

EFEITO DE DIFERENTES MISTURAS DE SUBSTRATOS ORGÂNICOS NA BIOMASSA E NO ÓLEO ESSENCIAL DE *Thymus zygis*

EFFECT OF DIFFERENT MIXTURES OF ORGANIC SUBSTRATES ON THE BIOMASS AND ESSENTIAL OIL OF *Thymus zygis*

Nelson Lourenço¹, Susana A. Dandlen¹, Maria G. Miguel², Ana Figueiredo³, José Barroso³, Luis Pedro³, Luísa Coelho¹, Mário Reis⁴ e Pedro J. Correia⁴

RESUMO

Neste ensaio avaliou-se o efeito de diferentes misturas de substrato comercial e vermicomposto na produção de biomassa, composição química e rendimento dos óleos essenciais de *Thymus zygis*. Utilizaram-se 5 substratos resultantes da mistura de um vermicomposto (V) com um substrato orgânico comercial (O), em cinco proporções diferentes (v/v): V100 (100%V); VO75-25 (75%V+25%O); VO50-50 (50%V+50%O); VO 25-75 (25%V + 75%O) e O100 (100%O).

A inclusão do vermicomposto no substrato não melhorou a produção de biomassa. Na modalidade O100 produziu-se mais biomassa, tendo sido na modalidade VO25-75 onde se obteve o valor mais baixo. Na modalidade V100 todas as plantas secaram tendo-se ainda apresentado nesta modalidade o valor

mais elevado de pH e de densidade real e inversamente o menor valor de espaço poroso total.

Os monoterpenos oxigenados predominaram nos óleos extraídos das plantas nas modalidades O100 e VO25-75, contrariamente ao que se verificou para os monoterpenos não oxigenados tendo estes predominado nas modalidades VO75-25 e VO50-50. A concentração de timol foi elevada nas misturas testadas, em particular na modalidade VO25-75.

Palavras-chave: Óleo essencial, timol, *Thymus zygis*, vermicomposto..

ABSTRACT

In this trial we evaluated the effect of dif-

¹ Universidade do Algarve, FCT, Edifício 8, Campus de Gambelas, 8005-139 Faro.; ²Centro de Biotecnologia Vegetal, IBB, Universidade do Algarve, FCT - DQF, Edifício 8, Campus de Gambelas, 8005-139; ³ Universidade de Lisboa, Faculdade de Ciências de Lisboa, DBV, IBB, Centro de Biotecnologia Vegetal, C2, Campo Grande, 1749-016 Lisboa; ⁴ ICAAM, Universidade do Algarve, FCT, Edifício 8, Campus de Gambelas, 8005-139 Faro

ferent mixtures of organic growing media substratum and vermicompost and their physical properties on biomass, chemical composition and yield of essential oils of *Thymus zygis*. Five treatments were established based on two types of organic materials (O, commercial growing media, and V, vermicompost). The following proportions were studied (v/v): V100 (100%V); VO75-25 (75%V+25%O); VO50-50 (50%V+50%O); VO 25-75 (25%V+75%O) and O100 (100%O).

The inclusion of vermicompost did not improve biomass production. The treatment O100 produced more biomass and the lowest was obtained in VO25-75. On V100 treatment all plants were dead and also have showed the highest pH and particle density and conversely presented the lowest value of total pore space.

Oxygenated monoterpenes predominated in the oils extracted from plants in O100 and VO25-75, contrary to what was found for non-oxygenated monoterpenes having these prevailed in VO75-25 and VO50-50. The concentration of thymol was high in the mixtures tested, particularly in VO25-75.

Key-words: Essential oil, thymol, *Thymus zygis*, vermicompost.

