

Características químicas e atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Plectranthus amboinicus* (lour.) Spreng. cultivada com adubações distintas

Chemical characteristics and antimicrobial activity of the essential oil of *Plectranthus amboinicus* (lour.) Spreng. cultivated with different fertilizers

Características químicas y actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Plectranthus amboinicus* (lour.) Spreng. cultivado con diferentes fertilizantes

Recebido: 06/01/2021 | Revisado: 09/01/2021 | Aceito: 11/01/2021 | Publicado: 13/01/2021

Elizabeth Regina de Castro Borba

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0613-3977>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: elizabeth.castro@ufma.br

Thiago Castro Mubárack

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6705-8288>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: thiagomubarack@gmail.com

Tássio Rômulo Silva Araújo Luz

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7968-0915>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: tassioromulo@gmail.com

Daniella Patrícia Brandão Silveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6520-5312>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: daniellapbsilveira@hotmail.com

Ana Zélia Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6565-2868>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: ana.zs@ufma.br

Patrícia de Maria Silva Figueiredo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0087-9524>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: figueiredo.patricia@ufma.br

Odair dos Santos Monteiro

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0607-1531>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: odair.sm@ufma.br

Yan Michel Lopes Fernandes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5464-9660>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: yfernandes04@gmail.com

Maria do Livramento de Paula

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1476-519X>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: maria.paula@ufma.br

Crisálida Machado Vilanova

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8502-1625>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: crisalida.vilanova@ufma.br

Denise Fernandes Coutinho

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5665-9280>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: denise.coutinho@ufma.br

Resumo

Objetivo: avaliar se há diferenças no rendimento, na composição química e consequentemente na atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de *Plectranthus amboinicus* quando submetida a cultivos com adubações diferentes em um mesmo período do ano. Metodologia: *Plectranthus amboinicus* foi cultivada com dois tipos de adubação diferentes durante 75 dias. A extração do óleo essencial das folhas ocorreu por hidrodestilação com Clevenger e a identificação dos seus constituintes químicos foi realizada por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas. A atividade antimicrobiana foi determinada pela técnica de microdiluição em caldo.

Resultados: Foram constatadas variações no rendimento, na composição química e na atividade antimicrobiana do óleo essencial nas amostras cultivadas com adubações orgânicas diferentes em uma mesma época. Os melhores resultados foram obtidos na amostra de óleo essencial adubada com esterco bovino, tendo um rendimento de 1,65% e como majoritários Carvacrol (58,6%), γ -Terpineno: (15,1%) e p-Cymeno: (8,2%). Conclusão: Os majoritários Carvacrol, γ -Terpineno e p-Cymeno estiveram mais abundantes no cultivo com adubação orgânica do tipo esterco bovino. Da mesma forma, o melhor potencial antimicrobiano detectado do óleo essencial contra *E. coli* e *C. albicans* decorreu do cultivo das plantas com adubação orgânica do tipo esterco bovino. Os dados sugerem que este tipo de adubação seja adequado para produzir o óleo essencial com melhor atividade antimicrobiana e maior qualidade. Portanto, é possível melhorar o rendimento, a concentração dos constituintes e sua resposta antimicrobiana através de uma adubação orgânica acessível e de baixo custo.

Palavras-chave: *Plectranthus amboinicus*; Óleo essencial; Atividade antimicrobiana; Adubação orgânica; Composição química.

Abstract

Objective: To evaluate if there are differences for yield, chemical composition and, consequently, antimicrobial activity of the essential oils of *Plectranthus amboinicus* when submitted to crops with different fertilizations in the same period of the year. **Methodology:** *Plectranthus amboinicus* was grown with two different types of fertilization for 75 days. The extraction of essential oil from the leaves was through hydrodistillation with Clevenger and the identification of its chemical constituents was performed by gas chromatography coupled with mass spectrometry. The antimicrobial activity was determined by the broth microdilution technique. **Results:** Variations in yield, chemical composition and antimicrobial activity of essential oil were found in samples grown using different organic fertilizers at the same time. The best results were obtained in the sample of essential oil fertilized with bovine manure, yielding 1.65% and Carvacrol (58.6%), γ -Terpinene: (15.1%) and p-Cymene: (8.2%) as majorities. **Conclusion:** The majorities Carvacrol, γ -Terpinene and p-Cymene were more abundant in the cultivation with organic fertilization of bovine manure type. Likewise, the best antimicrobial potential detected by the essential oil against *E. coli* and *C. albicans* was due to the cultivation of plants with organic fertilization of bovine manure type. The data suggest that this type of fertilization is adequate to produce the essential oil with better antimicrobial activity and higher quality. Therefore, it is possible to improve the yield, the concentration of the constituents and their antimicrobial response through an affordable organic fertilizer.

