



**Universidad de Murcia
Facultad de Biología
Departamento de Biología Vegetal
(Fisiología Vegetal)**



**Instituto Murciano de Investigación
y Desarrollo Agrario y Alimentario**

**INFLUENCIA DEL RIEGO SOBRE EL RENDIMIENTO
EN CULTIVO DE TRES ESPECIES DEL GÉNERO
THYMUS. ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD
INTRAESPECÍFICA**

**Memoria de Tesis presentada por Rosa María Martínez Rodríguez
para optar al grado de Doctor**

Murcia, 2008

A mis padres

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer a mi familia el cariño y el apoyo incondicional que me han prestado a lo largo de estos años. Si he llegado hasta aquí, ha sido gracias a ellos.

También agradezco profundamente a mis directores, José Antonio y María José, la infinita paciencia que han tenido conmigo. Gracias por no haberos comportado nunca como jefes, sino como compañeros, y lo que es mucho más importante, como amigos.

A todos mis compañeros del Departamento de Plantas Aromáticas y Extractos, los que estaban y los que están. A Aranza, compañera y amiga con quien siempre he podido contar, y que me ha ayudado más de una vez en el laboratorio (y fuera de él). A Inma, cuyo calor y amistad siempre puedes sentir a tu lado, animándote. A Vicente, nunca agradeceré lo suficiente su trabajo y experiencia en las labores de campo. A Fran, trabajador incansable, siempre dispuesto a echar una mano en todo. A Cristina, que aunque se incorporó al equipo algo más tarde, nunca ha dejado de alentarme. A José Antonio (de Cieza), con quien he compartido coche, y cuyo trabajo en la parcela ha permitido llevar a buen puerto este proyecto. A David, por no molestarse nunca a pesar de que lo mucho que le hemos pedido su colaboración en las traducciones. A Antonio, a quien “invadimos” parte de su laboratorio. A los últimos fichajes, Ana, Vanesa y María, que siempre me reciben con una sonrisa. Y, muy especialmente, a María, por compartir conmigo codo con codo tantas horas de campo y laboratorio, y porque sin su empuje y su tesón, nada de esto habría sido posible.

A todo el personal del IMIDA, gracias por vuestro apoyo.

Finalmente, quiero agradecer al Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) la concesión de la Beca que ha permitido la realización de esta Tesis Doctoral.

ÍNDICE

Página

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	1
I. INTRODUCCIÓN	7
I.1. CONCEPTO DE PLANTA AROMÁTICA.....	9
I.2. TAXONOMÍA DEL GÉNERO <i>THYMUS</i>	13
I.3. CARACTERIZACIÓN BOTÁNICA DEL GÉNERO <i>THYMUS</i>	16
I.3.1. Distribución geográfica.....	21
I.4. CARACTERÍSTICAS DEL ACEITE ESENCIAL.....	23
I.4.1. Definición de calidad.....	26
I.4.2. Métodos de extracción.....	27
A) Destilación.....	28
B) Extracción con disolvente (SE).....	29
C) Destilación-Extracción simultáneas (SDE).....	29
D) Extracción con fluidos supercríticos (SFE).....	30
E) Microondas.....	31
I.5. COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ACEITE ESENCIAL EN EL GÉNERO <i>THYMUS</i>	33
I.5.1. Antecedentes bibliográficos.....	38
I.5.1.1. <i>Thymus vulgaris</i> L.....	38
I.5.1.2. <i>Thymus zygis</i> Loefl. ex L.....	45
I.5.1.3. <i>Thymus hyemalis</i> Lange.....	51
I.5.1.4. <i>Thymus baeticus</i> Boiss ex Lacaíta.....	55
I.5.1.5. <i>Thymus camphoratus</i> Hoffmanns & Link.....	57
I.5.1.6. <i>Thymus mastichina</i> (L.) L.....	58
I.5.1.7. <i>Thymus piperella</i> L.....	60
I.5.1.8. <i>Thymus caespititius</i> Brot.....	62
I.5.1.9. <i>Thymus pulegioides</i> L.....	64
I.5.1.10. <i>Thymus villosus</i> L.....	65
I.5.1.11. <i>Thymus lotocephalus</i> G. López & R. Morales.....	67
I.5.1.12. <i>Thymus serpylloides</i> Bory subsp. gadorensis (Pau) Jalas.....	68

I.6. INTERÉS ECONÓMICO DEL GÉNERO THYMUS.....	69
I.6.1. Materia prima para la industria.....	69
I.6.2. Importancia del tomillo en la economía española.....	73
I.6.3. Aplicaciones. Propiedades del tomillo.....	79
I.6.3.1. Actividad antibacteriana.....	83
I.6.3.2. Actividad antioxidante.....	90
I.6.3.3. Actividad antifúngica.....	93
I.6.3.4. Actividad antiparasitaria y plaguicida.....	96
I.6.3.5. Extractos.....	97
I.7. ADAPTACIÓN AL CULTIVO.....	99
A) Condiciones.....	101
B) Producciones.....	105
II. MATERIAL Y MÉTODOS.....	109
II. 1. PARCELA EXPERIMENTAL.....	111
II. 1. 1. Características edafoclimáticas.....	112
II. 1. 2. Diseño experimental de la plantación.....	114
II. 1. 3. Cálculo de las dosis de riego.....	119
II. 2. MATERIAL VEGETAL.....	121
II. 2. 1. Recolecciones.....	123
II. 2. 2. Número y procesado de las muestras vegetales.....	125
II. 3. EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL.....	127
II. 4. ANÁLISIS DE COMPONENTES.....	130
II. 4. 1. Cromatografía de Gases (GC).....	130
II. 4. 2. Espectrometría de Masas (MS).....	131
II. 4. 3. Análisis cualitativo y cuantitativo.....	132
II. 5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	134
III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	137
III.1. THYMUS HYEMALIS.....	141
III. 1. 1. Efecto de las siegas sobre la supervivencia de las plantas.....	141

III. 1. 2. Producción de biomasa.....	143
III. 1. 2. 1. Invierno.....	143
III. 1. 2. 2. Primavera.....	148
III. 1. 2. 3. Comparativa invierno/primavera.....	151
III. 1. 3. Rendimiento en aceite esencial.....	152
III. 1. 3. 1. Invierno.....	152
A) Destilación de plantas individuales.....	153
B) Producción por hectárea.....	156
III. 1. 3. 2. Primavera.....	158
A) Destilación de plantas individuales.....	158
B) Producción por hectárea.....	160
III. 1. 3. 3. Comparativa invierno/primavera.....	162
III. 1. 4. Efecto del riego sobre la evolución del cultivo.....	163
III. 1. 4. 1. Invierno.....	164
III. 1. 4. 2. Primavera.....	168
III. 1. 5. Perfil cromatográfico del aceite esencial.....	171
III. 1. 5. 1. Efecto del riego sobre la composición química del aceite esencial.....	172
III. 1. 5. 1. 1. Invierno 2002.....	175
III. 1. 5. 1. 2. Primavera 2002.....	183
III. 1. 5. 1. 3. Comparativa invierno/primavera 2002.....	190
III. 1. 5. 1. 4. Invierno 2003.....	193
III. 1. 5. 2. Estudio de la variabilidad intraespecífica.....	200
<i>Quimiotipo fenólico, con timol > 20%</i>	203
A) Invierno.....	204
B) Primavera.....	210
C) Evolución de la influencia del riego en la síntesis de fenoles.....	215
<i>Quimiotipo fenólico, con timol ≤ 20%</i>	218
<i>Quimiotipo fenólico, con timol ≤ 20%, y precursores elevados</i>	219
<i>Quimiotipo mixto α-terpineol/timol</i>	220
<i>Quimiotipo linalol</i>	222

<i>Quimiotipo carvacrol</i>	223
<i>Quimiotipo mixto, borneol/timol</i>	224
<i>Quimiotipo mixto, linalol/timol</i>	226
<i>Quimiotipo α-terpineol</i>	228
<i>Quimiotipos cuyo porcentaje no supera el 0,92%</i>	229
III.2. THYMUS ZYGIS	235
III. 2. 1. Efecto de las siegas sobre la supervivencia de las plantas.....	236
III. 2. 2. Producción de biomasa.....	238
III. 2. 3. Rendimiento en aceite esencial.....	244
A) Destilación de plantas individuales.....	244
B) Producción por hectárea.....	248
III. 2. 4. Efecto del riego sobre la evolución del cultivo.....	250
III. 2. 5. Perfil cromatográfico del aceite esencial.....	255
III. 2. 5. 1. Efecto del riego sobre la composición química del aceite esencial.....	256
III. 2. 5. 1. 1. Primavera 2002.....	257
III. 2. 5. 1. 2. Primavera 2003.....	265
III. 2. 5. 2. Estudio de la variabilidad intraespecífica.....	273
A) Estudio de la influencia del riego en la recolección de 2004.....	275
A.1) Evolución de la influencia del riego en la síntesis de fenoles.....	280
B) Estudio de la variabilidad intraespecífica.....	282
III.3. THYMUS VULGARIS	287
III. 3. 1. Efecto de las siegas sobre la supervivencia de las plantas.....	288
III. 3. 2. Producción de biomasa.....	290
III. 3. 3. Rendimiento en aceite esencial.....	295
A) Destilación de plantas individuales.....	296
B) Producción por hectárea.....	300

III. 3. 4. Efecto del riego sobre la evolución del cultivo.....	303
III. 3. 5. Perfil cromatográfico del aceite esencial.....	307
III. 3. 5. 1. Efecto del riego sobre la composición química del aceite esencial.....	310
III. 3. 5. 1. 1. Primavera 2002.....	311
III. 3. 5. 1. 2. Primavera 2003.....	316
III. 3. 5. 1. 3. Primavera 2004.....	321
IV. CONCLUSIONES.....	329
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	335
INDICE DE TABLAS.....	363
ÍNDICE DE FIGURAS.....	369
RESUMEN/SUMMARY.....	373

ABREVIATURAS EMPLEADAS

AA	Actividad antirradicalaria
AE	Aceite esencial
ETo	Evapotranspiración de referencia de gramíneas
HS	Hoja seca
ISO	International Organization for Standardization
MF	Materia Fresca
MS	Materia Seca
m.s.n.m.	Metros sobre el nivel del mar
SDE	Destilación-Extracción Simultáneas
SFE	Extracción con Fluidos Supercríticos
UNE	Una Norma Española. Se crean en Comisiones Técnicas de Normalización, y proporcionan reglas, directrices o características, que clasifican y regulan ciertas actividades o sus resultados.

I. INTRODUCCIÓN

I. 1. CONCEPTO DE PLANTA AROMÁTICA.

Los organismos vegetales producen una gran diversidad de compuestos químicos, de los que sólo una parte se sintetiza en las rutas del *metabolismo primario*, a partir del cual se originan los componentes que intervienen en la fotosíntesis o el metabolismo respiratorio. El resto, que no son directamente esenciales para estos procesos, se forman siguiendo las vías del *metabolismo secundario*.

La habilidad para sintetizar compuestos secundarios ha sido seleccionada a través del curso de la evolución en función de las necesidades de cada planta: en la naturaleza, las plantas están expuestas a factores bióticos y abióticos con los cuales han co-evolucionado, y la presión ejercida por estos a lo largo del proceso evolutivo determina el desarrollo en los vegetales de rutas de biosíntesis a través de las cuales sintetizan y acumulan en sus órganos una gran variedad de metabolitos secundarios. Muchos de ellos desempeñan una importante función en las interacciones entre las plantas y el medio que las rodea. Por ejemplo, los aromas florales y los pigmentos se emplean para atraer polinizadores, principalmente insectos, que son capaces de distinguir entre mezclas complejas de fragancias (Dudareva y Pichersky, 2000); la síntesis de sustancias tóxicas (fitoalexinas) protege a la planta que las produce frente a patógenos y herbívoros (desde bacterias y hongos hasta insectos y mamíferos), o impide el crecimiento de las plantas vecinas (Bennet y Wallsgrove, 1994).

