

EFECTO DEL CULTIVO HIDROPÓNICO DE TOMILLO (*Thymus vulgaris* L.) EN LA CALIDAD Y RENDIMIENTO DEL ACEITE ESENCIAL

Luz Adela Guerrero-Lagunes¹; Lucero del Mar Ruiz-Posadas¹;
María de las Nieves Rodríguez-Mendoza¹; Marcos Soto-Hernández¹; Alberto Castillo-Morales²

¹Colegio de Postgraduados, km 36.5 Carretera México-Texcoco, Montecillo, Estado de México. C. P. 56230. MÉXICO. Correo-e: lucpo@colpos.mx (¹Autora para correspondencia).

²Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa, MÉXICO.

RESUMEN

El tomillo (*Thymus vulgaris* L.) es una especie aromática, cuyo consumo está aumentando a ritmos que duplican o triplican el crecimiento de la población mundial, generado en gran medida por el uso del aceite esencial en las industrias alimenticia, cosmética y farmacéutica. Bajo esta perspectiva y ante la necesidad de obtener rendimientos más altos de aceite esencial que los obtenidos en campo, se plantea el presente trabajo con el objetivo de evaluar el rendimiento y calidad del aceite esencial de tomillo cultivado en invernadero bajo un sistema hidropónico abierto. Se evaluaron tres densidades de siembra: D1, D2 y D3 (14, 28 y 71 plantas·m² respectivamente) y dos concentraciones de solución nutritiva Steiner (S1: 100 % y S2: 50 %). Se utilizó un arreglo factorial 3x2, con cuatro repeticiones por tratamiento. Los resultados muestran que los valores más altos para altura de planta se presentaron con S1 D2, S1 D2 y S2 D1, para el diámetro del tallo con S1 D2 y S1 D3; no se presentó diferencia estadística entre los tratamientos para peso fresco y seco, aunque el mayor número de hojas se presentó con S1 D2 y S2 D1; la mayor área foliar sólo se alcanzó con S1 D2. En el análisis de los aceites se identificaron cuatro componentes (ρ -cimeno, α -terpineno, carvacrol y timol), de los cuales el más abundante fue timol con 23.331 %. El uso de la hidroponía permite cultivar la especie con alta densidad de siembra y obtener un producto de alta calidad, recomendando S1 D2 como el mejor tratamiento donde se obtiene el crecimiento óptimo de tomillo en todas las variables.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES: Planta aromática, densidad de siembra, aceite esencial.

THYME HYDROPONICS CROPS EFFECT (*Thymus vulgaris* L.) ON ESSENTIAL

OIL QUALITY AND YIELD

ABSTRACT

Thyme (*Thymus vulgaris* L.) is an aromatic plant, whose consumption is increasing at rates that are two or three times the world's population growth, which is generated for the essential oil use in food, cosmetic and pharmaceutical industries. Under this perspective and with the need for obtaining higher yields of essential oil than those obtained in open fields, the aim of the present work is to evaluate both essential oil quality and yield of thyme cultivated in a greenhouse under an open hydroponic system. Three growing densities were evaluated: D1, D2 and D3 (14, 28 and 71 plants·m⁻², respectively) and two concentrations of the Steiner nutrient solution (S1: 100 % and S2: 50 %). A 3x2 factorial experiment with four replicates was used for each treatment. The results show that higher values for plant height were presented with S1 D2, and S2 D1, for the stem diameter with S1 D2 and S1 D3; no statistical difference was presented among the treatments for fresh and dry weight, although the largest number of leaves was presented with S1 D2 and S2 D1; the largest area leaf was only reached with S1 D2. In the analysis of the oils four components were identified (ρ -cymene, α -terpinene, carvacrol and thymol) of which the most abundant was thymol with 23.331 %. The use of hydroponic crops allows cultivation of high sowing density species and to obtain a high quality product, recommending S1 D2 as the best treatment where thyme ideal growth is obtained in all the variables.

ADDITIONAL KEY WORDS: Aromatic plants, sowing density, essential oil.

INTRODUCCIÓN

El tomillo (*Thymus vulgaris* L.), es una especie perteneciente a la familia *Lamiaceae*, que se comercializa en fresco o seco, principalmente para la extracción de su aceite esencial, que se encuentra en mayor cantidad en las hojas.

Aunque la biosíntesis y acumulación del aceite esencial de esta especie está controlada genéticamente (Baranauskiene *et al.*, 2003), se ve afectada también por factores ambientales como temperatura, luz (Udagawa, 1995; Curioni *et al.*, 2002) y variaciones geográficas (Figueiredo *et al.*, 2008). Se ha demostrado que condiciones agronómicas como fertilización y densidad de siembra, influyen en la cantidad y calidad del aceite esencial de tomillo (Naghdi *et al.*, 2004). Otro factor que influye en la producción de los metabolitos secundarios es la etapa fenológica, siendo la floración la época de mayor acumulación (McGimpsey *et al.*, 1994). En cultivos hidropónicos la concentración de aceite esencial se ha visto influida por la concentración de fósforo (Shinohara *et al.*, 1992) y nitrógeno (Ichimura *et al.*, 1992), así como por la temperatura de la solución nutritiva (Udagawa, 1994).

La composición del aceite esencial de esta especie incluye carvacrol y timol, además de que puede contener p-cimeno, p-terpineno, linalol, borneol, geraniol y cariofileno (Baranauskiene *et al.*, 2003; Naghdi *et al.*, 2004). Estos compuestos confieren olores, sabores y propiedades químicas que sitúan al tomillo como una planta muy cotizada en la industria alimenticia, farmacéutica, perfumería y cosmética (Muñoz, 2000).

Existen evidencias sobre las propiedades del aceite esencial de tomillo, entre las que destacan su acción anti-espasmódica, antitusiva, antimicrobiana, antifúngica y propiedades antioxidantes (Van Den Broucke y Lemli, 1981; Paster *et al.*, 1995; Hammer *et al.*, 1999).