Keywords: *Plectranthus amboinicus*; Essential oil; Antimicrobial activity; Organic fertilization; Chemical composition.

Resumen

Objetivo: evaluar si existen diferencias en rendimiento, composición química y, en consecuencia, en la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de *Plectranthus amboinicus* cuando se someten a cultivos con diferentes fertilizaciones en el mismo período del año. **Metodología:** Se cultivó *Plectranthus amboinicus* con dos tipos diferentes de fertilización durante 75 días. La extracción del aceite esencial de las hojas se realizó mediante hidrodestilación con Clevenger y la identificación de sus componentes químicos se realizó mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. La actividad antimicrobiana se determinó mediante la técnica de microdilución en caldo. **Resultados:** Se encontraron variaciones en el rendimiento, la composición química y la actividad antimicrobiana del aceite esencial en muestras cultivadas con diferentes fertilizantes orgánicos al mismo tiempo. Los mejores resultados se obtuvieron en la muestra de aceite esencial fertilizado con estiércol bovino, con un rendimiento del 1,65% y como mayoritaria Carvacrol (58,6%), γ -Terpineno: (15,1%) y p-Cymeno: (8,2%). **Conclusión:** Las mayorías Carvacrol, γ -Terpineno y p-Cymeno fueron más abundantes en el cultivo con fertilización orgánica de tipo estiércol bovino. Asimismo, el mejor potencial antimicrobiano detectado por el aceite esencial contra *E. coli* y *C. albicans* se debió al cultivo de plantas con fertilización orgánica del tipo estiércol bovino. Los datos sugieren que este tipo de fertilización es adecuada para producir el aceite esencial con mejor actividad antimicrobiana y mayor calidad. Por lo tanto, es posible mejorar el rendimiento, la concentración de los componentes y su respuesta antimicrobiana a través de un fertilizante orgánico asequible.

Palabras clave: *Plectranthus amboinicus*; Aceite esencial; Actividad antimicrobiana; Fertilización orgánica; Composición química.

1. Introdução

Os óleos essenciais ou óleos voláteis constituem uma mistura líquida de substâncias odoríferas voláteis e lipofílicas produzidas por plantas aromáticas, que podem ter variações decorrentes de fatores ambientais, sazonais e extrativos. Os óleos essenciais podem ser originados pela via acetato ou chiquimato e pertencem em sua maioria à classe dos monoterpenoides, sendo encontrados também nos sesquiterpenos e fenilpropanoides (Benelli & Mehlhorn, 2018; Coutinho, et. al., 2020).

Nos vegetais suas principais funções são de defesa contra predadores, microrganismos patogênicos e na atração de polinizadores. São encontrados principalmente em estruturas celulares específicas como: células oleíferas, bolsas secretoras, canais secretores e tricomas glandulares das plantas aromáticas. Nas angiospermas dicotiledôneas são encontrados principalmente nas famílias: Lamiaceae, Myrtaceae, Lauraceae, Verbenaceae, Piperaceae e Asteraceae (Baser & Buchbauer, 2015; Simões, et al., 2017).

A família Lamiaceae (Labiatae) é composta por cerca de 200 gêneros e 3.200 espécies com amplo uso na culinária e no tratamento de diversas doenças (Punet Kumar, et. al., 2020). Como integrante desta família, *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng, popularmente conhecida como malvariço, hortelã da folha grossa ou Indian borage, também tem suas aplicações na culinária como tempero e na medicina popular. As suas folhas podem ser consumidas cruas, usadas como aromatizantes ou adicionadas como ingredientes na preparação de alimentos tradicionais (Arumugan, et al., 2016).