INTRODUÇÃO

O género *Thymus* é um género bastante complexo, tanto química como morfologicamente. A variabilidade química dos seus óleos essenciais pode ser determinada geneticamente, e estará relacionada com a diversidade das condições ambientais (humidade, amplitude térmica e tipo de solo), idade e desenvolvimento da biomassa, variação sazonal e práticas agronómicas em geral (Morales, 2002; Sáez e Stahl-Biskup, 2002; Horwath *et al.*, 2008).

Tal como no género *Thymus*, a variabilidade química também é encontrada nos óleos da espécie *Thymus zygis* predominando o timol, carvacrol e *p*-cimeno (Sáez, 1995; Figueiredo *et al.*, 2008; Pérez-Sánchez *et al.*, 2008).

Os óleos essenciais destas plantas possuem elevada importância uma vez que têm sido utilizados na alimentação, cosmética, perfumaria e indústria farmacêutica (Moldão-Martins *et al.*, 1999). Alguns autores consideram que *T. zygis* representa a planta com mais valor no género *Thymus* sendo a elevada concentração em timol particularmente interessante (Pérez-Sánchez *et al.*, 2008).

Boas práticas de cultivo de *Thymus zygis* são necessárias para a obtenção de teores suficientes de biomassa e produção de óleos essenciais com rendimento e composição química adequados (Letchamo e Gosselin, 1995; Jeliázkova *et al.*, 1999). O efeito de diferentes níveis de água de rega nos teores de biomassa e óleos essenciais de *Thymus* já foi estudado por vários autores (Sotomayor *et al.*, 2004; Jordán *et al.*, 2009). Um dos aspectos mais importantes encontra-se relacionado com o substrato utilizado para o crescimento.

O termo substrato aplica-se a qualquer material sólido, natural, de síntese ou residual, mineral ou orgânico, que colocado num contentor, estreme ou em mistura, permite o desenvolvimento do sistema radicular, desempenhando um papel de suporte da planta (Abad *et al.*, 2004). Sempre que se pretenda utilizar substratos em estufa constituídos por determinados materiais é importante a avaliação das suas propriedades físicas (relacionadas com a retenção de água e o arejamento), químicas (relacionadas com a nutrição vegetal) e biológicas (relacionadas com a decomposição, fauna microbiana e estabilização dos materiais envolvidos) (Ribeiro *et al.*, 2001). Abad *et al.* (2004) definiram os valores óptimos de densidade real e espaço poroso total para substratos

como inferiores a $0,4 \text{ g cm}^{-3}$ e superiores a 85% em volume, respectivamente, e valores de pH compreendidos entre 5,2 e 6,3.

O vermicomposto é um produto que resulta da degradação mesofílica de materiais orgânicos por meio da interacção entre minhocas e microrganismos (Gopal *et al.*, 2009).

Dada a importância do óleo do tipo timol em *Thymus zygis*, pretendeu-se com o presente trabalho, avaliar o efeito de diferentes misturas de dois substratos orgânicos (substrato comercial e vermicomposto) e respectivas propriedades físicas no rendimento, na composição química dos óleos essenciais e na biomassa daquela espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio decorreu entre Fevereiro e Maio de 2009 no Horto do Campus de Gambelas na Universidade do Algarve.

Utilizaram-se 5 substratos resultantes da mistura, em diferentes proporções, de um vermicomposto produzido na Futuramb a partir da vermicompostagem da fracção orgânica dos resíduos sólidos urbanos, com um substrato orgânico comercial à base de turfa Gramoflor[®] adquirido na empresa Mesinagro.

Os 5 substratos em estudo corresponderam às seguintes proporções (v/v) de vermicomposto (V) e substrato comercial (O): V100 (100%V); VO75-25 (75%V+25%O); VO50-50 (50%V+50%); VO 25-75 (25%V+75%V) e O100 (100%O).

Sementes de *Thymus zygis* foram germinadas em placas de alvéolos, e após 10 semanas de crescimento procedeu-se ao seu transplante para vasos de 2 L de volume. Cada vaso foi regado manualmente e não foi aplicada adubação mineral. Os vasos foram colocados em bancada elevada num desenho experimental completamente casualizado, num total de 50

vasos com 10 repetições por modalidade.

