas diferentes no metabolismo. Em função disso, a mistura de estercos demonstrou ser uma boa alternativa aos estercos convencionais, devido ao seu fornecimento de nutrientes, caso não haja a disponibilidade de grandes quantidades de outras fontes.

Palavras-chave: Tomilho, Fertilização Orgânica, Metabólitos Secundários, Nutrição Vegetal, Respostas no Crescimento.

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	7
2. REFERENCIAL TEÓRICO	8
2.1 Tomilho e suas características.....	8
2.2 Propriedades medicinais e funcionais de <i>Thymus vulgaris</i>	8
2.3 Cultivo do tomilho	9
2.4 Adubação orgânica: Estercos	10
2.5 Tomilho x Adubação orgânica	11
2.6 Timol e suas propriedades.....	12
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	14
3.1 Produção das mudas.....	14
3.2 Cultivo das mudas.....	14
3.3 Obtenção do material vegetal.....	15
3.4 Obtenção do óleo essencial	16
3.5 Doseamento de timol	17
3.6 Delineamento experimental e análise estatística.....	19
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	19
4.1 Produção vegetal.....	19
4.2 Produção do óleo essencial e timol	22
5. CONCLUSÃO.....	26
6. REFERÊNCIAS	27

1. INTRODUÇÃO

As plantas medicinais têm desempenhado um papel importante no desenvolvimento da humanidade. Plantas medicinais são uma fonte de medicina complementar. Dados recentes da Organização Mundial de Saúde (OMS) mostram que ervas são usadas como medicamentos para atender às necessidades de saúde de grande parte da população de países em desenvolvimento; especialmente para milhões de pessoas nas vastas áreas rurais desses países (Hosseinzadeh et al., 2015).

Entre estas diferentes espécies de plantas, destaca-se o *Thymus vulgaris*, uma espécie da família das Lamiaceas, um vegetal perene que apresenta um porte arbustivo de aproximadamente 30 cm de comprimento para 40 cm de largura, com pequenas folhas verdes. Na medicina tradicional *T. vulgaris* é cultivada em muitos países pela maioria das pessoas, especialmente nas áreas rurais, onde os tratamentos herbais e fitoterápicos são utilizados para tratar de muitas doenças, incluindo doenças relacionadas à inflamação, como reumatismo, inchaço, picadas de insetos, dores etc. Seu óleo também é apreciado pois apresenta propriedades antiinflamatória, imunomodulador, antioxidante, antibacteriano e antifúngico (Hosseinzadeh et al., 2015).

Por isso, pesquisadores têm procurado alternativas de aumentar a produtividade de maneira que a produção não afete o meio ambiente com o uso de produtos tóxicos que podem acabar degenerando a qualidade dos substratos (Hendawy et al., 2010). Como alternativa, temos a adubação orgânica, onde o agricultor promove os nutrientes necessários através de compostos orgânicos como esterco caprinos, bovinos, suínos e vários outros tipos (Rosen & Allan, 2007). Esse tipo de adubação apresenta um papel importante pois além de promover os nutrientes necessários para o total desenvolvimento da planta, não deixa rastros químicos que podem acabar sendo cumulativos e futuramente deteriorar totalmente a área.

O uso de fertilizantes orgânicos pode aumentar a produtividade e a qualidade do solo, ao mesmo tempo que reduz a poluição e aumenta o lucro dos produtores (Carmo et al., 2016). Os efeitos da aplicação de resíduos orgânicos na fertilidade do solo dependem da composição química do resíduo, pois é altamente variável e está atrelado a suas fontes (Carmo et al., 2016).

Desta forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar as respostas de crescimento e produção de óleo essencial e timol em mudas de tomilho cultivadas sob diferentes doses de adubos orgânicos, em relação a suas raízes, parte aérea e biomassa total, assim como os teores, rendimento e produtividade do óleo essencial e quantidade, rendimento e produtividade do timol.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Tomilho e suas características

Pertencente à família das Lamiaceas, o tomilho (*Thymus vulgaris* L.) é uma planta arbustiva perene de aproximadamente 30 cm de comprimento e 40cm de largura, nativa do sul da Europa, passando pelo oeste do Mediterrâneo até o sul da Itália. Possui pequenas folhas altamente aromáticas de cor verde-acinzentada e apresenta flores brancas ou arroxeadas. Mostram um melhor desempenho no crescimento em climas quentes, secos e ensolarados onde não há incidência de sombras (Hosseinzadeh, 2015).

O nome Tomilho, em sua forma grega, foi dado pela primeira vez à planta pelos gregos como um derivado de uma palavra que significava “fumigar”, pois o usavam como incenso pelo seu odor balsâmico. Outros divergem o nome das palavras gregas thyo, significando perfume ou Timo, significando coragem, sendo a planta utilizada nas épocas antigas e medievais, atuando como uma grande fonte revigorante e inspirando coragem (Dauqan & Abdullah, 2017).

2.2 Propriedades medicinais e funcionais de *Thymus vulgaris*

O tomilho é uma planta medicinal importante que possui efeito anti-hiperglicêmico e antilipidêmico, e melhora as funções renais, o que pode ser útil no tratamento de diabetes e outras complicações relacionadas. O óleo essencial de *Thymus vulgaris* é um dos mais usados na indústria de alimentos e em cosméticos como conservantes e antioxidantes (Dauqan & Abdullah, 2017).

Esta planta possui uma longa história de usos em medicamento para o tratamento de várias doenças, como por exemplo, doenças respiratórias (tosse, bronquite e asma), sob a forma de chá, pomada, tintura, xarope ou por inalação a vapor, tratamento de dor de dente, infecção do trato urinário e dispepsia. Também expele fungos do estômago e intestino e tem a capacidade de aumentar o apetite por causa de seu importante componente timol, que tem a capacidade de matar bactérias e parasitas. Possui uma fonte incrível de nutrientes como ferro, cálcio, manganês, vitamina K e da mesma forma, melhora o fluxo sanguíneo e promove um impacto revigorante para todo o sistema (Hina et al., 2013).

O potencial corretivo de *Thymus vulgaris* é devido à presença de flavonóides, timol, carvacrol, eugenol e fenóis. Apresenta numerosos efeitos como antiespasmódico, bactericidas, anti-sépticos, antioxidantes, propriedades anti-helmínticas e ultimamente recomendado como substituto do agente de prevenção do câncer (Monira, 2012).

As propriedades anti-sépticas e tônico de tomilho tornou-o em um tônico útil para o sistema imunológico em infecções crônicas, especialmente fúngicas (Marina et al., 2010). Há estudos que mostram suas atividades anti-séptico, antimicrobiana, adstringente, anti-helmíntico, carminativo, desinfetante e tônico (Prasanth et al., 2014). Tomilho é incrivelmente útil em casos de infecções intestinais e infestações, como ancilóstomos, ascarídeos, bactérias gram-positivas e gram-negativas, fungos e leveduras como *Candida albicans*, devido ao timol, por ser ativo contra enterobactérias e bactérias cóccidas (Hosseinzadeh et al., 2015).