Los estudios acerca de la evolución y la ecología de los metabolitos secundarios han estado estrechamente unidos a causa del reconocimiento de que muchos de estos compuestos desempeñan distintas funciones ecológicas, en tanto que también muestran afinidades filogenéticas (Theis y Ler dau, 2003).

Las plantas sujetas a estrés a menudo acumulan estos metabolitos como respuesta a elicitores o señales moleculares originadas por la acción de microorganismos patógenos o un ambiente desfavorable, que la planta reconoce por medio de receptores presentes en la célula vegetal.

El reconocimiento de estos elicitores provoca una cascada de reacciones cuyo fin es activar los mecanismos de defensa de la planta (www.biojournal.net). Sería interesante conocer las vías metabólicas que permiten pasar de una señal o elicitador a la producción y acumulación de metabolitos secundarios por parte de la planta, considerando que tales compuestos son fuente de productos farmacéuticos, aditivos alimentarios, perfumes, y otros materiales para la industria (Zhao *et al.*, 2005).

La manipulación genética de las rutas que conducen a la síntesis de estos productos naturales, con el fin de conseguir la mejora de la calidad las plantas o su resistencia a diferentes tipos de estrés, ha estado a menudo limitada por un escaso conocimiento acerca de su bioquímica, y por la necesidad de coordinar la regulación de múltiples actividades génicas (Dixon, 2005).

Así, aunque la mayoría de tales rutas aún no se conocen, posiblemente existen cientos de miles de enzimas diferentes implicadas en el metabolismo secundario de las plantas. En muchos casos, la síntesis de múltiples productos puede ser catalizada por una única enzima, bien a partir de diferentes sustratos o, más raramente, a partir del mismo sustrato. Sin embargo, en la mayoría de los casos que han sido investigados, las enzimas del metabolismo secundario de las plantas son específicas para un sustrato dado y generan un sólo producto (Pichersky y Gang, 2000).

Se estima que el genoma vegetal contiene entre 20.000 y 60.000 genes, y quizás entre un 15 y un 25% de esos genes están implicados en el metabolismo secundario. El genoma de una especie vegetal concreta codifica únicamente una pequeña fracción de todas las enzimas que

serían requeridas para sintetizar el conjunto completo de metabolitos secundarios encontrados en el Reino Vegetal.

Todo lo expuesto tiene relación con la presente memoria en lo que se refiere a la definición de planta aromática, medicinal y condimentaria, ya que estas plantas se caracterizan por la producción, a partir del metabolismo secundario, de una serie de componentes denominados *principios activos*, con aplicaciones en el campo de la medicina, industria aromática e industria alimentaria. Dichos componentes son la base para el control de rendimiento y calidad de productos cultivados y el principal criterio para su selección y mejora.

Se define como principio activo una sustancia contenida en un fármaco o preparado (magistral), por la cual dicho fármaco adquiere su propiedad medicinal.

En el caso de las plantas aromáticas, sus principios activos están constituidos, total o parcialmente, por *aceites esenciales* que confieren a la planta, a su extracto, o a los productos con los que se mezcle, un aroma agradable al olfato (Sotomayor, 1998).

Tradicionalmente se consideran principios activos tanto el aceite esencial como el componente fundamental y característico, en estado puro, extraído de dicho aceite o sintetizado.

Un elevado número de genes ampliamente distribuidos por el genoma de la planta controla la composición química de estos aceites esenciales (Echeverrigaray *et al.*, 2001).

Los olores florales, por otra parte, están determinados por una compleja mezcla de compuestos volátiles de bajo peso molecular, y la habilidad para producir y emitir tales olores es un rasgo evolutivo que algunas plantas pueden adquirir de forma relativamente sencilla, sin el desarrollo de glándulas especializadas, simplemente mediante la expresión, preferentemente en células epidérmicas, de determinadas enzimas implicadas en la biosíntesis de compuestos volátiles, lo que conduce a la producción de dichos compuestos sobre la superficie de

determinados órganos, facilitándose así su emisión a la atmósfera (Dudareva *et al.*, 1996). Se ha encontrado una correlación positiva entre la cantidad de ARNm transcrito a partir de los genes que codifican para estas enzimas, la cantidad de proteína y actividad enzimática, y la emisión del componente volátil correspondiente, por lo que los niveles de actividad de las proteínas que intervienen en la producción de volátiles estarían regulados principalmente por los niveles de ARNm de las células presentes en el órgano que emite tales compuestos (Dudareva y Pichersky, 2000).

El género ***Thymus***, cuyo nombre proviene del verbo griego *Thym* (perfumar), en alusión al intenso y agradable olor de la planta, se caracteriza por su gran riqueza en aceite esencial, por lo que este género se sitúa en el ámbito de las plantas aromáticas. Igualmente, dicho aceite, por la naturaleza de sus constituyentes químicos, puede ejercer un efecto beneficioso sobre la salud, lo cual nos permite también considerar a estas plantas como medicinales.

Es importante señalar que el gran valor estratégico de las plantas aromáticas, así como de las medicinales y condimentarias, está determinado por su *código genético*, el cual identifica una composición química concreta que representa un perfil farmacológico u organoléptico específico (Bandoni, 1994). Si bien puede verse afectada por las condiciones climáticas o edáficas, la composición química de un aceite esencial está determinada genéticamente (Morales, 1986). Esta es una importante razón para considerar primordial la protección de los recursos genéticos de estas plantas, en peligro por la explotación indiscriminada de la flora silvestre.

I. 2. TAXONOMÍA DEL GÉNERO *THYMUS*.

En taxonomía, el género o el subgénero complejos pueden dividirse en secciones. Por lo tanto, la sección corresponde a una jerarquía taxonómica situada entre género o subgénero y especie (Font Quer, 1982), siendo grupos de especies que se establecen por la presencia de ciertos caracteres comunes, no teniendo estos grupos la suficiente entidad para ser considerados géneros.

El género *Thymus* se divide en siete Secciones, según el siguiente esquema (Morales, 1986):

I. Sección **Mastichina** (Miller) Bentham.

1. *Th. mastichina* (L.) L.
 subsp. *mastichina*.
 subsp. *donyanae* R. Morales.
2. *Th. albicans* Hoffmanns. & Link.

II. Sección **Micantes** Velen.

3. *Th. caespititius* Brot.

III. Sección **Piperella** Willk.

4. *Th. piperella* L.

IV. Sección **Pseudothymbra** Bentham.

a) Subsec. **Pseudothymbra** (Bentham) R. Morales.

5. *Th. lotocephalus* G. López & R. Morales.
6. *Th. villosus* L.
 subsp. *villosus*.

subsp. *lusitanicus* (Boiss.) Coutinho.

7. *Th. longiflorus* Boiss.
8. *Th. membranaceus* Boiss.
9. *Th. moroderi* Pau ex Martínez.
10. *Th. funkii* Cosson.

b) Subsec. **Anomali** (Rouy) R. Morales.

11. *Th. antoninae* Rouy & Coincy.

V. Sección **Thymus**.

a) Subsec. **Thymastra** (Nyman ex Velen.) R. Morales.

12. *Th. capitellatus* Hoffmanns. & Link.
13. *Th. camphoratus* Hoffmanns. & Link.

b) Subsec. **Thymus**.

14. *Th. carnosus* Boiss.
15. *Th. vulgaris* L.
 - subsp. *vulgaris*.
 - subsp. *aestivus* (Willk.) O. Bolós & A. Bolós.
16. *Th. orospedanus* Huguet del Villar.
17. *Th. hyemalis* Lange.
18. *Th. zygis* Loefl. ex L.
 - subsp. *zygis*.
 - subsp. *gracilis* (Boiss.) R. Morales.
 - subsp. *sylvestris* (Hoffmanns. & Link) Brot. ex Coutinho.
19. *Th. baeticus* Boiss. ex Lacaita.
20. *Th. willdenowii* Boiss.
21. *Th. loscosii* Willk.

22. *Th. serpylloides* Bory.
 subsp. *serpylloides*.
 subsp. *gadorensis* (Pau) Jalas.

VI. Sección **Hyphodromi** (A. Kerner) Halácsy.

23. *Th. mastigophorus* Lacaita.
24. *Th. lacitae* Pau.
25. *Th. granatensis* Boiss.
 subsp. *granatensis*.
 subsp. *micranthus* (Willk.) O. Bolós & Vigo.
26. *Th. leptophyllus* Lange.
 subsp. *leptophyllus*.
 subsp. *pau* R. Morales.
27. *Th. bracteatus* Lange ex Cutanda.
28. *Th. fontqueri* (Jalas) Molero & Rovira.

VII. Sección **Serpyllum** (Millar) Benth.

- a) Subsec. **Insulares**.

b) Subsec. **Pseudopiperellae**.

c) Subsec. **Kotschyani**.

d) Subsec. **Isolepides**.

e) Subsec. **Alternantes**.

29. *Th. pulegioides* L.

- f) Subsec. **Pseudomarginati**.

g) Subsec. **Serpyllum**.

En el presente trabajo se ensayan tres especies de la Subsección *Thymus*: *Th. hyemalis*, *Th. zygis* subsp. *gracilis* y *Th. vulgaris*.

I. 3. CARACTERIZACIÓN BOTÁNICA DEL GÉNERO THYMUS.

Este género, perteneciente a la familia *Labiatae* o *Lamiaceae*, comprende plantas típicamente mediterráneas, adaptadas a períodos de sequía y pluviosidad alternantes. En los períodos más secos suelen perder las hojas como mecanismo para protegerse de la pérdida de agua.

Son en su mayoría plantas heliófilas y pioneras, que colonizan rápidamente los lugares abiertos y desprovistos de vegetación, como matorrales quemados, barbechos o cultivos abandonados, presentando por ello un papel fundamental en las primeras fases de desarrollo de los matorrales mediterráneos, llamados frecuentemente tomillares. Esta capacidad de colonización se debe en parte al rápido crecimiento de estas plantas, que en algunos casos pueden alcanzar casi el tamaño adulto durante su primer año de vida (Morales, 1986).

En cuanto a su **morfología**, el género *Thymus* presenta un sistema radicular con una raíz principal leñosa con bastantes raíces secundarias. Las raíces de estas plantas no suelen tener una gran extensión, por lo que arrancarlas del suelo no resulta especialmente complicado en la mayor parte de los casos. Por ello, tradicionalmente, los tomillos silvestres se recolectan de esta forma, con todos los inconvenientes ecológicos y comerciales que acompañan a una práctica de este tipo.

El tallo de estas plantas es más o menos leñoso, variando desde erecto hasta prostrado y radicante. Posee numerosas ramas leñosas, erectas, compactas, parduscas o blanco aterciopeladas. Suelen ser

arbustos de unos 30–40 cm, aunque en algunos casos pueden alcanzar lo 80 cm.

Las hojas son opuestas, simples, enteras, generalmente alargadas, y varían en forma, tamaño, pilosidad, presencia de cilios en su borde y glándulas esenciales esferoidales en su superficie. Su tamaño oscila entre 4 y 10 mm de longitud. En la Península Ibérica, los tomillos suelen presentar las hojas con los bordes revueltos hacia el envés, resultando hojas lineares si éstas eran estrechas (Figura I-1). De esta forma, la superficie expuesta a la pérdida de agua y a la gran insolación, condiciones características del clima en el que viven estas plantas, es menor. Las glándulas esenciales que aparecen sobre estas hojas, donde se almacena el aceite, tienen un tamaño aproximado de 0,1–0,2 mm (Morales, 1986).

a)



b)



Fig. I-1. Detalle de fragmento de tallo (a) y envés de hoja (b) de *Th. vulgaris*. En la hoja se aprecian las glándulas productoras de aceite esencial.

Respecto a la distribución de dichas glándulas, Letchamo y Gosselin (1996), trabajando con plantas de *Th. vulgaris* en Canadá, determinan que el número de estas estructuras es mayor en el envés que en haz de las hojas.

Al ser plantas que viven expuestas al sol, los tomillos tienen muy frecuentemente todos sus órganos cubiertos de pelos (Figura I-2), a veces blanquecinos, para evitar la transpiración y reflejar la luz intensa (Morales, 1989).