Plectranthus amboinicus (Lour.) Spreng é uma herbácea perene que atinge em média 1m de altura e pode viver de 3 até 10 anos (Khalid & El-Gohary, 2014). Tem folhas ovais, suculentas, com ápice agudo ou obtuso e superfícies crenadas (Punet Kumar, et. al., 2020). Apresenta pêlos glandulares na superfície inferior das folhas, pecíolo grosso e caule quebradiço. Suas flores têm coloração violácea, sendo difícil observar sementes e flores dessa planta em algumas localidades (Prasad, et al., 2020).

Esta espécie tem como metabólitos secundários 76 constituintes voláteis como: β -cariofileno, carvacrol, timol e 30 compostos não voláteis pertencentes a diferentes classes de fitoquímicos, como: terpenos (monoterpenos, diterpenos, triterpenos e sesquiterpenos), fenólicos, flavonoides, ésteres, álcoois e aldeídos. Estudos citaram diversas propriedades farmacológicas, incluindo atividades antimicrobiana, antiinflamatória, analgésica, diurética, citotóxica, cicatrizante, larvicida e antioxidante (Arumugam & Swamy, 2016; Ruan, 2019; Sany, et.al., 2020).

Estudos reforçam que os metabólitos secundários produzidos pelos vegetais estão susceptíveis à alterações em sua síntese e proporção, decorrentes da fase de desenvolvimento de vegetal, de fatores genéticos e ambientais, como: temperatura, umidade, luminosidade, oferta de nutrientes e disponibilidade hídrica (Coutinho, et al., 2020; Luz, et. al., 2020).

A variedade de condições e fatores a que uma espécie está exposta refletem na produção de seus constituintes químicos, e conseqüentemente na intensidade de sua atividade biológica. Buscando entender melhor o comportamento de *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng, frente à estas situações, a pesquisa teve como objetivo avaliar se há diferenças (qualitativa e quantitativa) na composição química dos óleos essenciais e conseqüentemente na atividade antimicrobiana desta espécie quando submetida a cultivos com adubações diferenciadas em um mesmo período.

2. Metodologia

O presente estudo é de caráter experimental e possui abordagem quantitativa, como preconizado por Pereira, et al. (2018).

2.1 Cultivo e amostra

No Estado do Maranhão predomina um clima tropical estando a 24m acima do nível do mar. O município de São Luís localizado no Estado do Maranhão tem um clima do tipo Aw' quente e úmido, segundo Koppen e Geiger, e apresenta com duas situações definidas de precipitação: um período chuvoso, que se estende de janeiro a junho e um de estiagem de julho a dezembro. Tem uma temperatura média de 27°C e pluviosidade anual média 1896mm (Martins, et. al., 2020; da Silva, et. al., 2020).

2.2 Características do cultivo e coleta

O cultivo de 75 dias da espécie compreendeu o período de 25/04/19 até 10/07/19 na casa de vegetação do Horto de Plantas Mediciniais Berta Lange de Morretes, da Universidade Federal do Maranhão- UFMA ((2° 32'S e 44°16 W), com 50% de sombreamento. Uma exsicata da espécie foi depositada no Herbário “Ático Seabra”, no Departamento de Farmácia da UFMA, Brasil (SLS n.º.1.477).

Os cultivos foram realizados aplicando dois tipos de tratamento do solo com adubação orgânica: Tratamento A (esterco bovino + esterco avícola + solo) e Tratamento B (esterco bovino + solo).

2.3 Extração do óleo essencial

Folhas frescas coletadas de cada Tratamento (A e B) foram dessecadas à 40°C por 72 horas e então submetidas a hidrodestilação por três horas usando aparelho tipo Clevenger (Brasil, 2019). As amostras de óleo essencial (OE) foram centrifugadas (4000 rpm/30 min) e desidratadas com sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄). Em seguida, foram acondicionadas em ampolas de vidro âmbar e mantidas sob refrigeração (2–8°C) até o momento das análises de determinação do seu conteúdo e rendimento seguindo a metodologia de Coutinho, et. al., (2007).