2.3 Cultivo do tomilho

O tomilho apresenta diversas formas de propagação vegetativa, sendo a estaquia uma das mais comuns. Além disso, pode ser propagado por sementes e divisão de suas raízes. As estacas e sementes devem ser plantadas em uma profundidade de aproximadamente 6 cm, e, no caso de sementes, levam um tempo médio de duas semanas até sua germinação. Caso a técnica de estaquia seja empregada, deve-se utilizar plantas matrizes para manter a homogeneidade das plantas. Recomenda-se conhecer a origem das sementes para que não haja possibilidade de hibridação (Production Guidelines for Thyme, 2012).

No que se diz respeito ao substrato, solos orgânicos e naturais trazem uma maior disponibilidade de nutrientes e microorganismos, que levam a produtos de alta qualidade e alto teor de óleo. Recomenda-se a análise do solo por um especialista, para avaliação da quantidade de nutrientes presentes, além de outros elementos que possam influenciar no crescimento. Caso haja necessidade, corrigir o substrato segundo a recomendação do mesmo. A análise será benéfica em relação aos fatores que afetam a produção, proporcionando as condições ideais para o cultivo. Em relação ao espaçamento, recomenda-se fileiras de 15 a 30 cm de comprimento com uma largura de 60 cm entre as plantas e um espaçamento de 20 a 30 cm entre as fileiras (Production Guidelines for Thyme, 2012).

Caso a plantação seja fertilizada, não se deve utilizar doses muito altas, pois grandes quantidades levam a um desenvolvimento fragilizado das plantas. Além disso, recomenda-se a aplicação de NPK (nitrogênio, fósforo e potássio) pelo menos uma vez ao ano para a correção dos nutrientes disponíveis no substrato. Após a colheita, pode-se aplicar nitrogênio para estimular o desenvolvimento de novas brotações, uma vez que o tomilho apresenta uma boa resposta a aplicações adicionais de nitrogênio, porém, tomando o devido cuidado para não causar uma sobredosagem e influenciar negativamente na produção. Pode-se utilizar a técnica de gotejamento ou irrigação aérea para irrigar as colheitas (Production Guidelines for Thyme, 2012).

As plantas de tomilho apresentam certa adaptabilidade competitiva, logo a utilização de herbicidas não se faz necessário, mas pode-se utilizar de capina manual para a remoção de plantas daninhas, evitando assim a contaminação do produto. O tomilho não apresenta muitas pragas, devido a presença de óleos voláteis com propriedades repelentes contidas em seu óleo essencial (Production Guidelines for Thyme, 2012).

2.4 Adubação orgânica: Estercos

Cada tipo de esterco possui um perfil químico diferente, o que pode resultar em um crescimento diferente, de acordo com a disponibilidade dos nutrientes e a forma como a planta os assimila em seu metabolismo. Teoricamente, a mistura de estercos equilibra os perfis. Estudos afirmam que plantas cultivadas com fontes biológicas de nutrientes, tais como estrume e resíduos orgânicos compostados, são menos suscetíveis a insetos e

patógenos do que os cultivados convencionalmente (Lotter, 2003) pois aumentam a produção dos metabólitos secundários. Além disso, a matéria orgânica possui um papel importante no controle químico de diversos metais presentes no solo, pois os ácidos húmicos e flavônicos presentes na decomposição da matéria orgânica ajudam a reter o metal em formas complexas e quelantes (Abou El-Magd et al., 2006).

Os esterco que são originados de uma produção intensiva possuem um nível de nutrientes maior do que aqueles esterco oriundos de animais criados em grandes pastagens ou com uma dieta pobre em nutrientes (Carmo et al., 2016). Esterco provenientes de aves e suínos possuem um alto teor de nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K) e cálcio (Ca) (Higashikawa et al., 2010), sendo o último um importante neutralizador de acidez no solo, mas altamente dependente do pH inicial e da quantidade utilizada no solo (Hargreaves et al., 2008; Diacono & Montemurro, 2010).

O adubo bovino é utilizado na agricultura há milênios, porém perdeu sua popularidade no início do século 19 com a introdução do adubo mineral, mas com os recentes estudos sobre a insustentabilidade de tal adubação, a preocupação com o meio ambiente e a adoção de uma alimentação saudável, o esterco bovino voltou a ser utilizado (Sampaio et al., 2007). Apresenta um melhor desempenho quando combinado com alguma espécie de adubação verde (Sampaio et al., 2007).

Um outro tipo de adubo que também é utilizado, porém existem poucos dados na literatura sobre seu uso (Alves & Pinheiro, 2007) é o esterco caprino. O esterco de caprino é mais sólido e muito menos aquoso que o dos bovinos e suínos, tem a estrutura mais macia, permitindo a aeração e por essa razão fermentam rapidamente, podendo ser aproveitados na agricultura, após um menor período de "curtição" que os demais (Henriques, 1997).

2.5 Tomilho x Adubação orgânica

Skubij & Dzida (2016) relataram um aumento da biomassa seca do tomilho utilizando adubo bovino na dose de 10 kg/m², turfa e areia. Além disso, apresentaram um aumento de proteínas e ácido ascórbico. Hendawy (2010) observou um aumento do

crescimento, quantidade e teor do óleo essencial nas plantas de tomilho utilizando adubos bovinos e caprinos e uma mistura de folhas de chá.

Em um experimento realizado no Irã, utilizando duas espécies de tomilho, *Thymus daenensis* e *Thymus vulgaris*, Askary et al., 2017, obtiveram um incremento do timol presente nas plantas através de tratamentos utilizando 30 toneladas de esterco e 67% da capacidade de campo do experimento. O timol aumentou em 78,78% nas plantas de *T. daenensis* e o carvacrol, 64,78% nas plantas de *T. vulgaris*.

Baranauskiene et al., 2003, descobriram em um estudo que o nitrogênio influencia no aumento da colheita, mas não influenciou estatisticamente na quantidade de óleo essencial presente em cada planta. Porém, a quantidade de óleo obtida por área de cultivo foi maior.

Tendo isso em vista, o tomilho apresenta uma certa sensibilidade em relação aos fatores bióticos e abióticos, incluindo fertilizantes e tipos de solo (Dzida, 2016), o que faz com que doses muito altas acabem se tornando tóxicas para seu desenvolvimento, assim como doses muito baixas podem não fornecer os nutrientes necessários para o metabolismo da planta

2.6 Timol e suas propriedades

O timol é classificado como um terpeno fenólico, pertencente a classe dos monoterpenos (possui 10 moléculas de carbono em sua composição), e apresenta fórmula molecular $C_{10}H_{14}O$, cuja estrutura química e espectro de massa obtido por impacto eletrônico (EM/EI) a $70e^{-}V$ característico está representado na figura 1. Os terpenos possuem diversos subtipos, cada um apresentando uma quantidade de carbono diferente. Geralmente suas propriedades químicas e biológicas estão atreladas ao tamanho das estruturas e dos grupos funcionais associados. A grande maioria dos monoterpenos são voláteis e constituintes básicos de óleos essenciais (McNaught & McNaught, 1997).

Óleos essenciais apresentam atividades biológicas notáveis como propriedades antifúngicas, antibacterianas e antioxidantes, atraindo a atenção para a indústria farmacêutica e de produtos naturais, perfumes, cosméticos e alimentos por suas aplicações possíveis e variáveis (Baydar et al., 2004).