Fig. I-2. Detalle de glándulas esenciales y estructuras pilosas en *Th. hyemalis*.

La floración de la mayoría de las especies de este género tiene lugar en primavera, principalmente durante los meses de mayo y junio.

Las flores se suelen agrupar en inflorescencias globosas. Muestran un cáliz bilabiado, con cinco dientes. El labio superior consta generalmente de tres dientes cortos, normalmente ciliados en sus bordes. El diente central puede ser igual o de mayor tamaño que los laterales. El labio inferior presenta dos dientes largos iguales. El tamaño total del cáliz varía entre 3 y 8 mm aproximadamente, y es la estructura que más caracteriza al género *Thymus* (Figura I-3).

La corola está formada por un tubo con dos labios en su extremo, de entre 2 y 18 mm de longitud. El labio superior está formado por dos lóbulos poco diferenciados y en el labio inferior aparecen tres lóbulos generalmente iguales. El color varía entre blanco, crema, rosa o púrpura (Morales, 1986).

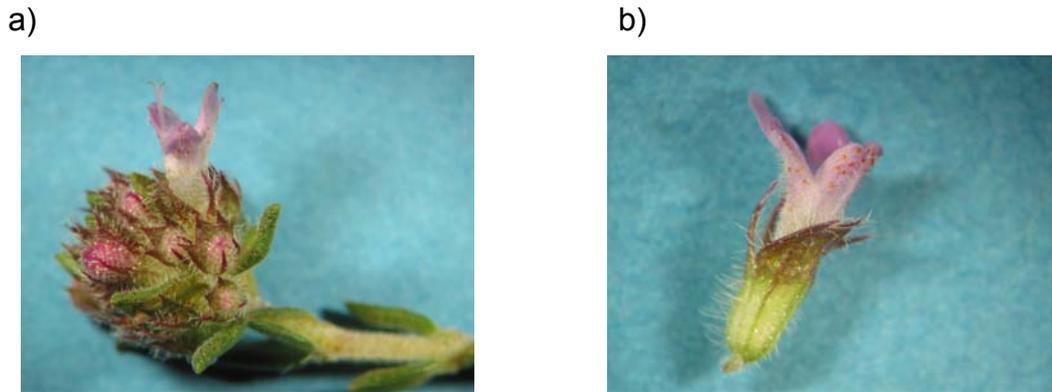


Fig. I-3. Detalle de inflorescencia (a) y flor (b) de *Th. hyemalis*.

Estas plantas presentan cuatro estambres que sobresalen de la corola, y ovario súpero tetralocular y tetraovulado. El fruto es un tetraquenio de color marrón.

La mayor parte de las especies del género *Thymus* presentan *ginodioecia*, modalidad de la poligamia en la que unos pies de planta tienen flores hermafroditas mientras otros poseen flores femeninas. Cuando en las flores hermafroditas los estambres y el pistilo no llegan a la madurez al mismo tiempo, a este fenómeno se le conoce como *dicogamia*. Así pues, las flores son morfológicamente hermafroditas, pero funcionalmente unisexuales (Font Quer, 1982). La finalidad de la dicogamia es evitar la autofecundación. Se suele presentar en plantas de polinización entomófila, con escasa producción de polen, como es el caso de los tomillos, pero su eficacia es limitada si se prolonga la floración. Por ello en las poblaciones de estas plantas aparece un porcentaje variable de individuos con flores femeninas, asegurando así la fecundación cruzada (Morales, 1986).

La **polinización**, como se menciona anteriormente, es llevada a cabo por insectos, principalmente abejas, por lo que los tomillos tienen gran importancia como plantas melíferas. Hormigas, himenópteros, dípteros (mosquitos) y ácaros (arácnidos) también polinizan este género. Es igualmente frecuente la presencia de coleópteros coccinélidos,

especialmente *Coccinella septempunctata*, insectos que se alimentan básicamente de pulgones, por lo que llevan a cabo una labor beneficiosa para la planta.

Por último, resulta interesante mencionar algunas **plagas** que pueden afectar a estas plantas. En este sentido, la infección más común es la causada por áfidos, parásitos que se pueden combatir con los productos recomendados en lucha ecológica. Los áfidos o pulgones ocasionan a las plantas daños directos e indirectos. Los primeros se producen por tratarse de insectos chupadores, que se alimentan principalmente sobre el floema. Las ninfas y los adultos extraen nutrientes de la planta y alteran el balance de las hormonas del crecimiento, lo que origina debilitamiento y detención del desarrollo de los individuos afectados. Si el ataque es muy severo, se puede llegar a secar la planta. Los áfidos también pueden causar daños indirectos, al actuar como vectores de virus fitopatógenos (Bellardi y Rubies-Autonell, 2001). Uno de estos áfidos es *Aphis viburnii*, que ataca principalmente a *Thymus vulgaris*.

Sobre los tomillos es posible encontrar plantas herbáceas parásitas del género *Cuscuta*, como *C. epithymum*, cuya presencia es relativamente frecuente en la naturaleza. Estas plantas presentan tallos filiformes que se fijan por medio de haustorios sobre los troncos de distintas fanerógamas, penetrando en los tejidos de la planta hospedante. Es muy difícil desinfectar un campo atacado por cuscuta, ya que estas plantas se deben eliminar manualmente, por lo que cuando se detecta su presencia sobre algún individuo en un cultivo, lo más aconsejable es arrancar las plantas afectadas para evitar que se propague la infección.

Igualmente, se han encontrado tomillos con malformaciones en el tallo que originan un hacinamiento de las hojas, enfermedad producida por el ácaro *Eriophites thomasi*. Esto es frecuente en *Thymus zygis*, y parece que las plantas afectadas son aquellas que no contienen timol ni carvacrol en su aceite esencial, sirviendo por lo tanto estos componentes como protección frente a este tipo de infecciones (Morales, 1986).

Este género es también sensible a enfermedades radiculares causadas, por ejemplo, por nemátodos fitófagos.

I. 3. 1. Distribución geográfica.

Las regiones del oeste del Mediterráneo parecen ser el centro del origen de este género, que alcanzó un gran éxito evolutivo debido al predominio cada vez mayor de períodos de aridez, condiciones a las que estas plantas están bien adaptadas (Morales, 1986).

La desaparición del bosque, consecuencia sobre todo de la acción humana, ha influido en su gran extensión actual. Las tierras que quedan libres de vegetación, como ocurre, por ejemplo, tras un incendio, son colonizadas en etapas sucesivas por nuevas plantas, pudiendo llegar a recuperarse el bosque si se dan las condiciones adecuadas. Esto explica que los tomillos, que solían vivir en terrenos marginales, hayan podido colonizar hoy grandes extensiones libres de otras plantas. Pero este género no siempre aparece como una etapa de sustitución de otro tipo de vegetación. En ciertos hábitats, sobre todo en zonas áridas, estas plantas parecen ser la vegetación óptima en la actualidad, presentándose como formaciones maduras.

En general, los tomillares cumplen una importante función como asociaciones vegetales pioneras fijadoras del suelo, después de incendios forestales o en márgenes de carreteras u otras vías de comunicación y en terrenos removidos (Morales, 1989). El tomillo es, por lo tanto, de una importancia trascendental para la recolonización de terrenos erosionados.

Centrándonos en su distribución actual, el género *Thymus* esta compuesto por alrededor de 150 especies que se extienden por Europa, Asia, parte de África y Groenlandia (Figura I-4). Se ha diversificado extraordinariamente en la Península Ibérica, donde aparecen numerosas especies endémicas.

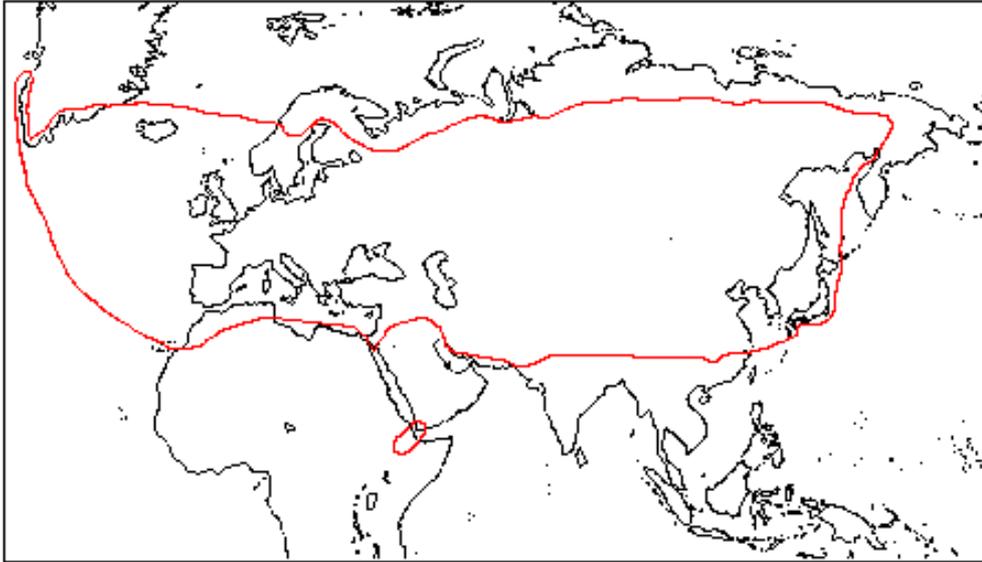


Fig. 1-4. Distribución geográfica del género *Thymus* (Morales, 1986).

La mayoría de estas plantas se circunscriben geográficamente a la región mediterránea, pudiendo soportar etapas de sequía acusada durante la época estival, así como los inviernos fríos propios de los climas mediterráneos continentales.

El punto más occidental de la zona circummediterránea de distribución de este género se sitúa en las Islas Azores, y el límite oriental sería el margen este del Mar Negro. Dentro de este área los núcleos más importantes son la Península Ibérica y el noroeste de África en el Mediterráneo occidental, y la Península Balcánica y Turquía en el oriental (Morales, 1986).

Además de las zonas colonizadas espontáneamente por este género, se han introducido poblaciones, que ahora crecen en estado silvestre, en Estados Unidos, Canadá, Chile, Australia o Nueva Zelanda, lo que amplía su área de distribución.

Los tomillos son plantas que no toleran la excesiva humedad ambiental ni edáfica, por lo que están adaptados perfectamente a las condiciones semiáridas del Sudeste Ibérico (Sotomayor, 1998).

I. 4. CARACTERÍSTICAS DEL ACEITE ESENCIAL.

Las plantas medicinales y aromáticas sintetizan y acumulan aceites en estructuras glandulares que pueden estar distribuidas por toda la parte aérea de la planta, aunque esta distribución no es uniforme, ya que generalmente se suelen encontrar en hojas y flores.

En algunos casos, por ejemplo, las flores pueden poseer un número más elevado de estas células secretoras que el resto de la planta (Miguel *et al.*, 2005), por lo que el rendimiento del aceite esencial puede variar si se obtiene destilando separadamente flores, tallos y hojas.

Además, la capacidad secretora de estas glándulas depende de la etapa de desarrollo de las plantas, siendo por lo tanto el estado fenológico un factor determinante en la producción de estos aceites (Cabo *et al.*, 1987; Jordán *et al.*, 2006), producción que también puede verse afectada por las condiciones ambientales.

En general, los aceites esenciales son productos formados por la mezcla de numerosas sustancias, con una composición química bastante compleja, obtenidos a partir del metabolismo secundario de las plantas. Son lípidos simples sin ácidos grasos, y están compuestos por sustancias volátiles, a diferencia de los aceites fijos, que contienen ácidos grasos como componentes estructurales fundamentales, y no son volátiles (Sotomayor, 1998).

El número de compuestos volátiles diferentes que aparecen en las plantas es muy elevado pero, sin embargo, estos constituyentes son biosintetizados por un número relativamente pequeño de rutas metabólicas, a menudo solapadas. En general, la mayor parte de estas sustancias volátiles derivan de tres clases principales de compuestos: terpenoides, fenilpropanoides/benzenoides, y derivados de ácidos grasos (Vainstein *et al.* 2001).