En México se cultiva en suelo en los estados de Puebla, San Luis Potosí y Baja California Sur, cubriendo apenas una superficie de 11 ha (2.0, 4.5 y 5.25 ha, respectivamente) con rendimientos que no superan las 2.68 t·ha⁻¹ de producto seco (SIAP; 2009); son cultivos cuya problemática principal es la falta de riego, un manejo inadecuado de nutrición y de densidad de siembra, que repercute en la calidad y rendimiento del producto obtenido y de su aceite esencial (Secretaría de Desarrollo Agropecuario del Estado Puebla, 2011), situación que limita el mercado y el precio del mismo; por esto es necesario realizar estudios que propongan alternativas de producción, con el manejo adecuado del cultivo y el uso de innovaciones tecnológicas que permitan aumentar la calidad y el rendimiento de este producto. Esta innovación tecnológica puede ser el uso de invernaderos, que aun con una inversión inicial de un 246 % más (de acuerdo con el análisis del mercado local) que la realizada en campo, representa una opción rentable para el cultivo de tomillo, porque ofrece la posibilidad de producir todo el año, reducir la incidencia de

INTRODUCTION

Thyme (*Thymus vulgaris* L.), is a species belonging to the *Lamiaceae* family, that is fresh and dry marketed, mainly for the essential oil extraction, which greater quantity is located in the leaves.

Although the essential oil accumulation and biosynthesis of this species is genetically controlled (Baranauskiene *et al.*, 2003) it is also affected by environmental factors like temperature, light (Udagawa, 1995; Curioni *et al.*, 2002) and geographic variations (Figueiredo *et al.*, 2008). It is demonstrated that agricultural conditions like fertilization and sowing density, have influence on the quantity and quality of the thyme essential oil (Naghdi *et al.*, 2004). Another factor that has influence on the secondary metabolism production is the phenological stage, being flowering stage of greater accumulation (McGimpsey *et al.*, 1994). In hydroponic crops the essential oil concentration has been influenced by the concentration of phosphorus (Shinohara *et al.*, 1992) and nitrogen (Ichimura *et al.*, 1992), as the nutrient solution temperature (Udagawa, 1994).

This species essential oil compounds includes carvacrol and thymol, besides it may contain p-cymene, p-terpinene, linalool, borneol, geraniol and caryophyllene (Baranauskiene *et al.*, 2003; Naghdi *et al.*, 2004). These compounds give smells, tastes and chemical properties that place thyme as a highly demanded plant in the food, pharmaceutical, perfume and cosmetic industries (Muñoz, 2000).

There are evidences about the thyme essential oil properties, being the most important its antispasmodic, antitussive, antimicrobial, antifungal actions and antioxidant properties (Van Den Broucke and Lemli, 1981; Paster *et al.*, 1995; Hammer *et al.*, 1999).

In Mexico it is cultivated in soil in the states of Puebla, San Luis Potosi and Baja California Sur, barely covering an area of 11 ha (2.0, 4.5 and 5.25 ha, respectively) with yield that don't exceed the 2.68 t·ha⁻¹ of dry product (SIAP; 2009); these are crops which main problem is the lack of irrigation, a nutrition inappropriate use and sowing density, that has effect in the obtained product yield and quality and in the essential oil (Secretaría de Desarrollo Agropecuario del estado de Puebla, 2011) situation that restricts the market and the price; therefore is needed to carry out studies that suggest production alternatives, with the crop appropriate management and the technological innovation use which allow to increase quality and yield of this product. This technological innovation can be the use of greenhouses, that even with an initial investment of 246 % more (according to the local market analysis) than the one made on open field, represents a profitable alternative for thyme crop, because it provides the possibility to produce year around, reducing the effect of some pests and diseases, as well as the use of agrichemicals, that complemented with a hydroponic system allows to obtain a high quality

algunas plagas y enfermedades, así como el uso de agroquímicos, que complementado con un sistema hidropónico permite obtener producto de alta calidad con rendimientos que superan los obtenidos en campo. De acuerdo con la información precedente, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la calidad y contenido del aceite esencial de tomillo cultivado en invernadero bajo un sistema hidropónico abierto en diferentes densidades de siembra y concentraciones de soluciones nutritivas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Semillas de tomillo de la casa comercial Hortaflor® fueron sembradas en un sustrato comercial orgánico (Peat Moss), colocado en charolas germinadoras de 200 cavidades. Los riegos se hicieron con agua corriente dos veces al día, hasta la aparición de las primeras hojas verdaderas; a partir de esa etapa se realizó una vez al día con solución nutritiva Steiner al 50 % hasta el momento del trasplante, que se llevó a cabo cuando las plántulas tuvieron cuatro o cinco hojas verdaderas, 45 días después de la siembra.

El sistema hidropónico consistió en ocho camas de cultivo de 2.10 m de largo x 0.60 m de ancho x 0.20 m de alto, divididas con placas de unicel en tres partes iguales. Cada una de estas partes constituyó una unidad de siembra (0.42 m²), donde se colocaron las plántulas de tomillo en función de las densidades de siembra estudiadas D1, D2 o D3 (14, 28 y 71 plantas·m⁻², respectivamente). Catorce plantas por metro cuadrado es la densidad de siembra usada por los productores en un cultivo convencional a cielo abierto.

Como sustrato se utilizó tezontle (desinfectado con hipoclorito de sodio al 5 %), en dos tamaños de partícula que se distribuyeron en una capa inferior de 4 cm de altura, con tezontle de un diámetro aproximado de 2 cm, sobre la que se colocó una capa de 16 cm de tezontle de 3 a 5 mm de diámetro.

Se utilizó la solución nutritiva Steiner universal (Steiner, 1984) al 100 o 50 % (S1 y S2, respectivamente); el pH de las soluciones se mantuvo en 5.5. Los riegos se aplicaron por goteo, durante cinco minutos cuatro veces al día, teniendo un gasto diario de 1.33 L de solución nutritiva para cada unidad de siembra (0.42 m²).

El diseño experimental fue completamente al azar con cuatro repeticiones y un arreglo factorial 3x2. La unidad experimental estuvo constituida por tres plantas por densidad.