O interesse no uso de antioxidantes naturais na preservação de alimentos tem aumentado com as demandas por uma vida mais saudável. Um estudo conduzido por Aeschbach et al., 1994, mostrou que o timol e o carvacrol diminuíram a oxidação dos compostos lipídicos nos alimentos. A extensão à qual oxidação de ácidos graxos e seus ésteres ocorre nos alimentos depende da estrutura química do ácido graxo, a natureza do processamento do alimento e a temperatura em que os alimentos são armazenados e cozinhados (Aruoma & Halliwell et al., 1994).

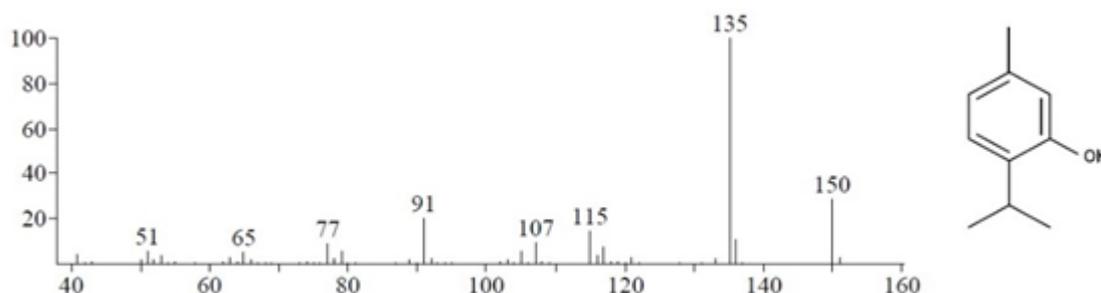


Figura 1 – Espectros de fragmentação por EM/EI e estrutura química do timol (Fonte: ADAMS, 2007).

Segundo Acevedo et al., 2007, as folhas de tomilho podem apresentar uma porcentagem de até 35,8% de timol em sua composição, além de *p*-cimeno (19,5%), γ -terpineno (9,7%) e carvacrol (4,3%). Esse estudo mostrou que dentre os 5 gêneros estudados, *Thymus* apresentou um maior conteúdo de timol no geral, com 34%, enquanto *Origanum* apresentou uma maior quantidade de carvacrol (~54%).

Em um estudo conduzido por Guarda et al., 2010, onde utilizava-se microcápsulas contendo timol e carvacrol, verificou-se que os agentes antimicrobianos estudados eram fortes inibidores do crescimento de micélio de fungos, mas não foram eficazes contra a germinação de esporos de mofo.

Evans & Martin (2000) demonstraram a eficiência do timol na inibição de bactérias orais presentes em ruminantes. Em conclusão, o timol era um potente inibidor da fermentação da glicose por *S. bovis* JB1 e *S. ruminantium* HD4. O tratamento diminuiu as concentrações de metano e lactato produzido pelos microrganismos e aumentou o pH final. Concentrações de acetato e propionato também foram reduzidas.

Xu et al., 2008, reportaram que o carvacrol e o timol apresentaram efeitos antimicrobiano em *Escherichia coli*. Os efeitos antibacterianos foram atribuídos à sua

capacidade de permeabilizar e despolarizar a membrana citoplasmática. Este estudo mostrou o uso potencial da citometria de fluxo como método adequado para investigar o modo de ação antibacteriana dos componentes do óleo essencial.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Produção das mudas

As mudas de tomilho (*Thymus vulgaris*) foram obtidas por estaquia, com ± 5 cm, de plantas matrizes cultivadas em canteiro no Horto de Plantas Medicinais da Universidade Federal de Lavras (UFLA) e identificada no herbário da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG) com exsicata de número 58576. As mudas com 45 dias foram transplantadas em vasos previamente preparados e etiquetados com os tratamentos utilizados no experimento.

3.2 Cultivo das mudas

As mudas foram transplantadas para vasos de 10 litros contendo o substrato mais o adubo orgânico e cultivadas a pleno sol. Para o preparo do substrato misturou-se solo e areia na proporção de 2:1, sendo o solo previamente peneirado utilizando peneiras de madeira com espaçamento de 2 cm entre os fios, para barrar detritos e grânulos grandes.

Foram realizadas análises químicas do substrato (solo + areia) no Laboratório de Análises Química e Física do Solo, do Departamento de Ciência do Solo, da UFLA, utilizando a caracterização química conforme EMBRAPA (1997). As características químicas do substrato foram analisadas e quantificadas segundo os resultados obtidos: pH em água = 5,4; K (mg/dm³) = 25,89; P-Rem (mg/L) = 15,22; Ca^{2+} , Mg^{2+} , Al^{3+} , H+Al (cmolc/ dm³) = 0,68; 0,05; 0,07; 2,93; índice de saturação de bases (V%) = 21,35; matéria orgânica (dag/kg) = 1,03; Zn, Fe, Mn, Cu, B e S (mg/dm³) = 0,46; 43,3; 15,34; 1,38; 0,02; 1,6 respectivamente.

As fontes de esterco utilizadas foram codorna, caprino, bovino e mix (mistura equitativa das fontes na dose estabelecida) oriundos de propriedades rurais presentes nos

arredores da cidade de Lavras-MG e cuja descrição química está disponível na tabela 1. A dose utilizada para adubação foi previamente estabelecida, sendo está de 8 kg/m². Posterior ao preparo, os vasos foram irrigados e deixados apenas com o substrato durante uma semana para estabilização. Na tabela 1 está apresentada a análise química dos adubos orgânicos, realizada pela Cooperativa Regional de Cafeicultores (Cooxupé) em Nepomuceno, MG.

Esterco	C/N	Umidade (65°C)	Carbono orgânico	g/Kg						mg/Kg				
				N	P ₂ O ₅	K ₂ O	Ca	Mg	S	Cu	Fe	Zn	Mn	B
Bovino	28	71	309	11	5	12	7	4	2	57	33811	72	920	140
Caprino	32	68	411	13	5	25	9	3	3	15	3498	58	117	146
Codorna	8	125	203	25	41	37	124	6	4	55	1483	377	360	30
Mix*	23	88	308	16	17	25	47	4	3	42	12931	169	466	105

Tabela 1. Composição química dos esterco de bovino, caprino e codorna que foram utilizados no experimento. *Valores estimados pela média dos três tipos de esterco.

Para condução deste experimento utilizou-se uma irrigação com um turno de rega de dois dias, com uma lâmina d'água aplicada de 13mm nos primeiro 60 dias, sendo esta dobrada a partir deste tempo e permanecendo até o final do experimento. O cálculo foi realizado a partir da coleta da água oriunda da irrigação em um vaso contendo um saco plástico e posteriormente pesado.

3.3 Obtenção do material vegetal

A colheita do experimento foi realizada 120 dias após o transplante das mudas. As plantas foram seccionadas em raiz e parte aérea ainda nos vasos.

As raízes foram retiradas dos vasos e lavadas utilizando uma mangueira com água corrente para retirar o substrato encrustado. Após a lavagem, as raízes foram retornadas em seus respectivos vasos contendo uma folha de jornal para a absorção da água remanescente e colocadas em casa de vegetação vazia para secagem em temperatura ambiente. A parte aérea das plantas foram ensacadas e devidamente identificadas com os respectivos tratamentos e, então, submetidas a secagem em estufa com ventilação forçada a 37°C até o peso constante.