2.4 Análise química dos óleos essenciais (OE)

A análise das amostras de OE foi com a técnica de cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (GC-MS-QP2020-Shimadzu). As condições aplicadas foram: coluna capilar BPX5 (30m x 0,25mm x 0,25µm), com faixa de temperatura de 60°C-240°C (3°C/min); gás carreador hélio (3ml min⁻¹) e volume injetado de 1 µ L (em hexano). A temperatura do injetor foi de 280°C, com pressão na coluna de 111,5 KPa e velocidade linear de 48,9 cm/s e modo *scan* 0.5s. Os componentes foram identificados por comparação com os padrões de fragmentação encontrados nos espectros de massa descritos nas espectrotescas (NIST, 2005) e na literatura (Adams, 2007).

2.5 Determinação do rendimento do óleo essencial

Os rendimentos dos OE foram expressos em porcentagem aplicando-se a equação abaixo (Rodrigues, et al., 2011):

$$\text{Eq. (1)} \quad \% \text{ Rendimento óleo essencial} = \frac{M_{oe}}{M_p} \times 100$$

M_{oe}= massa do óleo essencial extraído;

M_p= massa da matéria prima usada na extração

2.6 Atividade antimicrobiana

Quatro cepas de fungos e duas cepas de bactérias foram analisadas na determinação da atividade antimicrobiana. Foram testadas as seguintes cepas testadas: *C. albicans* (ATCC 14053 e ATCC 90028), *C. parapsilosis* (ATCC 22019), *C. Krusei* (ATCC 6528), *S. aureus* (ATCC 25923) e *E. coli* (ATCC 35218). Como controle positivo os padrões usados foram o Cloranfenicol e a Nistatina.

Os microrganismos foram reativados por semeadura em caldo BHI (Ágar de Infusão Cérebro-Coração) à 35 °C por 24h. Na sequência foram semeados em placas com ágar nutriente e incubados à 35°C durante 24h. As colônias isoladas foram ressuspendidas em 3 mL de solução salina 0,9% obedecendo a escala de 0,5 McFarland (1,5 x 10⁸ UFC/ml) (CLSI, 2020).

2.6.1 Determinação da Concentração Inibitória mínima (CIM)

A técnica de microdiluição em caldo com microplaca de 96 poços, contendo 100 µL de Caldo Mueller Hinton em cada um deles foi aplicada para avaliação do potencial antifúngico dos OE. H e no controle positivo foi adicionado 20 µL de antimicrobiano (Cloranfenicol 0,02mg/mL ou Nistatina 100.000 UI). Em seguida, acrescentou-se 5 µL da suspensão microbiana em todos os poços. A microplaca foi incubada por 24-48h à 37°, realizando-se a revelação desta com 30 µL de resazurina 0,015% em todos os poços. As análises foram realizadas em triplicata e a concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada com a técnica de microdiluição conforme descrito pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2020).

2.6.2 Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM)

A CBM foi avaliada nas concentrações onde não houve crescimento do microrganismo no teste da MIC, através de semeadura em placa de petri com ágar Mueller Hinton. Após a incubação das placas em estufa bacteriológica por 24/48h, houve a leitura do teste para verificar a presença de ação bactericida ou bacteriostática nas amostras do óleo essencial (CLSI, 2020).

3. Resultados e Discussão

3.1 Análise química e rendimento

A amostra que recebeu o tratamento B de adubação orgânica (esterco bovino + solo) apresentou um rendimento do óleo essencial de 1,65% sendo superior ao obtido no cultivo com o tratamento A (esterco bovino + esterco avícola + solo) que pode ser visualizado na Tabela 1. Segundo Oliveira (2020), o rendimento do OE é influenciado pelo estado de nutrição da planta, forma de cultivo, fatores ambientais e estágio de crescimento do vegetal. Outro interferente no rendimento do OE como a variação sazonal foi relatado no estudo de Zouari-Bouassida, et al., (2018) em que eles constataram diferenças no rendimento de OE entre as estações analisadas. Portanto, apesar dos dois tratamentos terem ocorrido na mesma época e com a mesma técnica extrativa é possível que a diferença no tipo de adubação possa ter refletido em um melhor rendimento da espécie *P. amboinicus*.