La cosecha se realizó al inicio de la floración (80 días después del trasplante). Las plantas fueron extraídas completamente de las camas teniendo cuidado de no romper las raíces. Se midieron la altura y el diámetro del tallo principal, con una regla graduada en milímetros y un vernier digital (Caliper, USA), respectivamente. Las plantas se diseccionaron con una navaja, y la parte aérea fue inmediatamente pesada en una balanza digital (ACCULAB

product with yields that exceed the ones obtained on open field. According to the previous information, the aim of the present work was to evaluate thyme essential oil quality and content cultivated in greenhouses under an open hydroponic system with different sowing densities and nutrient solutions concentrations.

MATERIALS AND METHODS

Thyme seeds of the Hortaflor supplier were sown in a commercial organic substrate (Peat Moss), placed on germination trays of 200 cavities. The irrigation was with common water two times a day, until the first true leaves appear; from this stage it was done one time a day with Steiner nutrient solution at 50 % until the time of transplantation, which was carried out when the seedlings had four of five true leaves, 45 days after sowing.

The hydroponic system was conformed by eight growing beds of 2.10 m length x 0.60 m width x 0.20 m height, separated into three equal parts with Styrofoam plates. Each one of these parts formed a crop unit (0.42 m²), where the thyme seedlings D1, D2 or D3 were placed (14, 28 and 71 plants·m⁻², respectively). Fourteen plants per square meter is the sowing density used by the growers in case of a conventional open field crop.

As substrate *tezontle*, red volcanic sand, (disinfected with sodium hypochlorite at 5) was used in two particle sizes that are distributed in a lower layer of 4 cm of height, with *tezontle* of an approximately diameter of 2 cm, on which a layer of 16 cm of *tezontle* of 3 and 5 mm of diameter was placed.

The universal Steiner nutrient solution was used (Steiner, 1984) at 100 % or 50 % (S1 and S2, respectively); the pH of the solutions was kept at 5.5. Irrigation was carried out by dripping, with a frequency of five minutes four times a day, having a daily rate of 1.33 L of nutrient solution for each crop unit (0.42 m²).

The experimental design was complete randomized with four replicates and one factorial experiment 3x2, the experimental unit was made up of 3 plants per density.

The harvest was carried out at the beginning of flowering (80 days after transplanting). The plants were completely harvested from the growing beds avoiding any damage of the roots. The main stem height and diameter were measured using a millimeter graduated ruler and a digital vernier (Caliper, USA), respectively. The plants were dissected with a pocket knife, and the aerial part was immediately weighted with a digital scale (ACCULABVI-3mg, USA). The leaves number and the total leaf area were determined with a leaf area integrator trademark LI-COR-MODLI-3100. The leaves and stems of each harvested plant were placed in brown paper bags to be dried in an oven LC-Oven LAB-Line for four or five days, at a maximum temperature of 25 °C, until a constant weight was obtained.

VI-3mg, USA). Se determinó el número de hojas y el área foliar total con un integrador de área foliar marca LI-COR-MODLI-3100. Las hojas y tallos de cada planta cosechada se colocaron en bolsas de papel estraza para ser secados en una estufa LC-Oven LAB-Line por cuatro o cinco días, a una temperatura máxima de 25 °C, hasta que se obtuvo un peso constante.

La extracción de aceites esenciales se realizó por destilación con arrastre de vapor de agua, de 35 g de materia seca obtenida por el secado en sombra de tres plantas por cada densidad de siembra. La composición química del aceite esencial de tomillo se obtuvo al analizar las muestras en un cromatógrafo de gases (HP 6890) acoplado a un espectrómetro de masas (HP-5973). Los componentes del aceite se identificaron comparando su espectro de masas con la base de datos del espectrómetro. El análisis se hizo siguiendo la metodología de Aligiannis *et al.* (2001) utilizando carvacol y timol como estándares.

Con los datos obtenidos se realizó análisis de varianza y comparación de medias de Tuckey ($P \leq 0.05$), analizando los datos con el paquete estadístico SAS, versión 6.1 (SAS, 1994).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores de altura de planta fueron influidos por la interacción entre densidad de siembra y la solución nutritiva (Cuadro 1). Los valores obtenidos con las plantas de los tratamientos S1 D2, S1 D3 y S2 D1 fueron ligeramente mayores al resto de las otras (Cuadro 2); se observó poca diferencia estadística entre todas las plantas de los tratamientos, a excepción del tratamiento S1 D1, que presentó los valores más bajos.

CUADRO 1. Valor de p del análisis de varianza para altura final de plantas de tomillo cultivadas con dos soluciones nutritivas (S1:100 % y S2:50 %) y tres densidades de siembra. (D1: 14, D2: 28 y D3: 71 pl·m²).

TABLE 1. p value of the analysis of the variance for thyme plants final height cultivated with two nutrient solutions (S1:100 % and S2:50 %) and three sowing densities. (D1:14, D2:28 and D3:71 pl·m²).

Fuente de variación	Altura de planta
Densidad	0.0883
Solución	0.1003
Solución x Densidad	0.0027*

* Significancia con $P \leq 0.05$

*Significance with $P \leq 0.05$

Los resultados obtenidos indican que el requerimiento nutricional de la especie puede ser cubierto tanto con la solución al 100 como al 50 %, y que la competencia establecida al incrementar la densidad de siembra provocó un aumento en la altura de las plantas con la solución al 100 %, mientras que con la solución al 50 % esta especie no

CUADRO 2. Altura final de plantas de tomillo cultivadas con dos soluciones nutritivas Steiner (S1:100 y S2:50 %) y tres densidades de siembra (D1: 14, D2: 28 y D3: 71 pl·m²) ± error estándar.

TABLE 2. Thyme plants final height cultivated with Steiner two nutrient solutions (S1:100 and S2:50%) and three growing densities (D1:14, D2:28 and D3:71 pl·m²) ± standard error.

Tratamiento	Altura(cm)	± Error Estándar
S1 D1	29.72c ^z	0.22
S1 D2	37.50a	0.34
S1 D3	36.37ab	20.59
S2 D1	34.10ab	2.02
S2 D2	32.54bc	0.55
S2 D3	31.31bc	2.39

^z Medias con letras distintas presenta significancia (Tukey $P \leq 0.05$).