Em cada modalidade determinaram-se os seguintes parâmetros: pH (H_2O), condutividade eléctrica (CE), água facilmente assimilável (AFA), água de reserva (AR), água dificilmente utilizável (ADU), espaço poroso total (EPT), densidade real (dr) e a % de matéria seca (Martinez, 1992). Setenta dias depois do transplante determinou-se a biomassa da parte aérea de todas as plantas individualmente e isolaram-se os óleos essenciais por hidrodestilação num aparelho tipo-Clevanger (Anónimo, 1995) e por cromatografia gás-líquido (Bentes *et al.*, 2009).

Para os vários parâmetros estudados a comparação entre modalidades foi avaliada com base numa análise de variância simples. A comparação das médias foi efectuada pelo teste de Duncan para um nível de significância de 95%. Toda a análise estatística foi efectuada com o programa SPSS v. 16.0.

RESULTADOS

A produção de biomassa da parte aérea da planta segundo as diferentes percentagens de vermicomposto encontra-se descrita na Figura 1 pela equação polinomial de 2.º grau $y = 0,0007x^2 - 0,15x + 8,61$; $R^2 = 0,432$. De acordo com a Figura 1, verifica-se que quanto maior a percentagem de vermicomposto nas modalidades, menor o valor em biomassa da parte aérea.

A modalidade V100 apresentou o valor mais elevado de pH e de densidade real, tendo apresentado inversamente o menor valor de espaço poroso total. Contrariamente, em O100 registou-se o valor mais baixo de pH e de densidade real e o mais elevado de espaço poroso total. Os valores em matéria seca foram mais elevados em V100 e mais baixos em O100. Quanto mais elevados os valores de densidade real menores os valores de biomassa apresentados (Quadro 1).

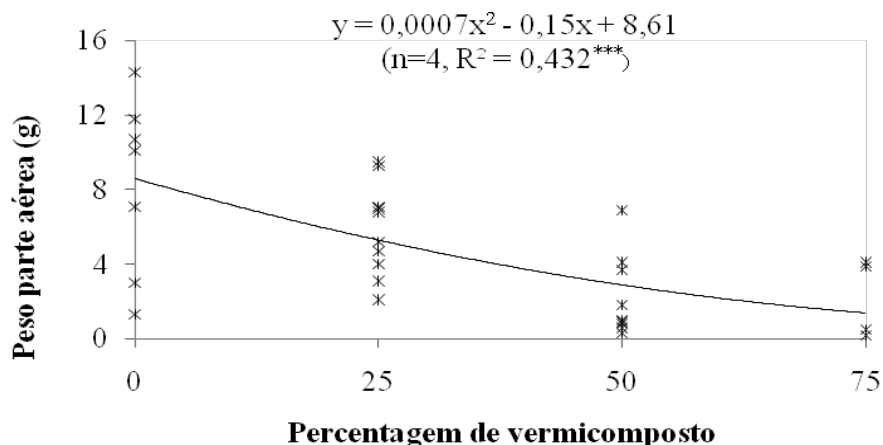


Figura 1 - Relação entre a porcentagem de vermicomposto e o peso da parte aérea. *** Significativo para $p < 0,001$.

A dependência da produção de biomassa em relação à densidade real encontra-se definida pela equação polinomial de 2.º grau $y = 0,977x^2 - 15,53x + 30,96$; $R^2 = 0,896$ (Figura 2). Esta equação e de acordo com o Quadro 1, permite concluir que quanto mais vermicomposto estiver presente na mistura, maior é a densidade real.

Os teores mais elevados dos monoterpenos

oxigenados foram devidos à percentagem mais elevada de timol, enquanto que os teores mais elevados dos monoterpenos não oxigenados se encontraram associados à percentagem particularmente mais elevada de *p*-cimeno, precursor do timol (Figura 3).