O peso do material vegetal seco foi pesado em balança semi-analítica para a determinação da biomassa seca de folhas (BSF, g/planta), caule (BSC, g/planta), raízes (BSR, g/planta), e total da planta (BST, g/planta)

Cada órgão da planta foi pesado separadamente, em recipientes plásticos. A separação das folhas e dos caules foi realizada manualmente, tendo-se o cuidado de verificar elementos que pudessem interferir no resultado. O valor da biomassa total da parte aérea foi estimado a partir da soma do peso das folhas e do caule.

3.4 Obtenção do óleo essencial

A produção de óleo essencial foi determinada quanto ao teor (%), rendimento e produtividade de óleo essencial (mg planta^{-1}). Para isso, as folhas de cada tratamento foram reunidas, formando uma amostra composta homogênea.

A destilação foi realizada em balões volumétricos de 2L, contendo 15 g de folhas secas em 1L de água deionizada e submetidas a destilação por 90 minutos. Para a destilação do óleo, adotou-se o método de hidrodestilação, utilizando-se o aparelho de Clevenger modificado. A hidrodestilação foi realizada em triplicata. O óleo essencial foi purificado por partição líquido-líquido com diclorometano (CH_2Cl_2) ($3 \times 5 \text{ mL}$). A fase orgânica foi reunida e tratada com cerca de 5 g de sulfato de magnésio anidro durante 30 min. Após esse período a solução foi filtrada e o solvente evaporado a temperatura ambiente, sob capela de exaustão de gases. Posteriormente, o óleo essencial foi pipetado com o auxílio de uma micropipeta de Pasteur e acondicionado em um vidro âmbar sob refrigeração (Brasil, 2010). Estes frascos foram mantidos sob capela de exaustão de gases até a completa volatilização do CH_2Cl_2 . O peso dos frascos foi anotado antes e depois da pesagem para determinar a massa de óleo obtida.

Em seguida, determinou-se o teor (%), o rendimento (mg planta^{-1}), produtividade (kg/ha) do óleo essencial. O teor de cada amostra representa o peso do óleo (mg) em 100 mg de biomassa seca foliar. O rendimento foi calculado pela fórmula: rendimento = teor do óleo x BSF/100. Para o cálculo de produtividade considerou-se o espaçamento médio reportado pela literatura (20 x 60 cm), que corresponde a uma população de plantas de

83.333 plantas por hectare, ou seja, multiplicou-se o rendimento e a população de plantas por hectare.

3.5 Doseamento de timol

As análises da composição química foram realizadas por meio de uma amostra composta por alíquotas equivolúmetricas do óleo essencial das repetições de cada tratamento.

Para a análise quantitativa do timol, o óleo essencial foi analisado em sistema Agilent 5890A equipado com detector de ionização em chama (DIC), empregando coluna HP-5MS (30 cm de comprimento x 250 μm de diâmetro interno x 0,25 μm de espessura). Utilizou-se hélio como gás de arraste com fluxo de 1,0 mL min^{-1} . As temperaturas do injetor e do detector foram 220 e 250 $^{\circ}\text{C}$, respectivamente. A temperatura inicial do forno foi de 60 $^{\circ}\text{C}$, mantida por 1,5 min, seguida por uma rampa de temperatura de 3 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até 100 $^{\circ}\text{C}$, posteriormente, por uma rampa de temperatura de 4 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até 200 $^{\circ}\text{C}$ e por fim, por uma rampa de 10 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até 240 $^{\circ}\text{C}$. O óleo essencial foi diluído em acetato de etila (1%, v/v) e 1 μL foi injetado no modo *split* a uma razão de 30:1. As análises foram realizadas em triplicata e os resultados expressos pela média da porcentagem de área normalizada relativa dos picos cromatográficos \pm o desvio padrão.

As análises qualitativas foram realizadas em Cromatógrafo Agilent® 7890A acoplado a um detector seletivo de massas Agilent® MSD 5975C (Agilent Technologies, Califórnia, EUA), operado por ionização de impacto eletrônico a 70 eV, em modo varredura, a uma velocidade de 1,0 scan/s, com intervalo de aquisição de massas de 40-400 m/z. As condições operacionais foram as mesmas empregadas nas análises por CG-DIC.

O timol foi identificado por comparação com seu padrão autêntico (Sigma-Aldrich, pureza declarada $\geq 99,5\%$) e de seus índices de retenção calculados (Van der Dool e Kratz, 1963) com dados de espectros de massas e índices de retenção de literaturas (DAVIES, 1990; ADAMS, 2007) e por comparação dos espectros de massas do banco de dados da biblioteca NIST/EPA/NHI (NIST, 2008) e de literatura (ADAMS, 2007).

Para as análises quantitativas de timol, empregou-se o método do padrão externo. Para determinação da faixa de concentração das curvas analíticas foram feitas estimativas com base nas áreas do pico de timol das amostras de uma solução de referência com concentração conhecida. Cada ponto das curvas analíticas foi obtido pela injeção, em triplicata, de diferentes alíquotas da solução de referência, na faixa de 0,8 a 2,0 μL , como indicado na tabela 2. As curvas de calibração foram determinadas em relação a massa injetada de timol, em dois dias consecutivos.

Os dados obtidos para cada curva analítica de timol foram submetidos a análise de regressão linear pelo método dos mínimos quadrados e os coeficientes de determinação (r^2) foram calculados. As curvas obtidas nos dois dias consecutivos foram comparadas estatisticamente por análise de covariância ($p < 0,05$).

A análise de covariância é usada para comparar duas ou mais retas de regressão, testando o efeito de um fator (variável categórica) em uma variável dependente (y), enquanto controla o efeito de uma covariável contínua (x).

A partir da curva analítica média determinou-se a produção de timol ($\mu\text{g/mL}$ de óleo), o rendimento ($\mu\text{g planta}^{-1}$) e a produtividade (g ha^{-1}) de timol. O rendimento foi determinado multiplicando-se a produção de timol e a massa de óleo produzido por planta. Para o cálculo de produtividade considerou-se o espaçamento médio reportado pela literatura (20 x 60 cm), que corresponde a uma população de plantas de 83.333 plantas por hectare, ou seja, multiplicou-se o rendimento e a população de plantas por hectare.

Timol				
Volume injetado (μL)	Massa injetada (μg)	Área média estimada	Área média experimental dia 1	Área média experimental dia 2
Solução de referência 5,0 $\mu\text{g/mL}$				
2,0	10	439902920	437225400	438535283
1,6	8	351922336	359286370	362467865
1,2	6	263941752	273456692	275921807
0,8	4	175961168	185007035	185829714
Solução de referência 2,5 $\mu\text{g/mL}$				
0,8	2	87980584	95316288	88899403

Tabela 2 – Massa injetada, área estimada e área média experimental ($\eta = 3$) das curvas analíticas, de timol, nos dois dias de análise.

3.6 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) com cinco tratamentos, sendo controle (sem esterco), esterco bovino, esterco caprino, esterco codorna e mix (bovino + caprino + codorna) com quatro repetições e dez plantas por repetição, totalizando 200 plantas. Adotou-se duas plantas por vaso. Os dados obtidos foram, primeiramente, avaliados quanto à sua homogeneidade e normalidade, sendo em seguida submetido ao teste de Tukey, a 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas no programa estatístico SISVAR 5.3 (Ferreira, 2011).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Produção vegetal

De modo geral, os resultados mostraram que o cultivo de tomilho com diferentes fontes de esterco culminou em alterações positivas sobre os parâmetros fitotécnicos (tabela 3).