^zMeans with different letters show significance (Tukey $P \leq 0.05$).

The extraction of essential oils was carried out by distillation with water vapor drag, of 35 g dry matter obtained from the shade-dried of three plants per each sowing density. The chemical composition of thyme essential oil was obtained after analysing the samples in a gas chromatograph (HP-6890) linked together to a mass spectrometer (HP-5973). The oil compounds were identified comparing their mass spectrum against the data base of the spectrum. The analysis was done following Aligiannis *et al.* (2001) methodology using carvacrol and thymol as standards.

With the obtained results the analysis of variance and the comparisons of means of Tukey ($P \leq 0.05$) were carried out, analyzing the results with a statistical package SAS, version 6.1 (SAS, 1994).

RESULTS AND DISCUSSION

The plant height values were influenced by the interaction between sowing density and nutrient solution (Table 1). The values obtained from the plants with treatments S1 D2, S1 D3 and S2 D1 were slightly greater than the rest (Table 2); small statistical difference was observed between all the treatments plants; except for the treatment S1 D1, that showed the lowest values.

The obtained results indicate that the species nutrient requirement can be provided with the solution at 100 % as at 50, and that the established competition rising sowing density caused an increase in the solution plant height at 100, meanwhile with the solution at 50 % this species wasn't able to tolerate the increment in the sowing density thereby the plants growth was reduced. According to the observations, the growing density so far recommended for the open field crop can be increased in hydroponic crops by using Steiner nutrient solution at 100 %, or keeping the lowest density with solution at 50 %, without affecting its optimal growth and development (Shalabi and Razin, 1992; Badi *et al.*, 2004).

fue capaz de tolerar el aumento en la densidad de siembra con lo que disminuyó el crecimiento de las plantas. De acuerdo con estas observaciones, la densidad de siembra hasta ahora recomendada para el cultivo a cielo abierto puede incrementarse en un cultivo hidropónico utilizando solución nutritiva Steiner al 100 %, o mantener la densidad más baja con solución al 50 %, sin afectar su óptimo crecimiento y desarrollo (Shalabi y Razin, 1992; Badi *et al.*, 2004).

Resultados opuestos han sido reportados por Udagawa (1995) en cultivos hidropónicos, al obtener incrementos en la altura de las plantas con concentraciones más altas de solución nutritiva; concentraciones inferiores al 100 % provocaron poca disponibilidad de nutrientes, ocasionando un crecimiento vegetal más lento. En un cultivo a cielo abierto (Omidbaigi y Armandi, 2002), se obtuvieron resultados similares al incrementarse la altura final de las plantas en respuesta al alto aporte de nitrógeno y fósforo.

Aunque se observó que la concentración de nutrimentos en la solución nutritiva no fue un factor limitante en el crecimiento (altura) de esta especie, sí lo fue para el crecimiento del tallo, ya que las plantas de tomillo presentaron tallos significativamente más gruesos con los tratamientos S1 D2 y S1 D3 seguidas por S1 D1, mientras que las plantas que se desarrollaron con la S2 tuvieron tallos más delgados (Cuadro 3). Badi *et al.* (2004) concluyeron que la reducción en el diámetro del tallo puede ser causada por el incremento en la densidad de siembra, situación que se observó en el presente estudio con S2 D2 y D3.

CUADRO 3. Comparación de medias (Tukey $P \leq 0.05$) del diámetro final del tallo principal de plantas de tomillo cultivadas con dos soluciones nutritivas (S1:100 y S2: 50 %) y tres densidades de siembra (D1: 14, D2: 28 y D3: 71 $\text{pl}\cdot\text{m}^{-2}$) \pm error estándar.

TABLE 3. Average comparison (Tukey $P \leq 0.05$) of the final diameter of the thyme plants main stem cultivated with two nutrient solutions (S1:100 and S2:50 %) and three sowing densities (D1:14, D2:28 and D3:71 $\text{pl}\cdot\text{m}^{-2}$) \pm standard error.

Tratamiento	Diámetro final del tallo principal (cm)	\pm Error Estándar
S1 D1	0.27ab ^z	0.04
S1 D2	0.32a	0.05
S1 D3	0.29a	0.01
S2 D1	0.23bc	0.17
S2 D2	0.19c	0.09
S2 D3	0.22bc	0.20

^z Medias con letras distintas presenta significancia (Tukey $P \leq 0.05$).

*Means with different letters show significance (Tukey $P \leq 0.05$).

Los dos factores estudiados (densidad, solución y su interacción) ejercieron un efecto significativo ($P \leq 0.05$) sobre el peso fresco de las plantas (Cuadro 4). No se presentó diferencia estadística en ningún tratamiento (Figura 1); sin embargo, el valor más alto obtenido fue 219.68 g (S1 D2), que supera los 135.5 g reportados por Udagawa

CUADRO 4. Valor de p del análisis de varianza del peso fresco de plantas de tomillo cultivadas con dos soluciones nutritivas (S1:100 y S2: 50 %) y tres densidades de siembra (D1: 14, D2: 28 y D3: 71 $\text{pl}\cdot\text{m}^{-2}$).

TABLE 4. p value of the analysis of the variance of thyme plants dry weight cultivated with two nutrient solutions (S1:100 and S2:50 %) and three sowing densities (D1:14, D2:28 and D3:71 $\text{pl}\cdot\text{m}^{-2}$).