Os monoterpenos oxigenados predominaram nos óleos extraídos das plantas nas modalidades O100 e VO25-75, contrariamente

Quadro 1 – Valores médios das propriedades químicas e físicas para cada modalidade. Em cada linha, médias com a mesma letra não apresentam diferenças significativas a $p < 0,05$.

	Modalidade				
	V 100	VO 75-25	VO 50-50	VO 25-75	O 100
pH	7,2a	6,7b	6,6c	6,4d	6,1e
CE (dS m ⁻¹)	2,3b	2,5a	2,0c	1,6d	0,5e
dr (g cm ⁻³)	2,3a	2,1b	2,0c	1,9d	1,6e
MS (%)	61,5e	53,9d	47,9c	40,3b	30,0a
EPT (%)	73,7d	80,7c	86,5b	86,5b	92,8a
CA (%)	9,6bc	4,1d	17,0a	6,3cd	12,3ab
AFU (%)	20,0b	29,3b	29,0b	36,6a	27,8b
ADU (%)	44,5b	41,9b	35,3c	42,6b	49,6a
AR (%)	2,0c	5,4ab	5,3ab	6,0a	3,1bc

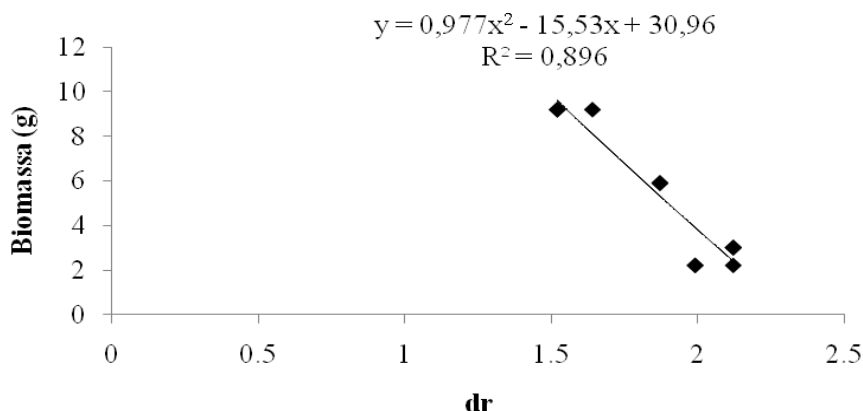


Figura 2 – Correlação entre os valores de densidade real e de biomassa no conjunto das modalidades.

ao que se verificou para os monoterpênos não oxigenados. As plantas que cresceram nas modalidades VO25-75 e O100, isto é, com ausência ou com reduzidas percentagens de vermicomposto, apresentaram as percentagens mais elevadas de monoterpênos oxigenados (timol) e, conseqüentemente, a menor percentagem de monoterpênos não oxigenados (γ -terpineno e *p*-cimeno) (Figura 4). O timol apresentou-se como o principal componente dos monoterpênos em todas as modalidades tendo a sua concentração variado entre 40,3 e 65,0 % nas plantas cultivadas em VO50-50 e VO25-75, respectivamente.

Em relação aos percussores do timol (*p*-cimeno e γ -terpineno), estes foram os restantes componentes em maior concentração nos óleos (12,6 e 18,2%) (Figura 3).

O rendimento em óleo essencial foi elevado em particular na modalidade VO25-75. Contudo, o rendimento obtido na modalidade VO 50-50 foi de apenas 0,2%, sendo metade do obtido nas modalidades VO25-75 e O100 (Figura 4).

Na modalidade V100 todas as plantas secaram, não se determinando por isso nem a biomassa nem directamente o rendimento em óleos.