Tratamentos	Raiz (g)	Folha (g)	Caule (g)	Total (R+F+C) (g)
Controle	4,37 c	2,17 d	2,54 d	9,10 d
Caprino	9,46 b	6,06 c	7,01 c	22,54 c
Bovino	12,92 b	9,59 b	11,22 b	33,73 b
Mix	17,92 a	10,77 ab	13,09 a	41,78 a
Codorna	18,17 a	11,59 a	14,56 a	44,33 a

Tabela 3 – Produção vegetal de *T. vulgaris*. Letras iguais significam que não há diferença significativa entre os tratamentos utilizando o teste Tukey a 95% de confiabilidade.

Em relação a biomassa da raiz, o esterco de codorna e o mix apresentaram um maior incremento das raízes, sendo estatisticamente iguais. Comparado ao controle houve um aumento de 4,8 e 4,5 vezes da biomassa de raiz para codorna e mix, respectivamente, O esterco bovino foi superior estatisticamente em relação aos tratamentos caprino e controle, fornecendo um incremento percentual de 370% na biomassa da raiz comparado ao controle.

A biomassa de folhas aumentou significativamente nos tratamentos codorna e mix, apresentando um incremento percentual de 434% e 396%, respectivamente, sendo estes estatisticamente iguais. Porém, o tratamento mix não diferiu estatisticamente do tratamento bovino, que indicou um ganho de 4,5 vezes mais biomassa.

Os tratamentos codorna e mix, comparados ao controle, apresentaram um aumento na biomassa do caule onde forneceram 12 g e 10,5 g de ganho de biomassa, respectivamente. No que se diz respeito ao tratamento bovino, este apresentou um aumento de 8,6 g na biomassa, mostrando-se significativamente superior que os tratamentos caprino e controle.

A biomassa total aumentou significativamente com o cultivo em codorna e mix, sendo estes estatisticamente diferente dos tratamentos bovino, caprino e controle. Comparado ao controle, codorna e mix tiveram incrementos percentuais de 387% e 359% respectivamente. Para este mesmo parâmetro, observou-se que o esterco bovino se mostrou superior estatisticamente ao esterco caprino e ao controle, trazendo um ganho de 11,2 e 24,6 g por planta, respectivamente.

De modo geral, é possível observar que a adubação orgânica com as diferentes fontes de esterco proporcionou um ganho significativo de biomassa, tanto da parte aérea quanto da raiz, devido a adição da matéria orgânica pois esta altera as características químicas, físicas e biológicas do substrato e gera um benefício no crescimento das plantas.

Araújo et al., 2009, utilizaram uma mistura de Plantmax + esterco caprino para o desenvolvimento de mudas de mamoeiro, e obtiveram um incremento na altura das mudas, no diâmetro do colo, número de folhas e biomassa seca da parte aérea e raiz.

Os bons resultados provenientes da fonte codorna provavelmente foram proporcionados pelo maior incremento na quantidade de nutrientes proporcionados por esse tratamento, tendo como base superioridade nas concentrações de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre e zinco, com 25; 41; 37; 124; 6; 4 g/Kg e 377 mg/Kg respectivamente. Shahein et al., 2015, concluíram que os esterco provenientes de aves fornecem altas taxas de nitrogênio, uma vez que, em seu experimento, utilizando esterco de galinha, resultou em um aumento da quantidade de proteína C e de sólidos solúveis totais em duas espécies de pimentão.

O esterco bovino também teve um bom desempenho na produção de biomassa, talvez devido aos bons valores de micronutrientes presentes no esterco, como ferro, cobre, manganês e boro, com 33811; 57; 920 e 140 mg/Kg respectivamente. Além disso, a relação C/N é menor (28) em relação ao esterco caprino (32), o que fornece uma maior disponibilidade de nutrientes.

O tratamento mix trouxe um balanço nutricional no que se refere as fontes de esterco utilizada, ou seja, a quantidade de nutrientes foi provavelmente equiparada, diminuindo ou aumentando os níveis presentes. Desta forma, pode-se atrelar o desempenho semelhante do mix com os tratamentos codorna e bovino. Neste primeiro momento, o mix apresentou resultados inferiores ao tratamento codorna, porém, a longo prazo, pode se mostrar a melhor alternativa para o ganho de matéria seca.

O elemento ferro tem um importante papel como componente de enzimas envolvidas na transferência de elétrons (reações redox), como citocromos. Nesse papel, ele é reversivelmente oxidado de Fe^{2+} a Fe^{3+} durante a transferência de elétrons (Taiz & Zeiger 2017). Na fotossíntese, as moléculas de clorofila absorvem a luz solar e perdem seus elétrons, ocorrendo a quebra da água e o hidrogênio fornece seus elétrons para os pigmentos da planta. Desta maneira, infere-se que o ferro é benéfico para aumentar a sensibilidade das plantas aos estímulos luminosos, uma vez que as reações redox estão envolvidas na respiração celular e fotossíntese.

Os íons manganês (Mn^{2+}) ativam várias enzimas nas células vegetais. Em particular, as descarboxilases e as desidrogenases envolvidas no ciclo do ácido cítrico

(ciclo de Krebs) são especificamente ativadas pelo manganês. A função mais bem definida do Mn^{2+} está na reação fotossintética mediante a qual o oxigênio (O_2) é produzido a partir da água (Taiz & Zeiger 2017). Está presente também no desenvolvimento das raízes, o que promove uma maior absorção de nutrientes pela planta, e possui uma função ativadora de enzimas necessárias para a produção de metabólitos pelo vegetal.

Muitas enzimas requerem íons zinco (Zn^{2+}) para suas atividades, e o zinco pode ser exigido para a biossíntese da clorofila em algumas plantas (Taiz & Zeiger 2017). Atua como um co-fator enzimático, regulando e estabilizando a estrutura proteica. Além disso, está relacionado a síntese de auxinas, hormônios responsáveis pelo crescimento da planta.

Além disso, a relação C/N é um indicador importante da decomposição da matéria orgânica do solo, dando informação sobre o estado de humificação. Na decomposição da matéria orgânica dos solos a relação C:N é muito importante para a determinação da competição entre os nutrientes essenciais para a atividade dos microrganismos do solo (Luchese et al. 2002). Segundo Giacomini (2003), o valor ideal seria entre 20 e 25, onde ocorre um equilíbrio entre os processos de mineralização e imobilização. O tratamento mix apresentou uma relação C/N de 23 (tabela 1), ou seja, provavelmente seus bons resultados estão atrelados a assimilação dos nutrientes proporcionados pelo tratamento.

4.2 Produção do óleo essencial e timol

Os resultados de óleo essencial mostraram que o cultivo com diferentes fontes de esterco implicou em alterações positivas sobre os parâmetros de produção do óleo essencial (tabela 4).