Estos aceites pueden actuar como agentes alelopáticos, al ser liberados por la planta que los produce y actuar sobre las plantas vecinas impidiendo su crecimiento.

En este sentido, Angelini *et al.* (2003), llevan a cabo un trabajo sobre inhibición de la germinación de malas hierbas por medio de aceites esenciales de distintas plantas, entre las que se encuentra *Thymus vulgaris*. Como resaltan estos autores, el uso continuado de herbicidas sintéticos puede amenazar la producción agrícola y causar problemas ecológicos y medioambientales. La alelopatía ofrece una alternativa biológica al tratamiento de las malas hierbas a través de la producción y liberación de sustancias aleloquímicas por parte de las plantas. En este trabajo se ensayan plantas de tomillo con un 44,1% de timol, comprobándose que la actividad alelopática del aceite esencial de tomillo es elevada, aunque poco selectiva. Cuando se analiza la actividad de los constituyentes de los aceites por separado, los investigadores constatan que tanto el timol como su isómero carvacrol ejercen también un efecto inhibitorio sobre la germinación de la mayor parte de las plantas tratadas en este estudio, y muestran un comportamiento más selectivo.

La presencia de aceites esenciales en estas plantas también se puede explicar como método de defensa frente a la pérdida de agua, teniendo en cuenta los ambientes cálidos y secos en los que suelen vivir los tomillos. A consecuencia de las altas temperaturas, las glándulas esenciales se rompen y liberan los aceites de su interior, que se evaporan y producen un ambiente alrededor de la planta con aire saturado por estas sustancias, lo que impide que se produzca evapotranspiración (Morales, 1989).

El género *Thymus* presenta una gran riqueza en aceite esencial y una alta variabilidad intraespecífica que afecta tanto al rendimiento en aceite como a su composición química. Es interesante señalar la facilidad de hibridación que tiene lugar entre distintas especies de tomillo cuando existe proximidad geográfica y sus períodos de floración coinciden,

incluso teniendo diferente número de cromosomas, lo que prueba las afinidades genéticas que existen entre estas plantas. La formación de híbridos incrementa la variabilidad que podemos encontrar en el aceite esencial.

A pesar de ser sustancias con una composición química muy heterogénea, los aceites esenciales presentan ciertas propiedades en común, entre las que se encuentran las que aparecen en la Tabla I-1.

Tabla I-1. Propiedades del aceite esencial.

Aroma intenso
Generalmente líquidos a temperatura ambiente
Volátiles, a diferencia de los aceites fijos
Generalmente incoloros o con tonalidad amarillenta
Fácilmente oxidables.
Su densidad relativa oscila entre 0,84 y 1,18, siendo la gran mayoría de estas sustancias menos densas que el agua.
Tienen un índice de refracción elevado y suelen presentar actividad óptica.
Punto de ebullición relativamente alto, situado entre 150 y 300 °C.
Insolubles en agua, y fácilmente solubles en disolventes orgánicos

Fuente: Biblioteca digital de la Universidad de Chile (<http://www.uchile.cl>)

I. 4. 1. Definición de calidad.

Se define calidad como “grado en el que un conjunto de características inherentes cumple con los requisitos” (UNE-EN ISO 9000:2000).

En el caso de los aceites esenciales, la calidad viene determinada por su composición química, ya que de ella dependen las propiedades que se atribuyen a estas sustancias.

Los aceites más demandados actualmente son aquellos que presentan compuestos fenólicos como constituyentes mayoritarios, siendo el timol y su isómero carvacrol los componentes definitorios de calidad en tomillo. La cantidad relativa de ambos compuestos, especialmente timol, es la característica que más valoran los compradores, aunque dado el efecto sinérgico que parece existir entre determinados constituyentes de estos aceites (Ultee *et al.*, 2000), una cantidad excesivamente alta de un único componente tampoco es deseable.

La normativa legal, a través de las normas ISO o UNE, establece las especificaciones que debe reunir el perfil cromatográfico del aceite esencial de algunas especies del género *Thymus*, entre las que se encuentra el tomillo rojo español o *Th. zygis*, tipo timol (UNE 84303. Tabla I-2).

Para *Th. vulgaris* y *Th. hyemalis*, las otras dos especies objeto de esta Tesis, no existen normas legales que regularicen la composición química de sus aceites. No obstante, en el caso de *Th. vulgaris* pueden adoptarse criterios similares a los aplicados a *Th. zygis*; *Th. hyemalis* es una especie con una gran diversidad de quimiotipos, siendo las plantas ricas en timol las más apreciadas, si bien el contenido fenólico que presenta esta labiada no suele ser tan alto como el encontrado en las otras dos especies.

Tabla I-2. Normativa UNE 84303 para el aceite esencial de *Th. zygis*, tipo timol.

Componentes	% Mínimo	% Máximo
α -Tujeno	0,2	1,5
α -Pinoeno	0,5	2,5
Mirceno	1	2,5
p-Cimeno	14	28
Limoneno	0,2	3,5
γ -Yerpineno	4	11
Linalol	3	6,5
Terpinen-4-ol	0,1	2,5
Metilcarvacrol	0,1	1,5
β -Cariofileno	0,5	2
Timol	37	55
Carvacrol	0,5	5,5

I. 4. 2. Métodos de extracción.

El aceite esencial que sintetizan las distintas especies aromáticas puede ser obtenido por diferentes métodos, pudiendo verse afectados tanto el rendimiento como la composición de dicho aceite en función del sistema de extracción empleado (Scheffer, 1993; Sotomayor *et al.*, 2001). Los métodos más usados con este fin son la hidrodestilación, la extracción con disolvente y la destilación-extracción simultáneas, aunque nuevos métodos se han venido desarrollando para recuperar los compuestos de interés, intentando no producir alteraciones de los mismos ni introducir contaminantes o desarrollar artefactos que puedan interferir en el posterior análisis, como es el caso de técnicas tales como la extracción con fluidos supercríticos y el uso de microondas.

Es considerando esta variedad de métodos y la diversidad de resultados donde se debe encuadrar la aplicación más adecuada en cada

caso para que resulte lo más representativo de la composición en la muestra en estudio (Jordán, 1999).

A) Destilación.

Esta técnica, basada en la volatilidad de los aceites esenciales, es la más usada para la separación de tales sustancias, tanto a nivel industrial como de laboratorio.

Los avances en esta técnica de extracción a lo largo del siglo XX han permitido que actualmente los aceites esenciales sean considerados como materias primas para la industria. Su mezcla de constituyentes puede ser separada y los componentes individuales usados como elementos esenciales para introducir un aroma particular a un producto (New Zealand Institute for Crop and Food Research, <http://www.crop.cri.nz>).

Se distingue:

A. 1) *Destilación con agua o hidrodestilación.* La planta está sumergida en agua dentro de un recipiente o destilador que se calienta directamente hasta ebullición. Este proceso puede durar algunas horas.

A. 2) *Destilación en corriente de vapor.* El material vegetal se sitúa en un destilador a través del cual se hace pasar vapor de agua generado en otro recipiente, sin que exista contacto entre la planta y el agua hirviendo. Masango (2005) diseña una técnica que permite determinar el mínimo flujo de vapor requerido para una masa vegetal dada, de forma que se necesita una menor cantidad de agua para la destilación. Con esta mínima cantidad de vapor pasando a través del material vegetal, se reduce la pérdida de compuestos polares solubles en agua.

A. 3) *Destilación mixta*. El vapor se produce en el mismo recipiente en el que se encuentra la planta, sostenida sobre el nivel del agua por una rejilla metálica.

En los tres casos, los productos volátiles son arrastrados por el vapor de agua hacia un refrigerante donde ambos, aceite y vapor de agua, se condensan. Estos aceites tienen una densidad menor a la del agua, por lo que quedan depositados sobre ella, pudiendo ser separadas ambas sustancias tras la destilación.

B) Extracción con disolvente (SE).

Procedimiento basado en el coeficiente de distribución favorable entre el disolvente y la muestra en estudio (Jordán, 1999).

El disolvente se selecciona en función de los componentes que interesa extraer. En el caso del aceite esencial, se suelen emplear solventes tales como éter etílico, éter de petróleo, hexano, benceno o diclorometano. Estas sustancias deben ser eliminadas posteriormente.

C) Destilación-Extracción simultáneas (SDE).

Con el objeto de minimizar las alteraciones que puedan sufrir los constituyentes del aceite debido al calor generado con la destilación, se han desarrollado técnicas como la SDE, que ha experimentado mejoras dirigidas a reducir tales daños térmicos.

En esta técnica, la muestra se sitúa en agua dentro de un matraz conectado a un sistema de refrigeración. Frente a él, otro matraz conteniendo el disolvente se conecta al mismo sistema. Los matraces se calientan por separado y los vapores de agua y de disolvente condensan juntos en la sección central de refrigeración. Como consecuencia, las fases de agua y disolvente inmiscibles quedan separadas en la sección en forma de U, recirculando cada fase a su respectivo matraz (Likens y

Nickerson, 1964). El resultado es una destilación continua que sólo requiere un pequeño volumen de disolvente para la extracción de muestras incluso de cierto tamaño.

Una modificación de este sistema se debe a Maarse y Kepner (1970), los cuales aplican una trampa de vacío para evitar la prematura condensación del vapor, y un condensador de hielo seco para evitar las pérdidas del disolvente. En 1974, Römer y Renner aplican un generador de vapor externo al equipo original.

Buttery *et al.* (1976) emplean este sistema trabajando presión reducida, lo cual minimiza la degradación y aparición de componentes extraños que sufre el producto al someterlo a las elevadas temperaturas que requiere la técnica cuando trabaja a presión atmosférica, tal como fue diseñada originalmente.

D) Extracción con fluidos supercríticos (SFE).

Este es un caso particular de la técnica de extracción con disolvente mencionada anteriormente. En este caso, se emplea como disolvente un fluido supercrítico.

Fluido supercrítico es aquel que se encuentra sometido a condiciones por encima de su presión y temperatura críticas. En este estado, el fluido tiene propiedades intermedias entre las de un líquido y un gas. La cualidad más característica de los fluidos supercríticos es el amplio rango de altas densidades que pueden adoptar dependiendo de las condiciones de presión y/o temperatura, con lo que estos fluidos presentan la capacidad de modular su poder solvatante, directamente relacionado con su densidad, en función de tales condiciones.

De esta forma, los fluidos supercríticos se convierten en disolventes ideales, lo que les permite ser empleados, entre otras aplicaciones, en la extracción de productos naturales, ya que esta técnica no deja residuos, se obtienen extractos de alta pureza y no requiere altas

temperaturas, lo que es especialmente importante cuando se extraen compuestos termolábiles.

El fluido más utilizado en este método es el CO₂, gas de baja toxicidad, abundante y de coste reducido.

El proceso de extracción sería el siguiente: en un reactor se introduce el sustrato original y una cantidad de CO₂. El sistema se presuriza hasta alcanzar condiciones supercríticas, con lo que el CO₂ disuelve los compuestos a extraer. A continuación, se transfiere el fluido a otro reactor donde se despresuriza la mezcla, provocando la liberación del soluto y la eliminación del CO₂ como gas, con lo que no quedan residuos en el extracto, el cual tendrá una mayor pureza. La SFE presenta además un mejor rendimiento que otros procedimientos de extracción, ya que el soluto, una vez extraído, se recupera totalmente al ser insoluble en el gas. (Instituto de Ciencia de Materiales de Barcelona – CSIC: <http://www.icmab.es>).

E) Microondas.

La extracción del aceite esencial se realiza en un reactor de microondas, de forma rápida, sin el empleo de agua ni disolventes. Se trata de un proceso de destilación acelerada, que al no emplear agua evita las transformaciones que pueden sufrir los componentes de estos aceites al estar en contacto prolongado con agua hirviendo.