Tabela 1 - Composição química e rendimento dos óleos essenciais de *Plectranthus amboinicus* com adubações orgânicas diferentes.

	RI	Compostos	Tratamentos	
			A	B
1	902	α -Thujene	1,08	1,03
2	919	(+)-4-Carene	3,17	2,67
3	948	α -Pinene	0,45	0,38
4	958	Myrcene	1,58	1,04
5	962	1-Octen-3-ol	0,15	-
6	964	β -Phellandrene	0,33	-
7	969	α -Phellandrene	0,47	0,39
8	998	γ -Terpinene	14,43	15,09
9	1018	Limonene	0,59	-
10	1041	Sabinene hydrate	0,35	-
11	1042	p-Cymene	7,43	8,21
12	1137	Terpinen-4-ol	1,32	1,08
13	1262	Carvacrol	49,42	58,66
14	1371	Linalyl propionate	-	0,24
15	1430	α -Bergamotene	5,76	2,86
16	1494	Caryophyllene	8,46	5,05
17	1500	β -Bisabolene	0,33	-
18	1507	Caryophyllene oxide	1,18	0,56
19	1579	Humulene	2,94	1,49
		Monoterpenos hidrocarbonetos	29,53	28,81
		Monoterpenos oxigenados	51,09	59,74
		Sesquiterpenos hidrocarbonetos	17,49	9,40
		Sesquiterpenos oxigenados	1,18	0,56
		Outros	0,15	0,24
		Total identificado (%)	99,44	98,75
		Rendimento (%)	1,2	1,65

(-) Não detectado

RI - Índice de retenção linear da biblioteca (Adams, 2007).

Fonte: Autores (2021).

Ainda nesta mesma tabela os dados revelam que a quantidade de compostos químicos identificados do OE da amostra A (n=18) foi superior aos da amostra B (n=14). Cinco compostos foram detectados apenas na Amostra A: *β -Phellandrene*, *1-Octen-3-ol*, *β -Bisabolene*, *Limonene* e *Sabinene hydrate*, enquanto o *Linalyl propionate* foi identificado apenas na Amostra B. O componente mais abundante nas duas amostras foi o carvacrol (A=49,4%, B=58,6%), seguido por γ -terpineno (A=14,4%, B=15,1%) e p-cymeno (A=7,4%, B=8,2%), estando presentes em maior proporção na amostra do tratamento B. Somente o cariofileno (A=8,4%, B=5%), dentre os majoritários, foi detectado em maior concentração na amostra A.

O estudo realizado no Brasil por Santos, et al., (2015) apresentou semelhança na composição qualitativa dos componentes majoritários variando, entretanto no número de compostos obtidos no OE e nas concentrações dos mesmos, como por exemplo o carvacrol (37,7%). Quantidades aproximadas de compostos identificados foram detectadas também no estudo de Khalid & El-Gohary (2014), realizado no Egito, apesar de haver diferenças nos constituintes identificados e em suas concentrações como os majoritários carvacrol (15,9%) e γ -terpinene (2,5%). Resultado diferenciado foi observado no estudo comparativo entre salinidade e dose de fertilizante de Mesquita et. al. (2017) que obteve como constituinte principal o Timol (53,2-93,6%) enquanto o carvacrol esteve em menores concentrações (13,1-24,5%). É importante destacar que a concentração de carvacrol (A=49,4%, B=58,6%) produzida nesta pesquisa com cultivos analisando dois tipos adubação orgânica, foi superior à dos estudos acima mencionados.

3.2 Atividade antimicrobiana

Os dados apresentados na Tabela 2, demonstram que a melhor atividade antifúngica ocorreu na concentração de 3,90mg/mL para as estirpes de *C. albicans* ATCC 14053 e ATCC 90028 na amostra do tratamento B.