Tratamentos	Teor (%)	Rendimento (g/planta)	Produtividade (kg/ha)
Controle	0,87 c	0,0095 c	0,7932 c
Caprino	1,14 ab	0,0348 b	2,9027 b
Bovino	1,21 a	0,0580 a	4,8406 a
Mix	0,96 c	0,052 a	4,3405 a
Codorna	1,02 c	0,0593 a	4,9482 a

Tabela 4 – Parâmetros do óleo essencial de *T. vulgaris*. Letras semelhantes significam que não há diferença significativa entre os tratamentos utilizando o teste Tukey a 95% de confiabilidade.

Houve alterações significativas no teor do óleo essencial em relação as fontes comparadas ao tratamento controle. O tratamento com esterco bovino foi

significativamente superior aos demais tratamentos, gerando um aumento percentual de 139%. Este, por sua vez, não se diferencia dos tratamentos caprino e codorna pelo teste Tukey, que forneceram um aumento de 1,3 e 1,17 vezes no teor do óleo essencial, respectivamente. Porém, os tratamentos caprino, codorna e mix não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre si.

No que se diz respeito ao rendimento e a produtividade, os tratamentos com as fontes codorna, bovino e mix trouxeram um incremento percentual de 524%, 510% e 477% respectivamente para rendimento e 523%, 510% e 447% respectivamente para produtividade, em relação ao controle. Estes tratamentos foram estatisticamente iguais entre si. O esterco caprino foi significativamente superior apenas ao controle, fornecendo um aumento de 3,7 vezes no rendimento e produtividade do óleo essencial.

O preço de mercado, no momento da realização deste trabalho, aproximado dos esterco de bovino, caprino e codorna é de 4,90; 3,70 e 12,90 reais o quilo. O alto custo do esterco de codorna se deve ao fato de ser um esterco de difícil obtenção, pois fazendas de codornas destinadas a produção de esterco não são comuns, quando comparadas as fazendas de bovinos e caprinos, além da produção ser limitada devido ao pequeno porte dos animais, apesar de ser uma excelente fonte de nutrientes, sendo considerado como um dos adubos mais fortes. Dito isso, o esterco caprino apresenta um melhor custo benefício, porém não apresenta a mesma disponibilidade de nutrientes quando comparada ao esterco bovino, que é mais comumente utilizado. Desta forma, devido o esterco mix ter apresentado um desempenho semelhante em relação ao esterco caprino, bovino e de codorna, recomenda-se a utilização do mix para um aumento no rendimento e produtividade caso o produtor possua em sua propriedade alguma quantidade destes esterco.

Observa-se que a adubação orgânica com as diferentes fontes de esterco propiciou um aumento tanto no teor como no rendimento e produtividade do óleo essencial. O maior teor de óleo essencial foi observado no tratamento com esterco bovino, provavelmente devido as altas concentrações de ferro, manganês e zinco, observados em sua composição química que diverge significativamente dos demais esterco.

Um estudo conduzido por Paulus et al. (2008), utilizando plantas de menta japonesa (*Mentha arvensis*) em cultivo hidropônico com diferentes concentrações de uma solução nutritiva, apresentaram diferentes teores de mentol e mentona, um dos principais

constituintes do óleo essencial. Isto demonstra que estes compostos são diretamente influenciados pela nutrição mineral. Segundo Morais (2009), o aumento no teor pode estar relacionado com a quantidade de nutrientes disponíveis, uma vez que estes são utilizados nas rotas metabólicas para a obtenção dos compostos metabólicos secundários.

O tratamento mix apresentou um bom desempenho em relação as outras fontes, pois, estatisticamente, ele não se difere dos melhores tratamentos, apresentando médias semelhantes. Dito isso, sugere-se que a disponibilidade de nutrientes presentes no mix se equilibraram em relação as outras fontes, devido aos resultados estatisticamente iguais. Tendo isso em vista, o tratamento mix pode ser uma fonte alternativa de nutrientes caso não haja disponibilidade suficiente de outros esterco.

Os resultados apresentados a seguir (tabela 5) mostraram que o cultivo com diferentes fontes de esterco gerou alterações positivas sobre a produção de timol presente no óleo essencial.

Tratamentos	Timol ($\mu\text{g/mL}$)	Rendimento ($\mu\text{g/planta}$)	Produtividade (g/ha)
Controle	6,41 b	0,0657 c	5,4807 c
Caprino	6,92 a	0,2599 b	21,6593 b
Bovino	6,15 c	0,3847 a	32,0653 a
Mix	6,79 a	0,3816 a	31,8029 a
Codorna	6,43 b	0,4114 a	34,2904 a

Tabela 5 – Parâmetros do timol presente no óleo essencial de *T. vulgaris*. Letras semelhantes significam que não há diferença significativa entre os tratamentos utilizando o teste Tukey a 95% de confiabilidade.

As duas curvas analíticas construídas indicaram relação linear entre a massa injetada de timol (μg) versus área do pico correspondente, sendo obtidos coeficientes de determinação (r^2) com valores superiores a 0,9979 (figura 2).

As curvas analíticas de timol obtidas em dias consecutivos foram estatisticamente equivalentes ($p > 0,05$). Portanto, dentro das faixas de concentração estudadas do marcador químico timol, o método apresentou linearidade adequada e pode ser utilizada para estimativa da produção de timol com base na área dos picos correspondentes.

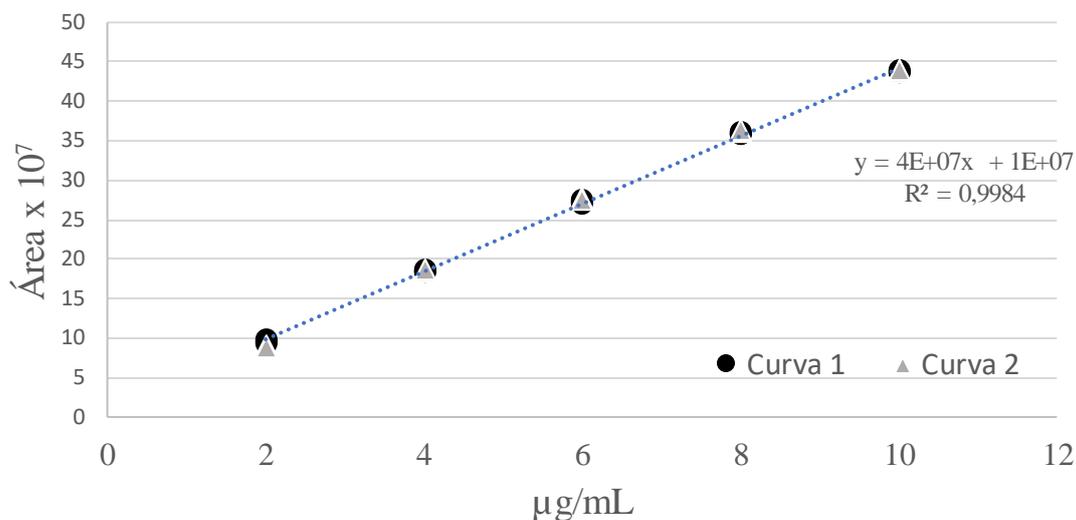


Figura 2 – Média das curvas analíticas obtidas por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjos de diodos, em dois dias consecutivos (curva 1 = dia 1; curva 2 = dia 2) para o timol.