Las microondas generadas provocan un calentamiento de las moléculas de agua del interior del material vegetal, dilatando y provocando la rotura de las glándulas que contienen el aceite, liberándose éste. En el exterior del microondas se encuentra el refrigerante, donde se condensan los productos destilados. Finalmente, se separa el aceite de la fase acuosa por decantación. La destilación completa puede realizarse en unos 30 min, consiguiéndose unos resultados en cuanto a rendimiento y composición del aceite esencial similares a los obtenidos por

hidrodestilación (Fuente: DryDist. Labstation for Rapid Solvent Free Microwave Extraction (SFME) of essential oils).

Numerosas publicaciones analizan los efectos de los diferentes métodos de extracción sobre el rendimiento y la composición del aceite esencial.

Hawthorne *et al.* (1993), comparando hidrodestilación y extracción con fluidos supercríticos, comprueban que la velocidad de extracción con CO₂ puro es relativamente lenta (recuperación del 80% tras 90 min), pero una extracción estática usando cloruro de metileno como modificador durante 15 min, seguida de la extracción dinámica con CO₂ durante otros 15 min, proporciona los mismos resultados conseguidos con 4 horas de hidrodestilación. La SFE también recupera algunos compuestos orgánicos que no se extraen con hidrodestilación.

Moldão-Martins *et al.* (2002) determinan, en plantas de *Th. zygis* subsp. *sylvestris*, una composición cuantitativa diferente en función del procedimiento empleado para la extracción de los compuestos volátiles, siendo los aceites esenciales obtenidos por hidrodestilación más ricos en γ -terpineno, geraniol y timol, en tanto que la SFE proporciona extractos con mayor presencia de p-cimeno y β -cariofileno.

Lemberkovics *et al.* (2003) contrastan la composición de aceites extraídos por destilación con vapor con fracciones volátiles obtenidas con SFE, observando que estas últimas son más ricas en ésteres y más pobres en alcoholes. Por otra parte, con SFE se alcanzan mayores porcentajes de sesquiterpenos que en los aceites destilados.

Con extractos volátiles de *Th. vulgaris* obtenidos por destilación-extracción simultánea y por extracción supercrítica, Díaz-Maroto *et al.* (2005) observan que timol y p-cimeno, los compuestos más abundantes en tomillo, se obtienen generalmente en mayor cantidad con SDE.

Por su parte, Lucchesi *et al.* (2004), comprueban con diferentes plantas, entre las que se encuentra el tomillo, que el rendimiento en aceite esencial extraído con el empleo de microondas (SFME) durante 30 minutos es similar al que se obtiene con hidrodestilación en cuatro horas. Además, con SFME, los aceites muestran cantidades más elevadas de compuestos oxigenados y concentraciones más bajas de monoterpenos, en comparación con los resultados proporcionados por la hidrodestilación.

I. 5. COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ACEITE ESENCIAL EN EL GÉNERO *THYMUS*.

En los últimos años, con el desarrollo de las técnicas de análisis instrumental, se han realizado numerosos estudios acerca de la composición cualitativa y cuantitativa de los aceites esenciales de las plantas aromáticas. Las plantas producen metabolitos secundarios característicos, y en los aceites encontramos estos productos en distintas proporciones, siendo este hecho determinante para establecer sus diversas aplicaciones. Los análisis cromatográficos practicados a dichos aceites han permitido encontrar especies cuyos individuos son morfológicamente idénticos y que, sin embargo, presentan diferencias en la composición química de sus aceites esenciales, manteniéndose estas diferencias en el tiempo y en diferentes condiciones ecológico-climáticas. La *Cromatografía de Gases* con columnas capilares es la técnica que se emplea habitualmente para analizar tales sustancias, siendo necesario completar estos estudios con análisis por *Espectrometría de Masas*, para obtener una identificación rigurosa de los componentes. En base a los caracteres químicos determinados en estos aceites se desarrolla una clasificación denominada *quimiotaxonomía*, y a los taxones químicos o variedades de plantas establecidos desde el punto de vista de la composición química de su aceite esencial, se les llama *quimiotipos*.

El aceite esencial de una planta contiene componentes que se encuentran en concentraciones elevadas y otros que aparecen de forma

minoritaria, siendo los componentes mayoritarios los que confieren el quimiotipo. Cuando aparece un único componente en cantidad significativamente superior al resto, se habla de *quimiotipo simple*. Los *quimiotipos mixtos* son aquellos que presentan concentraciones importantes de más de un constituyente (Sotomayor, 1998).

El género *Thymus* presenta un elevado polimorfismo químico, con componentes que varían de una especie a otra y también, como se ha dicho, dentro de una misma especie. Este polimorfismo está motivado por factores genéticos y ambientales, siendo responsables los primeros de las características químicas de estos aceites, determinando su quimiotipo, y pudiendo influir los segundos, relativamente, en su composición cuantitativa.

Además de los factores ambientales, hay otros parámetros externos que pueden afectar al perfil volátil de un aceite esencial, tales como época en la que se recolecta la planta, método de secado, condiciones de almacenaje, procedimiento empleado para la extracción del aceite esencial, y características del análisis cromatográfico usado para identificar los componentes de ese aceite (Scheffer, 1993; Miguel *et al.*, 2005; Jordán *et al.*, 2006).

La influencia del hábitat en la composición cuantitativa de los aceites esenciales queda de manifiesto en un trabajo realizado sobre plantas de *Th. hyemalis* cultivadas en dos zonas con diferentes condiciones edafoclimáticas (Martínez *et al.*, 2005), en el que se aprecian diferencias en los perfiles volátiles de tales aceites en función de la zona en la que crecen las plantas.

Por otra parte, Sáez (1995a; 1995b; 1999) encuentra una gran complejidad en la composición química del aceite esencial de algunas especies del género *Thymus* localizadas en el SE Ibérico, consecuencia según este autor de la variabilidad ecológica que se presenta en esta zona, lo cual se refleja en esa gran variabilidad química.

No obstante, como se indica anteriormente, dichas condiciones ambientales sólo tienen un efecto parcial sobre los componentes que definen el quimiotipo, que podrían aumentar o disminuir su concentración relativa, pero seguirían siendo mayoritarios, ya que el quimiotipo está establecido genéticamente. Esto se demuestra con el hecho de que plantas con diferentes quimiotipos pueden crecer en el mismo hábitat (Salgueiro *et al.* 2000a), e igualmente, se pueden encontrar individuos con el mismo quimiotipo en diferentes zonas bioclimáticas (Sotomayor, 1998). Es decir, una planta concreta no varía su quimiotipo en función de los factores externos, ya que tal característica está especificada en el mapa genético de esa planta.

En este sentido, Ložienė y Venskutonis (2005) realizan un interesante trabajo en el que analizan la influencia de ambos factores, genéticos y ambientales, en la composición del aceite esencial de *Thymus pulegioides*. Para ello recolectan individuos de diferentes quimiotipos procedentes de distintos hábitats naturales y los transfieren a una plantación experimental, donde crecen en condiciones ambientales uniformes. Estas plantas son clonadas y replantadas anualmente, durante 5 años, en el mismo entorno. Comparando el perfil químico de los aceites esenciales de las plantas clonadas con las recolectadas en estado silvestre, estos autores comprueban que la composición de los aceites a lo largo de las clonaciones anuales permanece prácticamente igual a la encontrada en los hábitats naturales, sin fluctuaciones reseñables para la gran mayoría de las plantas. Las cantidades de los componentes principales de todos los quimiotipos permanecen bastante estables, a pesar del marcado cambio en las condiciones del medio. Tan solo un reducido número de individuos se muestra sensible a los cambios de hábitat, pero cuando se clonan tales individuos durante unos pocos años en el nuevo entorno recuperan una composición similar a la de las plantas originales, de lo que se deduce que una modificación repentina de sus condiciones de crecimiento causa una variación en la biosíntesis de algunos componentes del aceite esencial en estas plantas, que necesitan algunos años para recuperar una composición similar a la de sus

parentales. Por lo tanto, los autores concluyen que, en general, la composición cualitativa del aceite esencial de estas plantas es estable, y está predeterminada genéticamente.

Entre los diversos constituyentes que definen la composición química de los aceites esenciales destacan por su importancia los compuestos terpénicos, que incluyen hidrocarburos terpénicos y sus derivados oxigenados, tales como alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, éteres o peróxidos. Los compuestos oxigenados son altamente odoríferos (Lucchesi *et al.*, 2007), y son los principales responsables del olor de estos aceites.

Los terpenos están formados por la unión de varias moléculas del hemiterpeno *isopreno*, con fórmula general $(C_5H_8)_n$. Considerando que el isopreno es su precursor biológico, los terpenos son a menudo llamados isoprenoides, y se clasifican por el número de unidades de cinco carbonos que contienen, denominándose monoterpenos (C_{10}), sesquiterpenos (C_{15}), diterpenos (C_{20}), triterpenos (C_{30}), tetraterpenos (C_{40}) y politerpenos ($>C_{45}$). Los compuestos terpénicos presentes en estos aceites son principalmente mono y sesquiterpenos, y raramente diterpenos.

Mención especial merecen los compuestos fenólicos, con estructura aromática, que comprenden un conjunto importante de sustancias que se pueden encontrar en estos aceites. Los fenoles son alcoholes que pueden producirse por la oxidación parcial del benceno. El timol y su isómero carvacrol son los fenoles que se hallan en mayor proporción en el aceite esencial de tomillo. Ambos derivan del monoterpeno p-cimeno. Se trataría, por lo tanto, de alcoholes terpénicos.

Algunos ejemplos de los componentes químicos más habituales encontrados en el aceite esencial de las distintas especies del género *Thymus* se pueden ver en la Figura I-5.

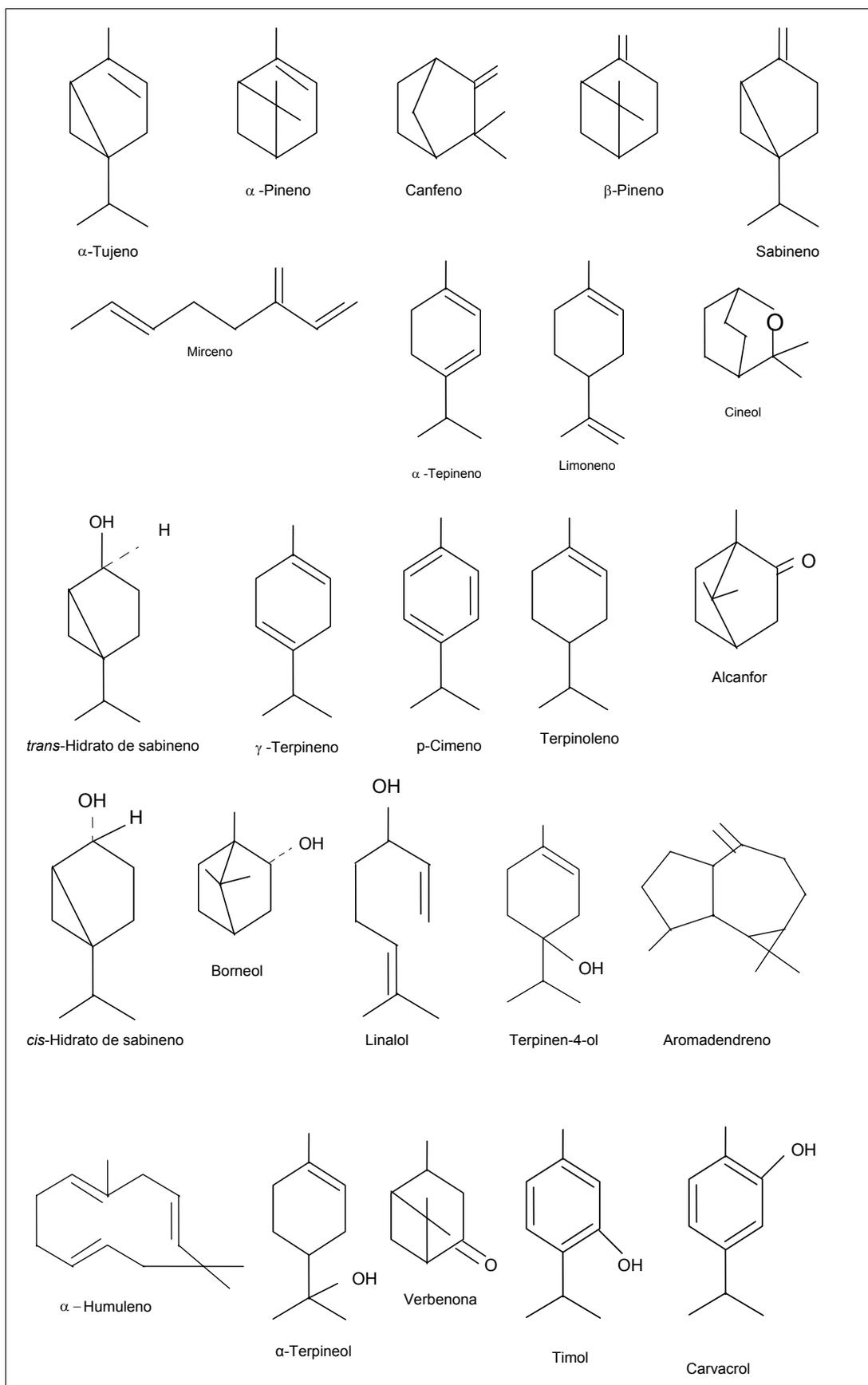


Fig. 1-5. Estructuras químicas de algunos componentes identificados en los aceites esenciales de tomillo.