Quanto à atividade antibacteriana os melhores resultados encontrados foram para as estirpes de *E. coli* ATCC 35218, tendo no tratamento B a menor CIM (0,97mg/mL). Carvacrol é conhecido por ter ação bactericida e/ou bacteriostática dependendo da concentração usada e ainda pela capacidade de destruição da membrana celular da *E.coli*, *S. typhimurium* e *Shigella flexneri* (Gonçalves, et.al., 2012), o que reforça os resultados encontrados nesta pesquisa cuja concentração de carvacrol foi de 58,6%.

Tabela 2 – Concentrações inibitória, fungicida e bactericida mínima dos óleos essenciais de *Plectranthus amboinicus* com adubações orgânicas diferentes.

CEPAS	TRATAMENTO A		TRATAMENTO B	
	CIM	CBM/CFM	CIM	CBM/CFM
<i>C. albicans</i> ATCC 14053	7,81	7,81	3,90	3,90
<i>C. albicans</i> ATCC 90028	15,62	15,62	7,81	7,81
<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	7,81	31,25	7,81	15,62
<i>C. krusei</i> ATCC 6528	3,90	3,90	3,90	3,90
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	3,90	3,90	15,62	15,62
<i>E. coli</i> ATCC 35218	1,95	1,95	0,97	1,95

CIM: Concentração Inibitória Mínima (mg/ml)

CBM/CFM: Concentração Bactericida/Fungicida Mínima (mg/ml)

Fonte: Autores (2021).

Em um estudo realizado por EL-Zefzafy (2016) com óleo essencial de *Plectranthus amboinicus* para avaliar a atividade antimicrobiana, a CIM para *C. albicans* foi de 1,4µg/ml e para *E. coli* foi de 8,2µg/ml. Este mesmo estudo também identificou nos componentes do óleo essencial como majoritário o Limoneno (42%), seguido do β Myrcene β (11,3%). Estes dados diferem dos resultados encontrados nesta pesquisa o que segundo Oliveira (2020) podem ser justificados pela possibilidade de alterações nos componentes dos óleos essenciais, qualitativa e quantitativa, decorrentes de fatores como origem botânica, origem geográfica, sazonalidade, entre outros.

Analisando ainda os dados da Tabela 2 observa-se que na maioria dos testes, exceto para *S. aureus*, a amostra do Tratamento B respondeu com níveis de concentração iguais ou menores do que o Tratamento A. Portanto, a partir desses dados pode-se inferir que a variação nas concentrações dos compostos majoritários e conseqüentemente na resposta antimicrobiana pode estar associada ao tipo de adubação aplicada. A adubação orgânica do tratamento B (esterco bovino) mostra-se como a mais indicada no cultivo, nestas condições, uma vez que apresentou resultados iguais ou melhores do que o tratamento A. Além disto, é um tipo de adubação mais simples e de menor custo quando comparada a aplicada no tratamento A (esterco bovino + esterco avícola).

4. Considerações Finais

A pesquisa demonstrou que houve diferenças no rendimento, na composição química e na atividade antimicrobiana do óleo essencial ao comparar amostras cultivadas da mesma espécie com adubações diferentes em um mesmo período (chuvoso). Os resultados obtidos comprovaram um potencial antibacteriano contra *E. coli* e antifúngico contra *C. albicans* principalmente no óleo essencial originado das plantas cultivadas com adubação orgânica do tipo esterco bovino. Os dados sugerem que este tipo de adubação seja suficiente para produzir óleo essencial com maior qualidade e melhor atividade antimicrobiana. Portanto,

é possível melhorar o rendimento, a concentração dos constituintes e a resposta antimicrobiana do óleo essencial através de uma adubação orgânica acessível e de baixo custo.