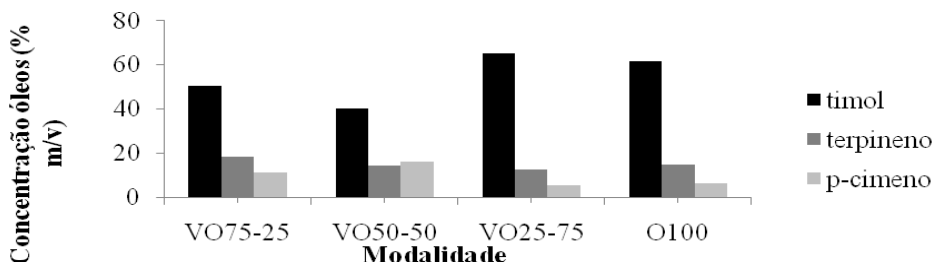


Figura 3 – Concentração (% m/v) de monoterpênos oxigenados e não oxigenados nas diferentes modalidades (VO 75-25: 75% vermicomposto + 25% turfa); VO 50-50: 50% vermicomposto + 50% turfa; VO 25-75: 25% vermicomposto + 75% turfa e O 100: 100% turfa).

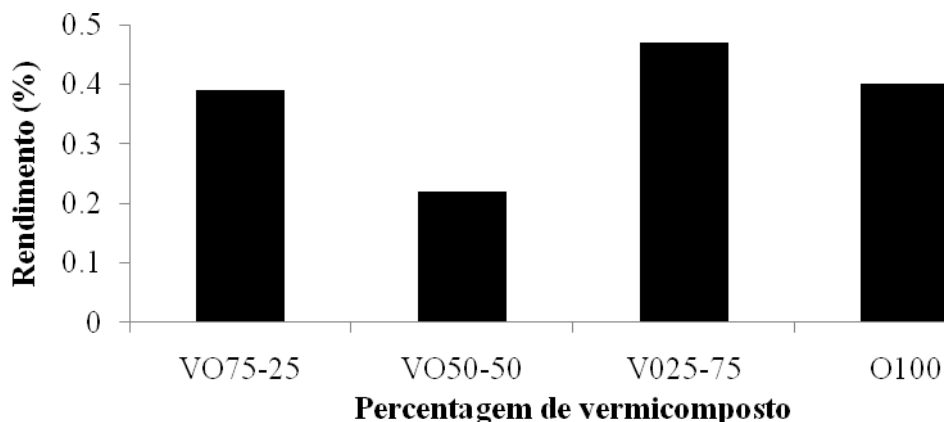


Figura 4 – Rendimento em óleo essencial das plantas nas diferentes modalidades (VO 75-25: 75% vermicomposto + 25% turfa); VO 50-50: 50% vermicomposto + 50% turfa; VO 25-75: 25% vermicomposto + 75% turfa e O 100: 100% turfa).

DISCUSSÃO

As diferentes proporções de substrato orgânico comercial e vermicomposto condicionaram a produção de biomassa bem como o rendimento dos óleos essenciais e o teor dos monoterpêneos. Algumas das propriedades físicas (espaço poroso total e densidade real) e químicas (pH) poderão ter influenciado a produção de biomassa da cultura e a utilização de vermicomposto influenciou negativamente a produção da cultura.

Os baixos valores de arejamento, indiretamente relacionado com a densidade real no substrato vermicomposto quando comparados com os estabelecidos por Abad *et al.*, (2004) para substratos, poderão ter inibido o crescimento da cultura nas modalidades V100 e VO75-25 (Figura 1). Comparando-se ainda os valores de espaço poroso total e pH com os definidos pelo mesmo autor, registaram-se valores inferiores para o espaço poroso total (73,7%) e superiores para o pH (7,2) ambos na modalidade V100 podendo também estes valores ter contribuído para a inibi-

ção do crescimento.