A quantidade de timol presente no óleo apresentou resultados significativos nos tratamentos caprino e mix, gerando um incremento na quantidade de timol de 0,5 e 0,4 µg/mL, respectivamente, porém estatisticamente iguais entre si. Os tratamentos codorna e controle apresentaram quantidades maiores de timol em relação ao bovino, com um aumento percentual de 10% e 4% mais timol, sendo estes estatisticamente iguais. O esterco bovino apresentou o maior teor de óleo, mas a quantidade de timol presente em sua composição foi baixa, sendo estatisticamente inferior que os demais tratamentos, apresentando uma queda de -5% na quantidade de timol presente.

O rendimento e produtividade de timol foi alterado significativamente nos tratamentos codorna, bovino e mix, sendo estes estatisticamente iguais em relação ao controle, trazendo um aumento de 6,8, 6,4 e 6,3 vezes no rendimento e 6,3, 5,9 e 5,8 vezes na produtividade.

Observa-se que a adubação orgânica com as diferentes fontes de esterco propiciou um aumento tanto na quantidade como no rendimento e produtividade do timol presente no óleo essencial. O esterco mix apresentou um dos melhores resultados, possivelmente pela sua disponibilidade de nutrientes essenciais para o metabolismo da planta. O

tratamento caprino apresentou resultados semelhantes, o que pode ser um indicativo de que os perfis químicos foram equilibrados.

O tratamento mix proporcionou um aumento de 5,8 vezes na quantidade de timol presente no óleo essencial em relação ao controle. Este aumento é importante para a produtividade, pois havendo um valor mais alto, podemos conseguir quantidades maiores de timol por planta. Dessa forma, recomenda-se a utilização do mix de esterco para uma otimização na quantidade de timol presente na planta.

Estudos tem demonstrado a resposta positiva da cultura de *Thymus vulgaris* à adubação orgânica com esterco, entretanto, não foi encontrado na literatura as respostas de crescimento, produção e composição química de óleo essencial dessa planta fertilizada com a mistura de diferentes fontes esterco. Os resultados apresentados reforçam que o tratamento mix pode-se tornar uma fonte alternativa de nutrientes, uma vez que esta apresentou resultados estatisticamente iguais com os melhores tratamentos. Desta forma, recomenda-se a utilização do mix de esterco caso o produtor possua diferentes fontes de esterco.

5. CONCLUSÃO

Houve um incremento significativo nas plantas de *Thymus vulgaris* em todos os parâmetros analisados utilizando a adubação orgânica oriunda de diferentes fontes animais. Os resultados apresentados reforçam que o mix de esterco pode-se tornar uma fonte alternativa de nutrientes, uma vez que este apresentou resultados estatisticamente iguais com os melhores tratamentos. Recomenda-se a utilização do mix de esterco caso o produtor possua diferentes fontes de esterco em sua propriedade.

6. REFERÊNCIAS

- Abou El-Magd, M. M., El-Bassiony, A. M., & Fawzy, Z. F. (2006). **Effect of organic manure with or without chemical fertilizers on growth, yield and quality of some varieties of broccoli plants.** *J. Appl. Sci. Res*, 2(10), 791-798.
- Acevedo, A. M., Castañeda, M. L., Blanco, K. M., Cardenas, C. Y., Reyes, J. A., Kouznetsov, V. V., & Stashenko, E. E. (2007). **Composición y capacidad antioxidante de especies aromáticas y medicinales con alto contenido de timol y carvacrol.** *Scientia et Technica*, 13(33), 125-128.
- Adams, R. P. (2007). *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry* (Vol. 456). Carol Stream, IL: Allured publishing corporation.
- Aeschbach, R., Löliger, J., Scott, B. C., Murcia, A., Butler, J., Halliwell, B., & Aruoma, O. I. (1994). **Antioxidant actions of thymol, carvacrol, 6-gingerol, zingerone and hydroxytyrosol.** *Food and Chemical Toxicology*, 32(1), 31–36.
- Alves, F. S. F., & Pinheiro, R. R. (2007). **O esterco caprino e ovino como fonte de renda.** *Embrapa Caprinos e Ovinos-Artigo de divulgação na mídia (INFOTECA-E)*.
- de Araújo, W. B. M., Alencar, R. D., Mendonça, V., de Medeiros, E. V., de Carvalho Andrade, R., & de Araújo, R. R. (2010). **Esterco caprino na composição de substratos para formação de mudas de mamoeiro.**
- Askary, M., Behdani, M. A., Parsa, S., Mahmoodi, S., & Jamialahmadi, M. (2018). **Water stress and manure application affect the quantity and quality of essential oil of *Thymus daenensis* and *Thymus vulgaris*.** *Industrial crops and products*, 111, 336-344.
- Baranauskienė, R., Venskutonis, P. R., Viškelis, P., & Dambrauskienė, E. (2003). **Influence of nitrogen fertilizers on the yield and composition of thyme (*Thymus vulgaris*).** *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 51(26), 7751-7758.
- Bertolucci, S. K. V., Pereira, A. B. D., Pinto, J. E. B. P., de Aquino Ribeiro, J. A., de Oliveira, A. B., & Braga, F. C. (2009). **Development and validation of an RP-HPLC method for quantification of cinnamic acid derivatives and kaurane-type diterpenes in *Mikania laevigata* and *Mikania glomerata*.** *Planta medica*, 75(03), 280-285

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Farmacopeia Brasileira**, Brasília, 5th ed.; n. 1, p. 198-199, 2010.

Carmo, D. L. do, Lima, L. B. de, & Silva, C. A. (2016). **Soil Fertility and Electrical Conductivity Affected by Organic Waste Rates and Nutrient Inputs**. *Revista Brasileira de Ciência Do Solo*, 40(0).

Carvalho, P. G. (2005). **Efeitos do nitrogênio no crescimento e no metabolismo de frutanos em Vernonia herbacea (VELL.) RUSBY**. Tese de mestrado em Ciências, Área de concentração Fisiologia e Bioquímica de Plantas pela Univerdade de São Paulo.

D'andrea, A. F., Silva, M. L. N., Curi, N., Siqueira, J. O., & Carneiro, M. A. C. (2002). **Atributos biológicos indicadores da qualidade do solo em sistemas de manejo na região do cerrado no sul do estado de Goiás**. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 26(4), 913-923.

Dauqan, E. M., & Abdullah, A. (2017). **Medicinal and functional values of thyme (Thymus vulgaris L.) herb**. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 5(02), 017-22.

Diacono, M., & Montemurro, F. (2010). **Long-term effects of organic amendments on soil fertility**. A review. *Agron Sustain Dev* 30: 401–422.

Dias, B. O., Silva, C. A., Higashikawa, F. S., Roig, A., & Sánchez-Monedero, M. A. (2010). **Use of biochar as bulking agent for the composting of poultry manure: effect on organic matter degradation and humification**. *Bioresource technology*, 101(4), 1239-1246.

Didry, N., Dubreuil, L., & Pinkas, M. (1994). **Activity of thymol, carvacrol, cinnamaldehyde and eugenol on oral bacteria**. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, 69(1), 25–28.

Donegá, M. A., Ferezini, G., Mello, S. D. C., Minami, K., & Silva, S. R. (2014). **Recipientes e substratos na produção de mudas e no cultivo hidropônico de tomilho (Thymus vulgaris L.)**. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s, 16(2), 271-274.