Fuente de variación	Peso fresco parte aérea
Densidad	0.0546
Solución	0.0143*
Solución x Densidad	0.0071*

* Significancia con $P \leq 0.05$

*Significance with $P \leq 0.05$

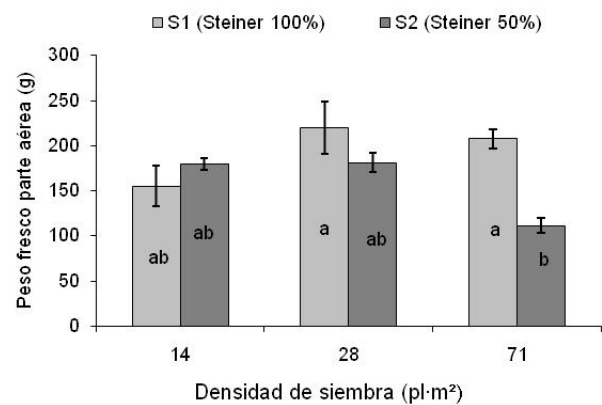


FIGURA 1. Peso fresco de tomillo, cultivado con dos soluciones nutritivas (Steiner 100 y 50 %) y tres densidades de siembra (D1: 14, D2: 28 y D3: 71 $\text{pl}\cdot\text{m}^{-2}$) \pm error estándar. Medias con letras diferentes presentan significancia (Tukey $P \leq 0.05$).

FIGURE 1. Thyme fresh weight cultivated with two nutrient solutions (Steiner 100 and 50 %) and three sowing densities (D1:14, D2:28 and D3:71 $\text{pl}\cdot\text{m}^{-2}$) \pm standard error. Means with different letters show significance (Tukey $P \leq 0.05$).

Opposite results have been reported by Udagawa (1995) in hydroponic crops, when obtaining increments in plants height using higher nutrient solution concentrations; concentrations lower than 100 gave rise to limited nutrients availability, leading to a slower vegetative growth. In an open field crop (Omidbaigi and armandi, 2002), similar results were obtained when increasing the plants finally height as a response to the high nitrogen and phosphorus supply.

Although it was observed that the nutrients concentration in the nutrient solution wasn't a limiting factor in this species growth (height), it was for the stem growth, since the thyme plants showed significantly thicker stems with the treatments S1 D2, and S1 D3 followed by S1 D1, meanwhile the plants that were developed with the S2 had thinner stems (Table 3). Badi *et al.*, (2004) concluded that the reduction in the stem diameter can be caused by the

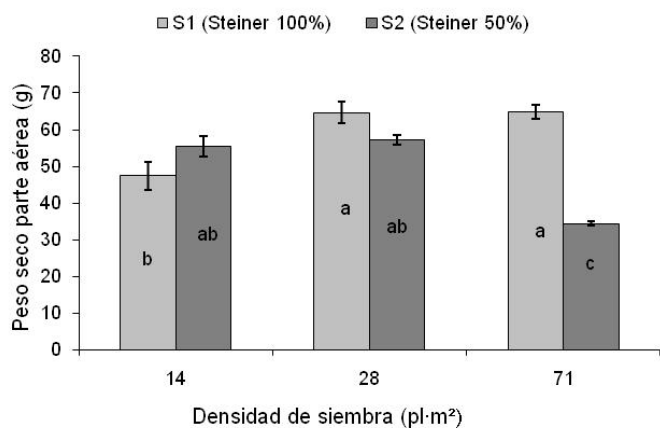


FIGURA 2. Peso seco de tomillo, cultivado con dos soluciones nutritivas (Steiner 100 y 50 %) y tres densidades de siembra (D1: 14, D2: 28 y D3: 71 pl·m⁻²) ± error estándar. Medias con letras diferentes presentan significancia (Tukey $P \leq 0.05$).

FIGURE 2. Thyme dry weight, cultivated with two nutrient solutions (Steiner 100 and 50 %) and three sowing densities (D1:14, D2:28 and D3:71 pl·m⁻²). ± standard error. Means with different letters show significance (Tukey $P \leq 0.05$).

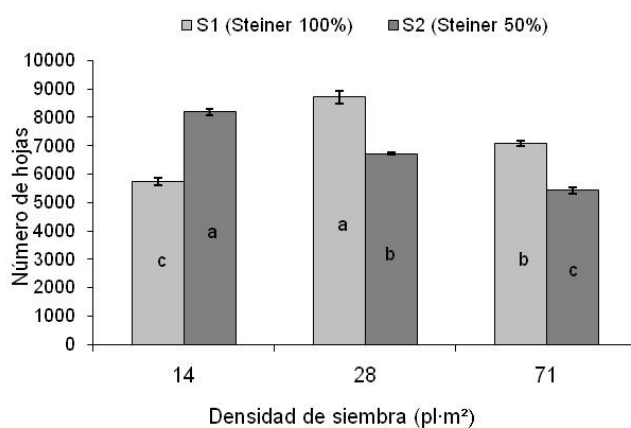


FIGURA 3. Número de hojas de tomillo cultivado con dos soluciones nutritivas Steiner (100 y 50%) y tres densidades de siembra (D1: 14, D2: 28 y D3: 71 pl·m⁻²) ± error estándar. Medias con letras diferentes presentan significancia (Tukey $P \leq 0.05$).

FIGURE 3. Thyme leaves number cultivated with two Steiner nutrient solutions (100 and 50 %) and three sowing densities (D1:14, D2:28 and D3:71 pl·m⁻²). ± standard error. Means with different letters show significance (Tukey $P \leq 0.05$).

(1995). Al cultivarse bajo invernadero en un sistema hidropónico, se pueden obtener al año 18.45 kg·m⁻² de tomillo fresco (219.68 g x 28 plantas·m⁻² x 3 ciclos al año), mientras que a campo abierto sólo se obtienen 3.79 kg·m⁻² al año (135.5 g x 14 plantas·m⁻² x 2 ciclos al año), ofreciendo este sistema de cultivo un incremento en el rendimiento de peso fresco del 386.8 %, comparado con el rendimiento obtenido en campo. Situación similar se presentó en la variable de peso seco de la parte aérea (Figura 2), ya que los valores más altos correspondieron a los tratamientos S1 D2, S1 D3, S2 D1 y S2 D2 sin diferencias estadísticas; en ambas variables el tratamiento S2 D3 presentó los valores más bajos, debido a la alta competencia por espacio, agua, luz y nutrientes. El rendimiento de peso seco obtenido en México apenas alcanza las 2.68 t·ha⁻² anuales (SIAP, 2009), mientras que con este sistema utilizando S1 D2, se incrementa hasta 54.27 t·ha⁻¹ (64.61 g x 28 plantas x 3 ciclos al año x 10, 000 m²), que multiplicado por \$ 22,992.14, si el producto se exporta (SIAP, 2009), representa una ganancia anual de \$ 1,193,940.00; por lo tanto, el cultivo bajo invernadero supera la ganancia económica a la obtenida en cultivos en campo.