Em ensaios em tomate, Atiyeh *et al.*, (2001) obtiveram para um vermicomposto proveniente de estrume suíno (V), valores de pH de 5,68; 5,75; 5,83; 6, e condutividade eléctrica de 3,2; 2,4; 1,9 e 1,2 dS m⁻¹, em substratos contendo respectivamente, 100, 50, 25% e 0% V em mistura com um substrato orgânico comercial. Os mesmos autores obtiveram nas propriedades físicas, valores de 81,0; 85,8; 89,5 e 91,7% para o espaço poroso total e para a densidade real 1,89; 1,92; 1,93 e 1,93 g cm⁻³, respectivamente. Os mesmos autores concluíram que o crescimento desta cultura foi favorecido por misturas de 25 a 50% em V provavelmente em resultado da melhoria das condições físicas e nutricionais do substrato. Contudo, as misturas contendo 100% V terão registado baixa porosidade e arejamento afectando no crescimento do sistema radicular, reduzindo o crescimento da planta o que vem de encontro ao registado nos ensaios de *Thymus zygis*.

Shiralipour *et al.* (1992) registaram respostas semelhantes em resíduos orgânicos em

vaso, com decréscimo do crescimento das plantas à medida que a proporção do vermicomposto no recipiente aumentava acima de 50% encontrando-se estas respostas relacionadas também com a baixa porosidade e arejamento do substrato.

Para Frankenberger e Arshad (1995) os microrganismos não apenas mineralizam substâncias em nutrientes assimiláveis pela planta, como também sintetizam metabólitos como reguladores de crescimento. Krishnamoorthy e Vajrabhiah (1986) e Tomati *et al.* (1987) observaram que o vermicomposto proveniente do tratamento de lamas de ETAR possuía elevada concentração em bactérias e hormonas de crescimento (giberlinas, citocininas e auxinas) o que poderia induzir também mais crescimento. O efeito da presença de hormonas de crescimento nas culturas hortícolas, estabelecido por Hopkins (1995), poderá no entanto ter inibido a produção de biomassa da planta.

Contudo, em plantas aromáticas, Anwuar *et al.* (2005) apenas obtiveram um elevado crescimento de biomassa, quando utilizaram combinações de vermicomposto com fertilizantes inorgânicos. Este facto também poderá ter justificado a pouca produção de biomassa nas modalidades V100, VO75-25 e VO50-50. Neste aspecto, os valores em espaço poroso total e densidade real poderão ter originado baixos valores de disponibilidade hídrica no substrato vermicomposto.

Segundo Sotomayor *et al.* (2004), menor quantidade de água disponível aumenta o rendimento em óleo essencial. Este facto parece indicar que a imposição de um determinado tipo de *stress* favorece o aumento da concentração em óleos (Figura. 4). Neste trabalho, e apesar de não haver uma tendência muito clara, a inclusão de mais vermicomposto no substrato diminuiu a biomassa e o rendimento em óleos.

A baixa produção de biomassa em VO75-25 e VO50-50 foi coincidente com a concen-

tração em *p*-cimeno mais elevada e de timol mais baixa. De acordo com Skoula *et al.*, (1999), em estudos realizados em orégãos (*Origanum vulgare*), registou-se uma tendência para a produção de carvacrol (um isómero do timol) principalmente através da produção de novas folhas. Estes dados poderão explicar, ainda que parcialmente, os resultados que a fraca produção de biomassa sem formação de novas folhas terá originado na fraca produção de timol.

Baranauskiene *et al.* (2003) identificaram a presença no óleo essencial de *Thymus vulgaris* de timol (44,1 a 58,1%), *p*-cimeno (9,1 a 18,5%), γ -terpineno (6,9 a 18,9%) enquanto que Zambonelli *et al.* (2004) identificaram timol (22 a 38%), *p*-cimeno e γ -terpineno. Comparando os resultados obtidos por estes autores com os estabelecidos em ensaio, o timol apresentou máximo de 65% em VO25-75 enquanto que os precursores do timol (*p*-cimeno e γ -terpineno), apresentaram valores dentro dos intervalos (12,6 e 18,2%) respectivamente.