São necessários outros estudos para avaliar se essas diferenças podem ser mais acentuadas com as variações sazonais. A análise deste tipo de estudo com a mesma duração em um intervalo de 365 dias, poderá refletir melhor as alterações sofridas pelo vegetal e as consequências na produção de seus metabólitos secundários.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Maranhão (FAPEMA). Os autores também agradecem ao programa de Pós Graduação em Biotecnologia (RENORBIO) e à Universidade Federal do Maranhão (UFMA) pelo apoio e pela infraestrutura disponibilizada para a pesquisa, análise e discussão de dados.

Referências

- Adams, R. P. (2007). *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry* (Vol. 456). Carol Stream, IL: Allured publishing corporation.
- Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (2019). Farmacopeia Brasileira (6a ed.). Brasília: ANVISA. 874. <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/farmacopeia/farmacopeia-brasileira/arquivos/7985json-file-1>
- Arumugam, G., Swamy, M. K., & Sinniah, U. R. (2016). *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng: Botanical, Phytochemical, Pharmacological and Nutritional Significance. *Molecules*, 21(4), 1-26. 10.3390/molecules-21040369
- Benelli, G., & Mehlhorn, H. (2018). *Mosquito-borne Diseases*. Springer, Dusseldorf.
- CLSI (2020). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Clinical and Laboratory Standards Institute (30a ed.). Wayne, Pennsylvania, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Coutinho, D. F., Borba, E. R. C., Luz, T. R. S. A., Serejo, A. P. M., Amaral, F. M. M., & Ribeiro, E. C. G. (2020). *Terpenoides: Classificação e Biossíntese*: CRV.
- Coutinho, D. F., Dias, C. S., Barbosa-Filho, J. M., Agra, M. F., Martins, R. M., Silva, T. M., & Craveiro, A. A. (2007). Composition and molluscicidal activity of the essential oil from the stem bark of *Ocotea bracteosa* (Meisn.) Mez. *Journal of Essential Oil Research*, 19(5), 482-484. 10.1080/10412905.2007.9699958
- da Silva, A. L. R., Costa, V. R. M., Ferreira, G. B., Castro, É. J. M., da Conceição Coelho, A., de., Macedo, A. O., & da Silva Bezerra, D. (2020). Análise dos padrões dos focos de queimadas por biomas do estado do Maranhão/Analysis of the patterns of fires in biomes in the state of Maranhão. *Brazilian Journal of Development*, 6(2), 6399-6409. <https://www.brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/view/6745>
- EL-Zefzafy, M. M., Gouda, T. M. D., & El-Morsy, T. H. (2016). In vitro and in vivo growth, chemical and antimicrobial studies for *Plectranthus amboinicus* plant. *International Journal of PharmTech Research*, 9(12), 851-865.
- Baser, K. H. C., & Buchbauer, G. (Eds.). (2015). *Handbook of essential oils: science, technology, and applications*: CRC press
- Goncalves, T. B., Braga, M. A., de Oliveira, F. F., Santiago, G. M., Carvalho, C. B., e Cabral, P. B., & Nagao-Dias, A. T. (2012). Effect of subinhibitory and inhibitory concentrations of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng essential oil on *Klebsiella pneumoniae*. *Phytomedicine*, 19(11), 962-968. 10.1016/j.phymed.2012.05.013
- Khalid, A. K., & El-Gohary, A. E. (2014). Effect of seasonal variations on essential oil production and composition of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) grow in Egypt. *International Food Research Journal*, 21(5), 1859. [http://ifrj.upm.edu.my/21%20\(05\)%202014/20%20IFRJ%2021%20\(05\)%202014%20Khalid%20115.pdf](http://ifrj.upm.edu.my/21%20(05)%202014/20%20IFRJ%2021%20(05)%202014%20Khalid%20115.pdf)
- Luz, T. R. S. A., Leite, J. A. C., De Mesquita, L. S. S., Bezerra, S. A., Silveira, D. P. B., De Mesquita, J. W. C., Ribeiro, E. C. G., Vilanova, C. M., Ribeiro, M. N. S., Amaral, F. M. M., & Coutinho, D. F. (2020). Seasonal variation in the chemical composition and biological activity of the essential oil of *Mesosphaerum suaveolens* (L.) Kuntze. *Industrial Crop & Products*. 153, 112600. 10.1016/j.indcrop.2020.112600
- Martins, W. L. D., Blanco, C. J. C., & de Melo, A. M. Q. (2020). Potencial erosivo das chuvas nos estados do Maranhão e Pará via análise da distribuição espacial da erosividade. *Geoambiente On-line*, (36), 1-18. 10.5216/revgeoamb.vi36.60668
- Mesquita, S. B. da S., da Costa, R. S., Amorim, A. V., de Lacerda, C. F., & da Fonseca, A. M. (2017). Crescimento e composição do óleo essencial de malvariço cultivado sob salinidade e doses de biofertilizante. *Revista Agro@mbiente On-line*, 11(4), 315-322. 10.18227/1982-8470r@gro.v11i4.4142