No en todos los casos el incremento en el peso fresco o seco fue producto del mayor número de hojas y área foliar; esta situación se presentó únicamente para los tratamientos S1 D2 de ambas variables que presentaron los valores más altos de peso fresco y seco. El número de hojas y área foliar se modificaron por la densidad de siembra, solución nutritiva y la interacción entre ambas variables (Cuadro 5). El mayor número de hojas se presentó en los tratamientos S1 D2 y S2 D1, con un promedio de 8,711 y 8,192 hojas, respectivamente (Figura 3). Por otro lado, el

increase in the growing density, situation that was observed in the present study with S2 D2 and D3.

The two studied factors (density, solution and interaction) had a significant effect ($P < 0.05$) on the plants fresh weight (Table 4). There wasn't statistical difference in any treatment (Figure 1); however, the highest value was 219.68 g (S1 D2) that exceeds the 135.5 g reported by Udagawa (1995). When cultivating in a greenhouse with hydroponic system, it is possible to obtain in a year 18.45 kg·m⁻² of fresh thyme (219.68 g x 28 plants·m⁻² x 3 cycles in a year), meanwhile in open field it was only obtained 3.79 kg·m⁻² in a year (135.5 g x 14 plants·m⁻² x 2 cycles in a year) this crop system offered an increase in the fresh weight yield of 386.8 % compared with the yield obtained in the field. A similar situation was observed in the dry weight variable of the aerial part (Figure 2), since the highest values belonged to treatments S1 D2, S1 D3, S2 D1 and S2 D2 without statistical differences; in both variables the treatment S2 D3 showed the lowest values, due to the high competence for space, water, light and nutrients. The dry weight yield obtained in Mexico barely reaches the annual 2.68 t·ha⁻¹ (SIAP, 2009), in contrast with this used system S1 D1, increases until 54.27 t·ha⁻¹ (64.61 g x 28 plantas x 3 cycles in a year x 10,000 m²), that multiplied per \$22,992.14, if the product is exported (SIAP, 2009) represents an annual profit of \$1,193,940.00; therefore, the crop in greenhouse overcome the economic profit to the obtained in the case of open field crops.

Not in all cases the increment in the fresh and dry weight was the result of the greater number of leaves and the leaf area; this situation was only presented for

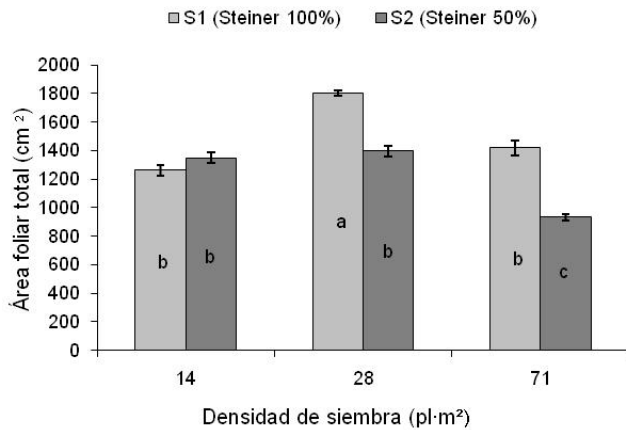


FIGURA 4. Área foliar de tomillo, cultivado con dos soluciones nutritivas Steiner (100 y 50%) y tres densidades de siembra (D1: 14, D2: 28 y D3: 71 pl·m⁻²) ± error estándar. Medias con letras diferentes presentan significancia (Tukey $P \leq 0.05$).

FIGURE 4. Thyme leaf area, cultivated with two Steiner nutrient solutions (100 and 50 %) and three sowing densities (D1:14, D2:28 and D3:71 pl·m⁻²). ± standard error. Means with different letters show significance (Tukey $P \leq 0.05$).

área foliar total presentó una tendencia similar al número de hojas, ya que el valor más alto se obtuvo con S1 D2 (1801.35 cm²), significativamente diferente al resto de los tratamientos (Figura 4).

CUADRO 5. Valor de p del análisis de varianza de número de hojas y área foliar total de plantas de tomillo cultivadas con dos soluciones nutritivas (S1 y S2: 100 y 50 %) y tres densidades de siembra (14, 28 y 71 pl·m⁻²).

TABLE 5. p value of the thyme plants total leaf area and number of leaves analysis of variance cultivated with two nutrient solutions (S1 and S2:100 and 50 %) and three sowing densities (14, 28 and 71 pl·m⁻²).

Fuente de variación	Número hojas	Área foliar total
Densidad	< 0.0001	< 0.0001
Solución	0.0015	< 0.0001
Solución*Densidad	< 0.0001	< 0.0001

* Significancia con $P \leq 0.05$

*Significance with $P \leq 0.05$

Aunque se ha observado que el aporte de nutrimentos es un factor que influye significativamente sobre el peso fresco y seco de la planta (Cox, 1992; Udagawa, 1995; Omidbaigi y Arjmandi, 2002), las observaciones realizadas en este trabajo muestran lo contrario, el tomillo es un especie que puede alcanzar su máximo rendimiento con un aporte total o la mitad de nutrientes que las soluciones nutritivas estándares ofrecen. Esta especie se desarrolla favorablemente bajo cultivo hidropónico y en densidades

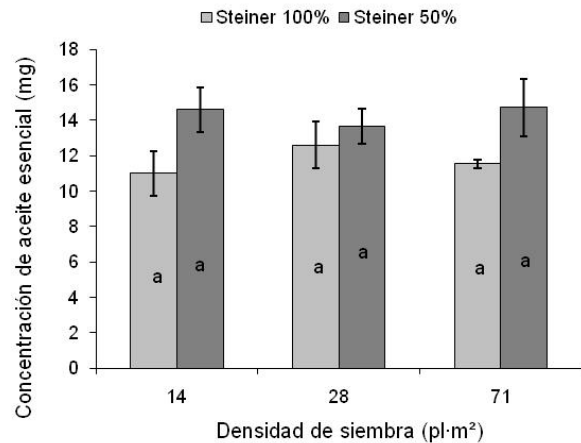


FIGURA 5. Concentración de aceite esencial en 1 g de muestra seca de plantas de tomillo cultivadas con dos soluciones nutritivas Steiner (100 y 50%) y tres densidades de siembra (D1: 14, D2: 28 y D3: 71 pl·m⁻²) ± error estándar. Medias con letras diferentes presentan significancia (Tukey $P \leq 0.05$).