De acordo com Jordán *et al.* (2003), a maior presença em timol não foi verificada para a espécie *T. hyemalis*. De acordo com Özcan e Chalchat (2004), esta diferença nos teores de timol podem dever-se a factores genéticos, ambientais e nutricionais.

CONCLUSÕES

Os dados permitiram concluir que o substrato orgânico comercial permitiu a obtenção de maiores produções de biomassa na modalidade O100 e rendimento em óleos na modalidade VO25-75, sendo que, aparentemente a inclusão do vermicomposto nas modalidades não aumentou a produção de biomassa. Inclusivamente, os maiores valores de densidade real e menores de espaço poroso total nas modalidades contendo maior percentagem em vermicomposto poderão ter influen-

ciado as produções de biomassa e rendimento em óleos.

Apesar de considerado pela maioria dos autores um substrato com potencial em aumentar a biomassa de culturas hortícolas em produções de vasos em estufa ou em solo, a utilização de vermicomposto não registou os mesmos efeitos nos ensaios realizados com *T. zygis*, fruto possivelmente da menor tolerância desta cultura às variações das propriedades químicas e físicas dos substratos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a H. Rodrigues e A. Machado o apoio técnico no ensaio de estufa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abad, M.; Noguera, P. e Carrión, C. (2004) - *Los substratos en los cultivos sin suelo*. In: M. Urrestarazu (Ed.). *Tratado de cultivo sin suelo*. Madrid, Ediciones Mundi-Prensa, p. 113-158.
- Anónimo (2005) - *Farmacopeia Portuguesa VIII*. Lisboa, Infarmed, Ministério da Saúde, 214 p.
- Anwar, M.; Patra, D.D.; Chand, S; Alpesh, K; Naqvi, A.A. e Khanuja S.P.S. (2005) - Effect of organic manures and inorganic fertilizer on growth, herb and oil yield, nutrient accumulation, and oil quality of French basil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 36: 1737-1746.
- Atiyeh, R.M.; Lee, S.; Edwards, C.A.; Arancon, N.Q. e Metzger, J.D. (2002) - The influence of humic acids derived from earthworm-processed organic wastes on plant growth. *Bioresource Technology*, 84: 7-14.
- Baranauskiene, R.; Venskutonis, R.P. e Demyttenaere, J.C.R. (2003) - Sensory and instrumental evaluation of catnip (*Nepeta cataria* L.) aroma. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 51, 13: 3840-3848 pp.
- Bentes, J.; Miguel, M.G.; Monteiro, I.; Costa, M.; Figueiredo, A.C.; Barroso, J.G. e Pedro, L.G. (2009) - Antioxidant activities of the essential oils and extracts of Portuguese *Thymbra capitata* and *Thymus mastichina*. *Italian Journal of Food Science*, 21: 183-195.
- Frankenberger, Jr. e Arshad, M. (1995) - *Phytohormones in Soils Microbial Production and Function*. New York, Marcel Dekker, 503 p.
- Gopal, M; Gupeta, A; Sunil, E. e Thomas, G.V. (2009) - Amplification of plant beneficial microbial communities during conversion of coconut leaf substrates to vermicompost by *Eudrilus* sp.. *Current Microbiology*, 59: 15-20.
- Hopkins, W.G. (1995) - *Introduction to Plant Physiology*. New York, Wiley, 469 p.
- Horwath, A.B.; Grayer, R.J.; Keith Lucas, D.M. e Simmonds, M.S.J. (2008) - Chemical characterization of wild populations of *Thymus* from different climatic regions in southeast Spain. *Biochemical Systematics and Ecology*, 36: 117-133.
- Jeliazkova, E.A.; Zheljaskov, V.D. e Craker, L.E. (1999) - NPK fertilizer and yields of peppermint *Mentha x Piperita*. *Acta Horticulture*, 502: 231-236.
- Jordán, M.J.; R.M. Martínez; Cases, M.A. e Sotomayor, J.A. (2003) - Watering level effect on *Thymus hyemalis* Lange essential oil yield and composition. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 51: 5420-5427 pp.
- Jordán, M.J.; Martínez, R.M.; Martínez, C.; Moñino, I. e Sotomayor, J.A. (2009) - Polyphenolic extract and essentials oil quality of *Thymus zygis* ssp. *gracilis* shrubs cultivated under different watering levels. *Industrial Crops and Products*, 29: 145-153 pp.