National Institute of Standards and Technology - NIST (2005). Mass Spectral Library (NIST/EPA/NIH). NIST Standard Reference Database. National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA. <https://www.nist.gov/srd/nist-standard-reference-database-1a-v17>.

Oliveira, A. M. J. de (2020). Caracterização e avaliação da atividade inseticida do óleo essencial de *Hyptis marruboides* (Hortelã do Campo) em larvas de *Aedes aegypti*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Lavras, MG, Brasil.

Pereira, A. S., Shitsuka, D. M., Parreira, F. J., & Shitsuka, R. (2018). *Metodologia da pesquisa científica*. Ed. UAB/NTE/UFSM. https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1.

Prasad, N., Basalingappa, K. M., Gopenath, T. S., Razvi, S. M., Murugesan, K., Ashok, G., & Divyashree, K. C. (2020). Nutritional Significance Of Indian Borage (*Plectranthus amboinicus*): A Review. *Plant Archives*, 20(2), 3727-3730. https://www.researchgate.net/publication/345903386_NUTRITIONAL_SIGNIFICANCE_OF_INDIAN_BORAGE_PLECTRANTHUS_AMBOINICUS_A_REVIEW

Punet Kumar, S., & Kumar, N. (2020). *Plectranthus amboinicus*: a review on its pharmacological and pharmacognostical studies. *American Journal of Physiology*, 10(2), 55-62. 10.5455/ajpbp.20190928091007

Rodrigues, T. S., Guimarães, S. F., Rodrigues-Das-Dôres, R. G., & Gabriel, J. V. (2011). Métodos de secagem e rendimento dos extratos de folhas de *Plectranthus barbatus* (boldo-da-terra) e *P. ornatus* (boldo-miúdo). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 13(SPE), 587-590. 10.1590/S1516-05722011000500014

Ruan, T. Z., Kao, C. L., Hsieh, Y. L., Li, H. T., & Chen, C. Y. (2019). Chemical Constituents of the Leaves of *Plectranthus amboinicus*. *Chemistry of Natural Compounds*, 55(1), 124-126. 10.1007/s10600-019-02631-9

Santos, N. O. D., Mariane, B., Lago, J. H. G., Sartorelli, P., Rosa, W., Soares, M. G., & Pascon, R. C. (2015). Assessing the chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from Brazilian plants—*Eremanthus erythropappus* (Asteraceae), *Plectranthus barbatus*, and *P. amboinicus* (Lamiaceae). *Molecules*, 20(5), 8440-8452. doi.org/10.3390/molecules20058440

Sany, H., Said-Al Ahl, H. A., Mauro, R. P., & Astatkie, T. (2020). Effects of NaCl on growth, essential oil and chemical composition of *Plectranthus amboinicus*. *Plant Archives*, 20(1), 2471-2477. https://www.researchgate.net/publication/340952770_EFFECTS_OF_NACL_ON_GROWTH_ESSENTIAL_OIL_AND_CHEMICAL_COMPOSITION_OF_PLECTRANTHUS_AMBOINICUS

Zouari-Bouassida, K., Trigui, M., Makni, S., Jlaïel, L., & Tounsi, S. (2018). Seasonal variation in essential oils composition and the biological and pharmaceutical protective effects of *Mentha longifolia* leaves grown in Tunisia. *BioMed Research International*, 18(1), 1-12. 10.1155/2018/7856517