Evans, J. D., & Martin, S. A. (2000). **Effects of Thymol on Ruminant Microorganisms**. *Current Microbiology*, 41(5), 336–340. doi:10.1007/s002840010145

- Ferreira, D. F. (2011). **Sisvar: a computer statistical analysis system.** *Ciência e agrotecnologia*, 35(6), 1039-1042.
- Garlet, T. M. B., & Santos, O. S. dos. (2008). **Solução nutritiva e composição mineral de três espécies de menta cultivadas no sistema hidropônico.** *Ciência Rural*, 38(5), 1233–1239.
- Giacomini, S. J.; Aita, C.; Vendruscolo, E. R. O.; Cubilla, M.; Nicoloso, R. S.; Fries, M. R. **Matéria seca, relação C/N e acúmulo de nitrogênio, fósforo e potássio em misturas de plantas de cobertura de solo.** *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, vol. 27, núm. 2, abril, 2003, pp. 325-334 Sociedade Brasileira de Ciência do Solo Viçosa, Brasil
- Guarda, A., Rubilar, J. F., Miltz, J., & Galotto, M. J. (2011). **The antimicrobial activity of microencapsulated thymol and carvacrol.** *International Journal of Food Microbiology*, 146(2), 144–150.
- Hargreaves, J. C., Adl, M. S., & Warman, P. R. (2008). **A review of the use of composted municipal solid waste in agriculture.** *Agriculture, ecosystems & environment*, 123(1-3), 1-14.
- Hendawy, S. F., Ezz El-Din, A. A., Aziz, E. E., & Omer, E. A. (2010). **Productivity and oil quality of *Thymus vulgaris* L. under organic fertilization conditions.** *Ozean J. Appl. Sci*, 3(2), 203-216.
- Henriques, R. (1997). **Análise da fixação de nitrogênio por bactérias do gênero *Rhizobium* em diferentes concentrações de fósforo e de matéria orgânica na cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris*) em Regossolo.** *Areia: UFPB*, 1997. 37p.
- Hina J, Shazia E, Sobia T, Farhana A. **An overview on medicinal importance of thymus vulgaris.** *Journal of Asian Scientific Research*. 2013; 3(10):974-982
- Hosseinzadeh, S., Jafarikukhdan, A., Hosseini, A., & Armand, R. (2015). **The application of medicinal plants in traditional and modern medicine: a review of *Thymus vulgaris*.** *International Journal of Clinical Medicine*, 6(09), 635.
- Jamali, C. A., Kasrati, A., Bekkouche, K., Hassani, L., Wohlmuth, H., Leach, D., & Abbad, A. (2014). **Cultivation and the application of inorganic fertilizer modifies essential oil composition in two Moroccan species of *Thymus*.** *Industrial Crops and Products*, 62, 113-118.

Juarez Rosete, C. R., Aguilar Castillo, J. A., & Mendoza, R. (2014). **Fertilizer source in biomass production and quality of essential oils of thyme (*Thymus vulgaris* L.)**.

Taiz, L., Zeiger, E. (2017). **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. Editora Artmed, 6ª edição, 127-128.

Lobo, V., Cipriano, F.T., Rosa, M.F. (2014). **Análise do comportamento fotoquímico do óleo essencial de tomilho (*Thymus Vulgaris*) em solventes de diferentes polaridades**. Resumo apresentado no Congresso Brasileiro de Química.

Lotter, D. W. (2003). **Organic agriculture**. *Journal of sustainable agriculture*, 21(4), 59-128.

MacLagan, N. F. (1944). **Thymol Turbidity Test: a New Indicator of Liver Dysfunction**. *Nature*, 154(3917), 670-671.

McNaught, A. D., & McNaught, A. D. (1997). *Compendium of chemical terminology* (Vol. 1669). Oxford: Blackwell Science

Monira, A., El, K. A., & Naima, Z. (2012). **Evaluation of protective and antioxidant activity of thyme (*Thymus vulgaris*) extract on paracetamol-induced toxicity in rats**. *Australian journal of basic and applied sciences*, 6(7), 467-474.

Moraes, A. R. A., Filho, L. F. F. M., Gomes, M. S., Gomes, M. F., Miranda, L. S., Segtowich, A. C., (2015). **Teores de Carbono, Nitrogênio e Relação C:N em solos cultivados com soja em sistema plantio direto e convencional em Paragominas, Pará**. Resumo apresentado no Congresso Brasileiro de Ciência do Solo.

De Moraes, L. A. S. (2009). **Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais**. In: Embrapa Meio Ambiente-Artigo em anais de congresso (ALICE). Horticultura Brasileira, Brasília, DF, v. 27, n. 2, p. S3299-S3302, ago. 2009. CD-ROM. Suplemento. Trabalho apresentado no 49. Congresso Brasileiro de Olericultura, Águas de Lindóia, SP., 2009.

de Oliveira, V. C., dos Santos, A. R., de Souza, G. S., & dos Santos, R. M. (2017). **Respostas fisiológicas de plantas de orégano (*Origanum vulgare* L.) cultivadas sob malhas coloridas e fertilizantes orgânicos**. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 11(2), 400-407.

- Paulus, D., Medeiros, S. L., Santos, O. S., & Paulus, E. (2008). **Solução nutritiva para produção de menta em hidroponia.** *Horticultura Brasileira*, 26(01), 61-67.
- Raij, B. (1996). **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo.** Campinas: IAC.
- Rosen, C. J., & Allan, D. L. (2007). **Exploring the benefits of organic nutrient sources for crop production and soil quality.** *HortTechnology*, 17(4), 422-430.
- Sampaio, E. V., de Sá, B., De Oliveira, N. M. B., Do Nascimento, P. R. F. (2007). **Eficiência da adubação orgânica com esterco bovino e com Egeria densa.** *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 31, n. 5, p. 995-1002, 2007.
- Santos, T. A. F. 2014. **Extração, caracterização e aplicações do óleo essencial do cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*).** Monografia pela Universidade de Pindamonhangaba. Biblioteca virtual FUNVIC, acessado em 10 de novembro de 2019.
- Shahein, M. M., El Sayed, S. F., Hassan, H. A., & Abou-El-Hassan, S. (2015). **Producing Sweet Pepper Organically Using Different Sources of Organic Fertilizers under Plastic House Conditions.** In *Proceedings of International Conference on Advances in Agricultural, Biological and Environmental Sciences (AABES-2015)* (pp. 72-8).
- Skubij, N., & Dzida, K. (2016). **Effect of natural fertilization and the type of substrate on the biological value of the thyme herb (*Thymus vulgaris* L.).** *Acta Scientiarum Polonorum-Hortorum Cultus*, 15(6), 291-304.
- Sobral et al. (2015). **Guia Prático para Interpretação de Resultados de Análises de Solo.** Documentos Embrapa, nº 206.
- Tappin, M. R., Pereira, J. F., Lima, L. A., Siani, A. C., Mazzei, J. L., & Ramos, M. F. (2004). **Análise química quantitativa para a padronização do óleo de copaíba por cromatografia em fase gasosa de alta resolução.** *Química Nova*, 27(2), 236-240.
- Xu, J., Zhou, F., Ji, B. P., Pei, R. S., & Xu, N. (2008). **The antibacterial mechanism of carvacrol and thymol against *Escherichia coli*.** *Letters in applied microbiology*, 47(3), 174-179.