- Krishnamoorthy, R.V. e Vajrabhiah, S.N. (1986) - Biological activity of earthworm casts: an assessment of plant growth promoter levels in casts. *Proceedings of the Indian Academy of Sciences (Animal Science)*, 95: 341-351 pp.
- Letchamo, W. e Gosselin, A. (1995) - Effects of supplemental lighting and soil water levels on growth, essential oil content and composition of two thyme (*Thymus vulgaris* L.) clonal selections. *Canadian Journal of Plant Science*, 75: 231-238.
- Martinez, F. X. (1992) - Propuesta de metodología para la determinación de las propiedades físicas de los substratos. Actas de las I Jornadas de Substratos de la SECH 294, 55-65.
- Moldão-Martins, M.; Bernardo-Gil, M.G.; Beirão da Costa, M.L. e Rouzet, M. (1999) - Seasonal variation in yield and composition of *Thymus zygis* L. subsp. *sylvestris* essential oil. *Flavour and Fragrance Journal*, 14: 177-82.
- Morales, R. (2002) - The history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. In: Stahl Biskup, E. e Sáez F. (Eds) - *Thyme: The Genus Thymus*. London, Taylor & Francis, p. 1-43.
- Özcan, M. e Chalchat, J.C. (2004) - Aroma profile of *Thymus vulgaris* L. growing wild in turkey. *Bulg. Journal of Plant Physiology*, 30: 68 -73 pp.
- Pérez-Sánchez, R.; Uebera, J.L.; Lafont, F. e Gálvez, C. (2008) - Composition and variability of the essential oil in *Thymus zygis* from Southern Spain. *Journal of the Essential Oil Research*, 20: 192-200.
- Ribeiro, D.; Ribeiro, H. e Louro, V. (2001) - *Produção em viveiros florestais*. Lisboa, Direcção-Geral de Desenvolvimento Rural, 149 p.
- Sáez, F. (1995) - Essential oil variability of *Thymus zygis* growing wild in Spain. *Phytochemistry*, 40: 819-825.
- Sáez, F. e Stahl-Biskup, E. (2002) - Essential oil polymorphism in the genus *Thymus*. In: Stahl-Biskup, E. e Saez, F. (Eds) - *Thyme: The Genus Thymus*. London, Taylor & Francis, p. 126-143.
- Shiralipour, A.; McConnell, D.B. e Smith, W.H. (1992) - Uses and benefits of MSW compost: a review and an assessment. *Biomass and Bioenergy*, 3: 267-279.
- Sotomayor J.A.; Martínez R.M.; García A.J. e Jordán, M.J. (2004) - *Thymus zygis* subsp. *gracilis*: watering level effect on phytomass production and essential oil quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 5418-5424.
- Tomati, U.; Grappelli, A. e Galli, E. (1987) - The presence of growth regulators in earthworm worked wastes. In: Bonvicini-Paglioli A.M. e Omodeo, P. (Eds.), *Proceedings of International Symposium on Earthworms, Selected Symposia and Monographs*. Mucchi, Moden, Unione Zoologica Italiana, p. 423-435.
- Zambonelli, A.; D' Aulerio A.Z.; Severi, A.; Benvenuti, S.; Maggi, L. e Bianchi, A. (2004) - Chemical composition and fungicidal activity of commercial essential oils of *Thymus vulgaris* L.. *Journal of Essential Oil Research*. 16: 69-74.