I. 5. 1. Antecedentes bibliográficos.

Dada la complejidad y riqueza en especies del género *Thymus*, se ha considerado interesante realizar una aproximación a los resultados obtenidos por diversos autores acerca de la composición del aceite esencial tanto de las tres especies objeto de esta Tesis, como de algunos otros individuos de este género, con el fin de ofrecer una perspectiva de la variabilidad química presente en estas plantas.

I. 5. 1. 1. *Thymus vulgaris* L.

También conocido como tomillo común, es una planta nativa de la región Mediterránea (España, Italia, Francia, Grecia, etc.). En España se puede encontrar en la mitad Este de la península, disminuyendo su presencia hacia el Sur (Figura I-6).



Fig. I-6. Distribución en la Península Ibérica de *Th. vulgaris* (Fuente: Sotomayor, 1998).

Florece de marzo a julio, principalmente de abril a junio. Se encuentra preferentemente en suelos ricos en bases, sobre todo calizas y margas. Vive desde el nivel del mar hasta 2.000 m.s.n.m. (Morales, 1986).

En la Figura I-7 se pueden apreciar algunos aspectos morfológicos de esta especie. Las imágenes corresponden a plantas de *Th. vulgaris* obtenidas de semillas disponibles comercialmente, procedentes de Francia, ya que tales plantas han sido las empleadas para la realización de esta Tesis. Este tomillo tiene un porte distinto al común español, con hojas de mayor tamaño, y presenta además un quimiotipo diferente.

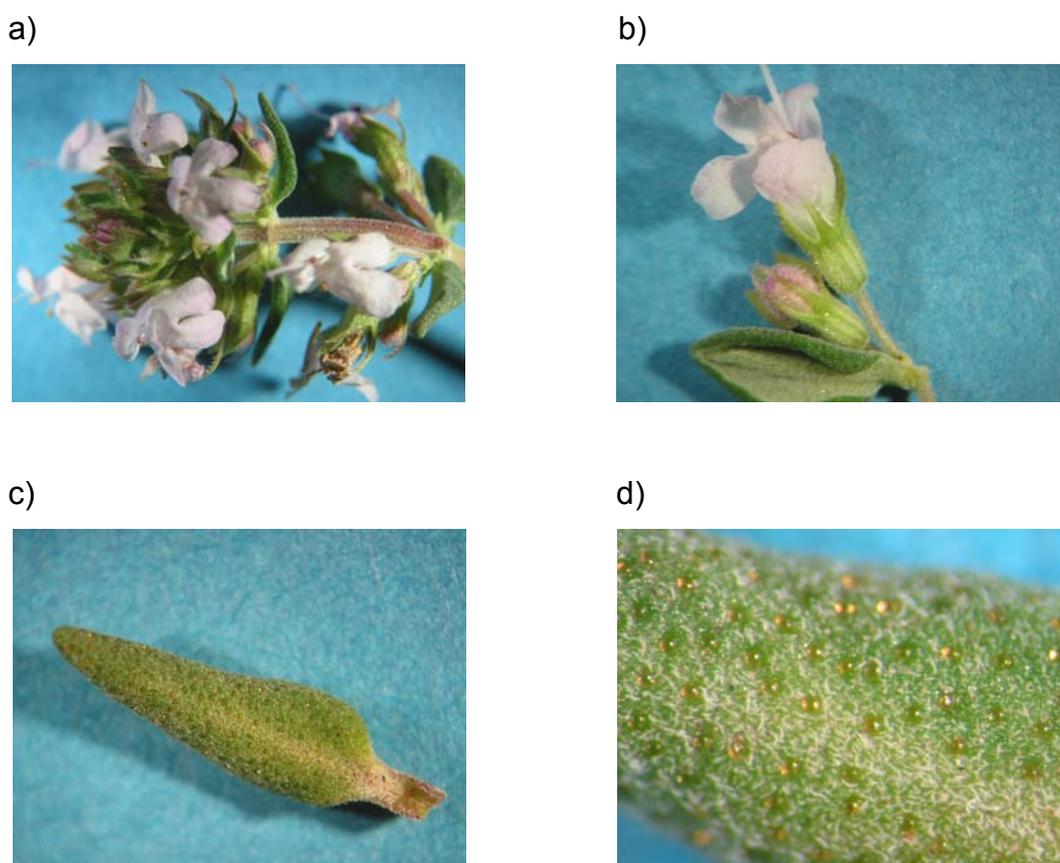


Fig. I-7. Detalle de inflorescencia (a), flor (b), hoja (c) y glándulas oleíferas (d) de *Th. vulgaris*.

Se han realizado numerosos estudios acerca de la composición química del aceite esencial de esta especie.

Granger y Passet (1973), en su trabajo sobre tomillos espontáneos en Francia, encuentran individuos que presentan un quimiotipo fenólico, con timol y carvacrol como componentes mayoritarios, y plantas con

quimiotipos no fenólicos, en los que los componentes más representativos son geraniol, linalol, α -terpineol y (*E*)-hidrato de sabineno/terpinen-4-ol. Los autores observan que estos quimiotipos se distribuyen por áreas geográficas, ya que los tomillos fenólicos se suelen presentar en zonas con suelo calcáreo árido y clima cálido y seco; las formas no fenólicas aparecen en general en los lugares menos favorables para la especie, como suelos ácidos y más húmedos. La frecuencia de distribución de los quimiotipos en las poblaciones está determinada por factores genéticos y ecológicos.

Adzet *et al.* (1976a), detectan seis quimiotipos distintos estudiando plantas de *Th. vulgaris* procedentes de Francia y España: geraniol, linalol, α -terpineol, timol, carvacrol y (*E*)-hidrato de sabineno/terpinen-4-ol. Estos seis quimiotipos son comunes en ambos países, en tanto que identifican también el 1,8-cineol como componente mayoritario en plantas de *Th. vulgaris* que se hallan sólo en España.

El quimiotipo 1,8-cineol es el característico del tomillo común que crece en la Península Ibérica (Jordán *et al.*, 2006). García Vallejo *et al.* (1989) manifiestan que las únicas variedades químicas existentes en España para esta especie son, además de dicho quimiotipo, el mixto 1,8-cineol/alcanfor encontrado por estos autores; y de los localizados en Francia, únicamente los quimiotipos linalol, α -terpineol y (*E*)-hidrato de sabineno/terpinen-4-ol estarían representados también en España. Los quimiotipos fenólicos descritos en nuestro país se deberían a híbridos de *Th. vulgaris* con *Th. zygis*.

El polimorfismo químico que presenta esta especie ha sido estudiado por Vernet y Gouyon (1979), los cuales determinan que la naturaleza del aceite producido por estas plantas no se ve afectada cualitativamente por las condiciones de desarrollo de las mismas, lo que se evidencia realizando trasplantes y colocando las plantas en distintas condiciones de crecimiento, sin que se vea afectada la composición

química de sus aceites. Teniendo en cuenta el origen genético de los quimiotipos, estos autores concluyen que son cinco los genes que participan en la determinación de los seis quimiotipos mencionados anteriormente encontrados en Francia, y, realizando trabajos de hibridación, establecen entre estos genes la siguiente relación de epistasia:

Geraniol > α -Terpineol > (E)-Hidrato de sabineno > Linalol > Carvacrol > Timol
--

Las formas dominantes serían, por lo tanto, las no fenólicas.

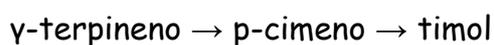
El que se presente un quimiotipo u otro está condicionado por mecanismos de regulación genética, ya que, según estos autores, el quimiotipo base sería el timol, y la activación de determinados genes reguladores, cuyos productos inhiben la expresión de los genes implicados en la síntesis de timol, promueve la generación de los otros quimiotipos.

La adaptación genética, desde el punto de vista evolutivo, a condiciones ecológicas precisas, es considerada por estos investigadores la causa de la variación en la composición química del aceite esencial que encontramos dentro de esta labiada. Dicha adaptación confiere a los individuos ventajas fisiológicas, como resistencia a la sequía, defensa contra depredadores, colonización de otros hábitats, etc.

Por otra parte, en un trabajo desarrollado por Amiot *et al.* (2005), queda comprobada la desigual tolerancia al frío de los quimiotipos fenólicos y no fenólicos de esta planta, mostrando los no fenólicos una mayor supervivencia frente a las bajas temperaturas. De esta forma, la resistencia al frío sería un factor importante en la distribución de estas labiadas.

La mayor parte de los trabajos llevados a cabo sobre esta especie de tomillo se refieren al quimiotipo fenólico. Podemos citar en este sentido

a Piccaglia y Marotti (1993), que realizan un estudio en el norte de Italia con objeto de valorar la adaptabilidad agronómica de distintas plantas a un ambiente con situado a 630 m.s.n.m., para lo cual la composición del aceite esencial es un parámetro importante a considerar. Por ello, estos autores evalúan la influencia de diferentes condiciones climáticas y de abonado en la composición cualitativa y cuantitativa del aceite esencial de estas plantas. En dicho estudio, en el caso de *Th. vulgaris*, se emplean individuos de 3 ó 4 años recolectados en plena floración, encontrándose, tras el análisis cromatográfico del aceite esencial, que los componentes mayoritarios para esta planta son p-cimeno, γ -terpineno y timol. Las cantidades relativas encontradas para estos constituyentes, en recolecciones realizadas en dos años consecutivos, oscilan entre 18,60–25,34% en el caso de p-cimeno, 12,06–12,27% para γ -terpineno, y 16,55–38,24% para timol. Otros componentes que se encuentran en una concentración relativamente alta son α -tujeno (0,87–2,10%), α -pineno (0,49–1,34%), mirceno (1,40–2,14%), α -terpineno (1,67–2,34%), terpinen-4-ol (0,98–1,10%) o linalol (2,42–2,82%). Las diferencias en las concentraciones de los componentes en los dos años considerados se pueden atribuir al efecto de las condiciones ambientales, que tal como se ha dicho antes, pueden influir en la composición cuantitativa del aceite, dando lugar a un amplio rango de variación en las cantidades de sus constituyentes. Según estos autores, γ -terpineno es el componente implicado en el proceso de aromatización que resulta en la formación de p-cimeno, precursor de timol y carvacrol. El quimiotipo se puede definir por la secuencia:



Igualmente, Bhaskara Reddy *et al.* (1998) analizan el aceite esencial de dos líneas clonales diferentes de *Th. vulgaris*, identificando como principales componentes carvacrol, p-cimeno, terpinen-4-ol y timol, cuya suma corresponde aproximadamente al 50% del total de componentes analizados en ambas líneas.