FIGURE 5. Essential oil concentration in 1 g of thyme plants dry sample cultivated with two Steiner nutrient solutions (100 and 50 %) and three and three sowing densities (D1:14, D2:28 and D3:71 pl·m⁻²). ± standard error. Means with different letters present significance (Tukey $P \leq 0.05$).

the treatments S1 D2 of both variables that showed the highest values of dry and fresh weight. The number of leaves and the leaf area were changed per growing density, nutrient solution and the interaction between both variables (Table 5). The biggest number of leaves was obtained in treatments S1 D2 and S2 D1, with an average of 8,711 and 8,192 leaves, respectively (Figure 3). On the other hand, the total leaf area showed a similar trend to the number of leaves, since the highest value was obtained from S1 D2 (1801.35 cm²), significantly different to the rest of the treatments (Figure 4).

Although it has been observed that the nutrients contribution is a factor that has significantly influence on the plant fresh and dry weight (Cox, 1992; Udagawa, 1995; Omidbaigi and Arjmandi, 2002), the observations carried out in this work show the opposite, the thyme is a species that can reach its highest yield with a total contribution or half nutrients than the ones provided by the standard nutrient solutions. This species favorably develops under hydroponic system and in greater growing densities to the normally recommended for open field crops.

The identified essential oil concentration, oscillated between 11.00 and 14.72 mg per dry sample gram, higher values at 165 in relation to the 4.15 mg founded by Shinohara *et al.* (1992), although the means comparison didn't show significant differences among the evaluated treatments (Figure 5). On the other hand, Ichimura *et al.* (1992), Shalaby and Razin (1992), Shinohara *et al.* (1992) y Baranauskiene *et al.* (2003) establish that the essential oil concentration neither is influenced by the mineral fertilization nor even by

de siembra mayores a las usualmente recomendadas para su cultivo a cielo abierto.

La concentración de los aceites esenciales identificados, osciló entre 11.00 y 14.72 mg por gramo de muestra seca, valores superiores hasta en un 165 en relación a los 4.15 mg encontrados por Shinohara *et al.* (1992), aunque la comparación de medias no arrojó diferencias significativas entre los tratamientos evaluados (Figura 5). Por otro lado, Ichimura *et al.* (1992), Shalaby y Razin (1992), Shinohara *et al.* (1992) y Baranauskiene *et al.* (2003) establecen que la concentración de aceite esencial no está influida por la fertilización mineral ni el espaciamiento entre plantas, mientras que Udagawa (1995) y Omidbaigi y Arjmandi (2002) informaron que la concentración de aceites sí está determinada por el aporte de nutrimentos. Eun Joo *et al.* (1999) hacen énfasis en que se puede presentar una correlación negativa entre la nutrición mineral y la concentración de aceites esenciales. Badi *et al.* (2004) informaron que el espaciamiento no tuvo efecto sobre la concentración de aceite esencial, pero observaron este incremento por el aumento de peso seco por unidad de área, resultados similares a los obtenidos en esta investigación.

En las muestras analizadas con el cromatógrafo de gases, se observaron los mismos componentes del aceite esencial en todos los tratamientos. En total se obtuvieron cuatro componentes (ρ -cimeno, α -terpineno, carvacrol y timol), de los cuales el más abundante fue timol (23.331 %) (Cuadro 6); estos resultados concuerdan con

plant spacing, meanwhile Udagawa (1995) and Omidbaigi and Arjmandi (2002) reported that the oils concentration is determined by the nutrients contribution. Eun Joo *et al.* (1999) emphasize that a negative correlation between the mineral nutrition and the essential oils concentration can be presented. Badi *et al.* (2004) informed that the spacing on the essential oil concentration had no effect, but this increment was observed by the dry weight increase per unit area, which are similar results to the ones obtained in this research.

In the analyzed samples with a gas chromatograph, in all the treatments the same essential oil components were observed. In total 4 components were obtained (ρ -cymene, α -terpinene, carvacrol and thymol) of which the most abundant was thymol (23.331 %) (Table 6); these results are similar to those reported by Omidbaigi and Arjmandi (2002) who indicate that thymol was the principal essential oil component of this species. As result of the carried out analysis, it was observed that carvacrol was present in all the samples although in low concentration (1.10 %), nevertheless there is no evidence that this component has the responsibility of a high amount of thymol, authors like D'Auria *et al.* (2005) have found a connection between thymol production and carvacrol presence or absence. Without question is possible to recommend the system thyme growing used in the present work, for the production of high quality and very profitable plants for the industry that works in the essential oil extraction.

CUADRO 6. Compuestos mayoritarios en el aceite esencial de tomillo, cultivada con dos soluciones nutritivas (Steiner al 100 y 50%) y tres densidades de siembra (D1: 14, D2: 28 y D3: 71 pl·m⁻²).

Compuesto	Tiempo retención (min)	Área %
ρ -cymene	9.947	7.361
α -terpinene	11.294	4.942
Thymol	19.910	23.331
Carvacrol	20.229	1.100

Omidbaigi y Arjmandi (2002), quienes indican que el timol fue el componente mayoritario del aceite esencial de esta especie. Como resultado del análisis realizado, se observó que carvacrol estaba presente en todas las muestras aunque en una concentración baja (1.10 %), y no obstante que no se tienen evidencias de que este compuesto sea el responsable de la alta cantidad de timol, autores como D'Auria *et al.* (2005) han encontrado relación entre la producción de timol y la presencia o ausencia de carvacrol. Sin duda alguna es posible recomendar el cultivo de tomillo bajo el sistema utilizado en este trabajo, para la producción de plantas de alta calidad y muy redituables para la industria que se dedica a la extracción del aceite esencial.