Daferera *et al.* (2000) determinan la composición del aceite esencial de diversas plantas recolectadas en Grecia para evaluar la actividad biológica sobre *Penicillium digitatum* de dicho aceite. Para *Th. vulgaris* estos autores determinan que los componentes mayoritarios son γ -terpineno (4,30%), p-cimeno (23,50%), carvacrol (2,20%) y timol (63,60%), lo que representa el 93,6% de la composición total del aceite esencial. Otros componentes reseñables son α -terpineno (1,00%), β -cariofileno (1,30%) y borneol (1,40%). De los resultados de este ensayo se desprende que, además de los compuestos fenólicos, hay otros constituyentes que sumados a ellos contribuyen a la actividad antifúngica de un aceite esencial.

En otro estudio realizado en Italia, Hudaib *et al.* (2002) analizan plantas de *Th. vulgaris* de dos y cinco años en diferentes momentos de su ciclo vegetativo. Los datos correspondientes al aceite esencial extraído muestran que el componente mayoritario es timol, con un porcentaje mayor en plantas de cinco años. Cuando las plantas se encuentran en floración, las cantidades relativas de los principales componentes identificados en este estudio se repartirían como se aprecia en la Tabla I-3.

Tabla I-3. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. vulgaris*.

Componentes	Cantidad (%)	
	<i>Dos años</i>	<i>Cinco años</i>
α -Tujeno	1,28	0,15
Mirceno	1,14	0,15
α -Terpineno	3,1	0,58
p-Cimeno	21,57	12,88
1,8-Cineol	1,9	2,4
γ -Terpineno	16,88	1,14
Linalol	1,57	2,19
Borneol	0,42	1,33
Terpinen-4-ol	0,65	1,41
Éter metílico de carvacrol	3,36	5,02

Tabla I-3 (continuación)

Componentes	Cantidad (%)	
	<i>Dos años</i>	<i>Cinco años</i>
Timol	35,83	54,1
Carvacrol	2,62	3,55
β -Cariofileno	3,5	5,28

Otros autores han analizado en estudios más recientes la composición química del aceite esencial de *Th. vulgaris*, encontrando concentraciones de timol que alcanzan el 39,10% (Mirza y Baher, 2003) o hasta el 60,15% (Asllani y Toska, 2003).

Por otra parte, Sotomayor (1998) lleva a cabo un estudio del género *Thymus* con objeto de determinar las condiciones óptimas para su establecimiento como cultivo, y en dicho estudio analiza el aceite esencial del tomillo común de origen español, que presenta 1,8-cineol como componente mayoritario. Las recolecciones de estas plantas de *Th. vulgaris*, cultivadas en secano en dos localidades de Murcia (Moratalla y Torre Pacheco), se realizan en el período 1991–1993, mostrándose en la Tabla I-4 la composición química porcentual obtenida para los componentes que se encuentran en mayor proporción en dicho período, para plantas que se encuentran en estado de floración-fructificación. La tabla recoge las cantidades máxima y mínima encontradas para cada componente.

Tabla I-4. Composición porcentual del aceite esencial de *Th vulgaris* (español).

Componentes	Cantidad (%)	
	<i>Moratalla</i>	<i>Torre Pacheco</i>
α -Pineno	4,40 – 5,50	5,50 – 6,50
Canfeno	7,00 – 7,80	7,60 – 9,20
β -Pineno	3,50 – 3,70	3,20 – 3,90
Sabineno	1,50 – 2,70	2,00 – 2,90
Mirceno	6,00 – 7,50	1,50 – 7,60

Tabla I-4 (continuación)

Componentes	Cantidad (%)	
	<i>Moratalla</i>	<i>Torre Pacheco</i>
Limoneno	1,40 – 2,30	1,60 – 1,90
1,8-Cineol	29,10 – 29,70	31,30 – 33,90
p-Cimeno	3,10 – 4,90	5,10 – 5,90
<i>trans</i> -Hidrato de sabineno	0,60 – 0,90	0,60 – 1,20
Alcanfor	7,40 – 9,10	7,20 – 9,70
Linalol	2,80 – 3,10	2,40 – 3,50
Terpinen-4-ol	0,30 – 0,70	0,80 – 3,10
α -Terpineol	3,70 – 4,80	2,30 – 5,00
Borneol	2,00 – 4,40	1,90 – 3,70

Respecto al cultivo de esta labiada, se pueden encontrar parcelas de tomillo común en Provenza (Francia), donde se ha llevado a cabo una selección con el fin de obtener plantas con buen rendimiento en biomasa, de porte erecto y mejor estructura para la siega mecánica, de las que existen semillas a nivel comercial. Este tomillo, que necesita mucha humedad ambiental y edáfica para su cultivo, se destina fundamentalmente a la obtención de hoja seca, ya que es pobre en aceite esencial. En los últimos años, se han establecido cultivos experimentales y comerciales en Aragón, Navarra, Cataluña y Baleares de procedencias francesas de *Th. vulgaris*.

I. 5. 1. 2. *Thymus zygis* Loefl. ex L.

Esta planta, también conocida como tomillo rojo o salsero, florece de mayo a julio y crece desde el nivel del mar hasta 2.000 m.s.n.m. Vive sobre todo tipo de sustrato, desde arenas hasta calizas, con la condición de que estén bien drenados (Morales, 1989). Aparece ampliamente distribuida en la Península Ibérica, con tres subespecies diferentes: *Th. zygis* subsp. *gracilis* (Boiss.) R. Morales, *Th. zygis* subsp. *sylvestris*

(Hoffmanns & Link) Brot. Ex Coutinho, y *Th. zygis* subsp. *zygis* (Hoffmanns & Link) Brot. Ex Coutinho. Las dos primeras se pueden encontrar en el Sudeste de España.

La subespecie *gracilis*, única de porte erecto, es la más comercializada en España, destilándose para extraer su aceite esencial, y explotándose asimismo como “hoja de tomillo” para herboristería. Las otras dos subespecies son de hábito postrado.

Th. zygis subsp *gracilis* crece en el sur de España y norte de África, estando principalmente representado en Andalucía oriental, Albacete y Murcia, tal como se aprecia en la Figura I-8, y es muy utilizado como condimento y para adobo de aceitunas (Morales, 1989).

Blanco *et al.* (2007), detectan también poblaciones de esta subespecie en el centro de Badajoz, sobre terrenos calcáreos, siendo estas poblaciones extremeñas las más occidentales y septentrionales que se conocen.



Fig. I-8. Distribución en la Península Ibérica de *Th. zygis* subsp. *gracilis*.
(Fuente: Sotomayor, 1998).

En cuanto a su morfología, esta especie presenta hojas más estrechas y alargadas que las encontradas en *Th. vulgaris* (Figura I-9).

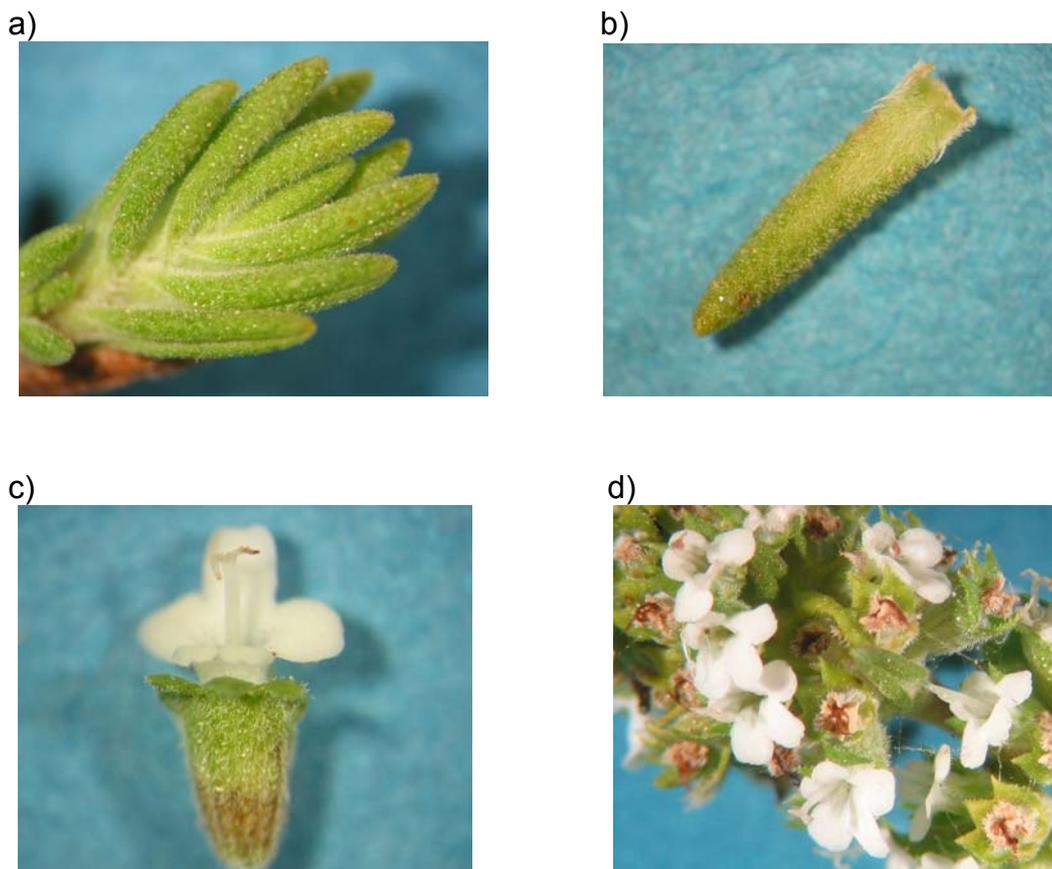


Fig. I-9. Detalle de hojas (a y b), y flores (c y d) de *Th. zygis* subsp. *gracilis*.

Estudios acerca de la composición del aceite esencial de esta subespecie han evidenciado la presencia mayoritaria del quimiotipo timol, con la excepción del quimiotipo linalol (Sánchez Gómez *et al.*, 1995), encontrado en poblaciones de la Sierra de Filabres (Almería).

Desde el punto de vista comercial, el componente con mayor interés económico y que confiere calidad al aceite esencial de estas plantas es el timol. Por ello, *Th. zygis* subsp. *gracilis*, con quimiotipo timol, es el tomillo español más apreciado, ya que esta planta presenta una elevada concentración de este compuesto fenólico en su aceite esencial (Norma UNE 84303), y es el equivalente español del *Th. vulgaris* de origen francés.

Sáez (1995a) analiza las variaciones en la composición del aceite esencial de poblaciones silvestres de *Th. zygis* localizadas en el Sudeste de España, para determinar si dicha composición se ve afectada por las condiciones ambientales. Este autor no encuentra correlación alguna entre los componentes del aceite esencial y variables del medio como altitud, temperatura o pluviometría anual, a un nivel de confianza del 99%. Fijando este porcentaje al 95%, si se aprecian correlaciones, en función de las cuales se puede deducir que la producción de compuestos fenólicos se ve favorecida por la baja altitud, y los climas cálidos y poco lluviosos. Para *Thymus zygis* subsp. *gracilis*, con quimiotipo timol, los datos obtenidos en este estudio muestran un contenido en dicho componente que oscila entre 29,93 y 71,84% cuando las plantas se recolectan en plena floración. Las concentraciones relativas halladas para otros componentes en estas plantas se sitúan entre 2,95–36,41% para el precursor p-cimeno, 0,36–9,29% para γ -terpineno, 2,48–7,89% para linalol, 0,13–1,60% para terpinen-4-ol, 1,63–4,87% para borneol y 1,47–3,34% en el caso de carvacrol. También se identifica un quimiotipo mixto timol/carvacrol, con cantidades de 25,45 y 22,79% respectivamente para ambos constituyentes. En cuanto a las plantas con quimiotipo linalol analizadas por este autor, la concentración de dicho compuesto se encuentra entre 28,64 y 91,40%, siendo esta última cantidad la correspondiente a un quimiotipo linalol puro. Otros constituyentes del aceite esencial de estas plantas son mirceno (0,08–3,14%), limoneno (0,04–3,40%), p-cimeno (0,32–13,44%), acetato de linalilo (0,68–1,63%), terpinen-4-ol (0,22–17,02%) o borneol (0,75–2,38%).