CONCLUSIONS

The hydroponic crop under greenhouses for thyme, with a higher growing density to the one used in open fields (S1 D1), increased the essential oil contents obtained per m², as well as, the high percentage of found thymol indicates that the quality wasn't affected. Hence, the proposed crop system is a more profitable option that the open field crop.

End of English Version

CONCLUSIONES

El cultivo hidropónico bajo invernadero de tomillo, con una densidad de siembra mayor a la utilizada en campo (S1 D2), incrementó el contenido de aceite esencial obtenido por m²; además, el alto porcentaje de timol encontrado indica que la calidad no se vio afectada. Por lo tanto, este sistema de cultivo es una opción más viable que su cultivo a cielo abierto.

LITERATURA CITADA

- ALIGIANNIS N.; KALPOUTZAKIS E.; MITAKU S.; CHINOU B. 2001. Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. *J. Agric. Food Chem.* (49): 4168-4170.
- BADI H.; YAZDANI D.; MOHAMMAD S.; NAZARI F. 2004. Effects of spacing and harvesting time on herbage yield and quality/quantity of oil in thyme, *Thymus vulgaris* L. *Science Direct* 19: 231-236.
- BARANAUSKIENE R.; VENSKUTONIS R.; VISKELIS P.; DAMBRAUSKIENE E. 2003. Influence of nitrogen fertilizers on the yield and composition of thyme (*Thymus vulgaris*). *J. Agric. Food Chem.* 51: 7751-7758.
- COX D. 1992. Fertilizing herbs. *The Herb, Spice, and Medicinal Plant Digest* 10: 1-5.
- CURIONI A.; GARCÍA M.; ROLANDO A.; ALFONSO W.; ARIZIO O. 2002. Producción de orégano (*Origanum vulgare* L.) y tomillo (*Thymus vulgaris* L.) en el centro-oeste Bonaerense. *Acta Hort.* (ISHS) 569: 281-287.
- D'AURIA M.; MAURIELLO G.; MARINO R.; RACIOPPI R. 2005. Composition of volatile fractions from *Thymus*, *Origanum*, *Lavandula* and *Acinos* species. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants* 8: 36-51.
- EUN-JOO S.; KUEN-WOO P.; KWAN-WOO P. 1999. Effect of different concentrations of nutrient solutions on the growth, yield and quality of basil. *Acta Hort.* (ISHS) 483: 193-198.
- FIGUEIREDO A.; BARROSO J.; PEDRO L.; SCHEFFER J. 2008. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour and Fragrance Journal* 23: 213-226.
- HAMMER K.; CARSON C.; RILEY T. 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J. Appl. Microbiol.* 86: 985-990.
- ICHIMURA M.; IKUSHIMA M.; MIYAZAKI T.; KIMURA M. 1992. Effect of phosphorus on growth and concentration of mineral elements and essential oils of sweet basil leaves. *Acta Hort.* (ISHS) 396: 195-201.
- McGIMPSEY J.; DOUGLAS M.; VAN KLINK J.; BEAUREGARD D.; PERRY N. 1994. Seasonal variation in essential oil yield and composition from naturalized *Thymus vulgaris* L. in New Zealand. *Flavor Fragrance* 9:347-352.
- MUÑOZ L. 2002. *Plantas Medicinales y Aromáticas: Estudio, Cultivo y Procesado*. Ed. Mundi-Prensa. España. 365p.
- NAGHDI B.; YAZDANI D.; MOHAMMAD S.; NAZARI F. 2004. Effects of spacing and harvesting time on herbage yield and quality/quantity of oil in thyme, *Thymus vulgaris* L. *Industrial Crops and Products* 19: 231-236.
- OMIDBAIGI R.; ARJMANDI A. 2002. Effects of NP supply on growth, development, yield and active substances of garden thyme (*Thymus vulgaris* L.). *Acta Hort.* (ISHS) 576: 263-265.
- PASTER N.; MENASHEROW M.; RAVID U.; JUVEN B. 1995. Antifungal activity of oregano and thyme essential oils applied as fumigants against fungi attacking stored grain. *J. Food Prot.* 58:81-85.
- SAS Institute. 1994. *The SAS system for Windows*. Release 6.10. SAS institute. Cary, NC.
- SECRETARÍA DESARROLLO RURAL ESTADO PUEBLA. 2011. Cadenas productivas: especias aromáticas (Consultado 24 de mayo de 2011).
http://puebla.gob.mx/index.php?option=com_phocadownload&view=category&id=35%3Aespecias-aromaticas&Itemid=319&limitstart=10
- SHALABY A.; RAZIN A. 1992. Dense cultivation and fertilization for higher yield of thyme (*Thymus vulgaris* L.). *J. Agrom. Crop Sci.* 168: 243-248.
- SHINOHARA Y.; TAKANO S.; MARUO T.; ITO T. 1992. Effect of phosphorus concentration in nutrient solution on the growth of some herbs. *Tech Bull. Fac. Hort. Chiba Univ.* 46: 241-247.
- SIAP. 2009. Anuario estadístico de la producción agrícola. http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=350 (Consultado 30 de marzo de 2011).
- STEINER, A. A. 1984. *The Universal Nutrient Solution*. 6th Int. Cong. Soilless Cult. pp. 633-649.
- UDAGAWA Y. 1994. Some responses of herbs, grown in NFT, to the temperature of nutrient solution. *J. Japan. Soc. Hort. Sci. Suppl.* 1: 372-373.
- UDAGAWA Y. 1995. Some response of dill (*Anethum graveolums*) and thyme (*Thymus vulgaris*), grown in hydroponic, to the concentration of nutrient solution. *Acta Hort.* (ISHS) 396: 203-210.
- VAN DEN BROUCKE C.; LEMLI J. 1981. Pharmacological and chemical investigation of thyme liquid extracts. *Planta Med* 41: 129-135.