Estos resultados corresponden a plantas silvestres, pero el ensayo experimental de cultivo de tomillo en seco llevado a cabo por Sotomayor (1998) en dos puntos distintos de la Región de Murcia (Moratalla y Torre Pacheco), presenta para *Th. zygis* subsp. *gracilis*, unos resultados para el período 1991–1993 que se resumen en la Tabla I-5, en la que se muestran las cantidades máxima y mínima encontradas para los constituyentes más representativos del quimiotipo timol de esta

subespecie, tras al análisis cromatográfico del aceite esencial. Los datos se refieren a plantas obtenidas de semillas espontáneas procedentes de Liétor (Albacete), recolectadas en floración-fructificación, estado que, como indica este autor, es el más adecuado tanto para el rendimiento como para la calidad del aceite esencial de estas labiadas.

Tabla I-5. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. zygis* subsp *gracilis* (quimiotipo timol)

Componentes	Cantidad (%)	
	Moratalla	Torre Pacheco
α -Pino	1,10 – 3,50	0,20 – 3,10
Canfeno	0,40 – 1,50	0,10 – 1,80
Sabineno	0,10 – 0,20	0,60 – 2,50
Mirceno	1,10 – 2,90	0,20 – 0,70
α -Terpineno	0,50 – 1,30	tr – 0,90
1,8-Cineol	1,70 – 3,10	0,40 – 4,40
γ -Terpineno	2,90 – 9,70	3,90 – 6,50
p-Cimeno	24,70 – 40,90	24,90 – 48,10
Linalol	3,50 – 4,20	3,60 – 5,40
Terpinen-4-ol	1,10 – 3,50	0,90 – 1,40
α -Terpineol	1,00 – 3,10	1,00 – 1,50
Óxido de cariofileno	0,40 – 1,00	0,30 – 1,20
Timol	22,30 – 43,30	14,90 – 50,80
Carvacrol	1,50 – 2,70	1,20 – 3,50

tr = trazas

Por otra parte, en este mismo estudio se identifica un quimiotipo mixto linalol/*trans*-hidrato de sabineno, en plantas procedentes de la Sierra de Filabres (Almería), alcanzándose en la parcela de Torre Pacheco porcentajes de entre 35,70–38,90% y 16,90–22,70% para ambos componentes, respectivamente. En Moratalla, la concentración de linalol se sitúa entre 36,00–47,20%, y el contenido en *trans*-hidrato de sabineno oscila entre 4,70–9,30%.

El cultivo de la subespecie *gracilis* se ha iniciado durante los últimos cuatro o cinco años en el sureste de España (Murcia), obteniéndose plantas ricas en timol.

En la Península Ibérica se dan también las condiciones adecuadas para el desarrollo de *Th. zygis* subsp *sylvestris*. Esta planta presenta igualmente diferentes quimiotipos, siendo los más representativos aquellos en los que aparecen como componentes mayoritarios timol, 1,8-cineol y linalol (Sáez, 1995a).

En el trabajo realizado en Portugal por Moldão-Martins *et al.* (1999) acerca de la variación en la composición del aceite esencial de la subespecie *sylvestris* en diferentes fases del ciclo vegetativo, los constituyentes que se presentan en niveles más elevados son p-cimeno, γ -terpineno, timol, geraniol y acetato de geranilo, todos los cuales muestran variaciones durante el ciclo de vida de la planta. Antes de entrar en el período de floración, la concentración de timol comienza a aumentar hasta alcanzar su nivel máximo coincidiendo con el inicio de dicho período, en tanto que el contenido en p-cimeno experimenta una evolución inversa. Del mismo modo, el geraniol presenta un máximo en época de floración y su valor mínimo aparece durante la parada vegetativa. Los resultados de este estudio aparecen resumidos en la siguiente tabla, en la que se muestran las cantidades relativas que los autores determinan para los componentes cuando el aceite esencial se extrae por destilación mediante un sistema Clevenger:

Tabla I-6. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. zygis* subsp *sylvestris*.

Componentes	Cantidad (%)	
	Floración	Post-floración
α -Tujeno	1,00	1,50
α -Pino	1,00	1,70
Canfeno	1,40	2,80
Mirceno	1,40	1,70

Tabla I-6 (continuación)

Componentes	Cantidad (%)	
	Floración	Post-floración
Limoneno	1,60	1,70
p-Cimeno	13,60	13,60
1,8-Cineol	0,40	0,70
γ -Terpineno	13,60	11,20
Terpinen-1-ol	0,70	0,70
Linalol	2,40	2,40
Borneol	2,10	2,10
Geraniol	18,20	21,90
Timol	23,80	21,00
Carvacrol	1,30	1,00
Acetato de geranilo	16,30	16,50
β -Cariofileno	3,60	3,50

Th. zygis subsp. *zygis* es un endemismo de la mitad norte peninsular, encontrándose en regiones interiores de Lérica a Portugal. Su aceite esencial muestra una abundante presencia de acetato de terpenilo (Morales, 1986). El quimiotipo timol es también muy común en esta subespecie (Salgueiro *et al.*, 1993).

I. 5. 1. 3. *Thymus hyemalis* Lange.

Arbusto endémico del Sudeste Ibérico, encontrándose en el sur de Alicante, Murcia y Almería (Figura I-10), y al parecer se presentan formas muy parecidas en el norte de África.

Se conoce como tomillo de invierno, ya que esta es su época de floración en estado silvestre.



Fig. I-10. Distribución en la Península Ibérica de *Th. hyemalis* (Fuente: Sotomayor, 1998).

Planta termófila, perfectamente adaptada a las condiciones áridas del SE Ibérico, cuya fenología invernal no le permite instalarse en lugares con inviernos muy fríos. El hecho de que la estación natural de floración de esta especie sea el invierno demuestra la amplia gama de adaptaciones que presentan los tomillos, cuya finalidad es favorecer la polinización al existir menor competencia, ya que el número de especies que florecen en esta época del año es menor (Morales, 1989).

Th. hyemalis es una planta de tendencia basófila que crece principalmente sobre calizas, margas, suelos yesosos y rocas volcánicas. Vive desde el nivel del mar hasta 400–700 m.s.n.m.

Una característica morfológica de esta especie son los cilios que presenta en la base de las hojas (Figura I-11).

Diversos autores han estudiado la gran variabilidad que presenta la composición química del aceite esencial de esta planta (Adzet *et al.*, 1976b; Cabo *et al.*, 1986; Sáez, 1995b). Los quimiotipos más comunes son timol, carvacrol, linalol y borneol.

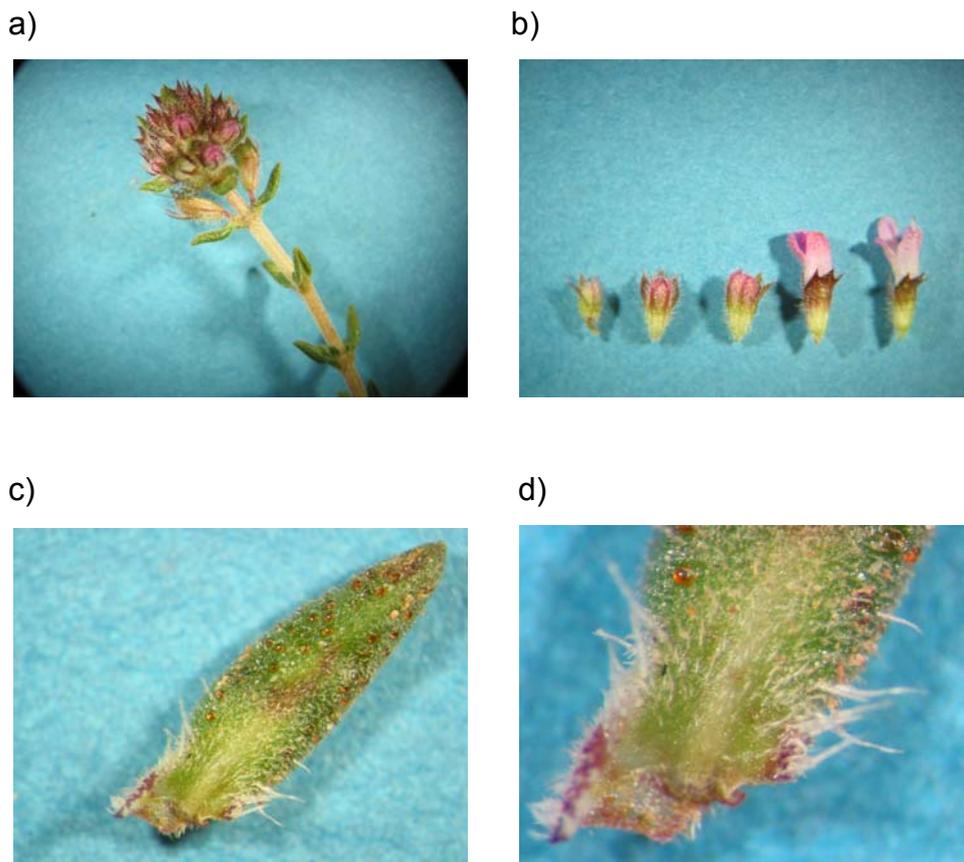


Fig. I-11. Detalle de inflorescencia (a), flores (b), y hojas ciliadas en su base (c y d) de *Th. hyemalis*.

Sotomayor (1998) encuentra, en el ensayo realizado en Murcia, plantas que presentan mayoritariamente quimiotipo timol, variando la concentración de este compuesto de 24,70 a 15,40% en el período 1991–1993.

Plantas con borneol como principal constituyente muestran una cantidad relativa de hasta el 17,76% para este alcohol (Jiménez *et al.*, 1989). Estos mismos autores cuantifican para una de las poblaciones de *Th. hyemalis* objeto de estudio un porcentaje de timol que alcanza el 52,33%, indicando que debe existir una ruta biosintética preferente, que conduce a la formación de fenoles, y una segunda ruta que culminaría con la síntesis de borneol.

Otros autores (Cabo *et al.*, 1987), en plantas recolectadas en la sierra de Alfacar en Granada, encuentran como componentes más importantes 1,8-cineol, mirceno y alcanfor, con concentraciones máximas de 26,80%, 31,30% y 19,00% respectivamente.

Martínez *et al.* (2005) realizan un estudio para comprobar el efecto de distintas condiciones edafoclimáticas sobre el rendimiento y la calidad del aceite esencial de esta especie. Para ello se analizan plantas cultivadas en dos puntos de la Región de Murcia: Torre Pacheco (finca experimental Torreblanca), a 45 m.s.n.m., y La Paca (Lorca), a 690 m.s.n.m. Las plantas se recolectan en estado de floración-fructificación, no encontrando los autores diferencias significativas en cuanto al rendimiento en aceite esencial obtenido en las dos localidades estudiadas. Sin embargo, los análisis cromatográficos efectuados a dichos aceites muestran perfiles volátiles distintos en función de la zona, siendo los aceites de La Paca más ricos en componentes alcohólicos de bajo peso molecular, así como en compuestos fenólicos, si bien no se aprecian diferencias significativas en cuanto al contenido en timol. No obstante, los valores medios obtenidos en La Paca para este fenol definitorio de calidad tienden a ser mayores que los obtenidos en Torreblanca.

Los resultados que se exponen a continuación representan la media y la desviación estándar relativa (RSD) encontradas para los principales componentes identificados en ambas zonas de cultivo.

Tabla I-7. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. hyemalis* en dos localidades de Murcia.

Componentes	La Paca		Torreblanca	
	Media	RSD	Media	RSD
α -Pino	1,63	47	0,98	79
Mirceno	0,81	21	0,84	20
α -Terpineno	1,29	23	1,71	36
p-Cimeno	23,73	18	24,38	26

Tabla I-7 (continuación)

Componentes	La Paca		Torreblanca	
	Media	RSD	Media	RSD
Limoneno	1,08	31	1,01	57
1,8-Cineol	1,28	152	1,35	149
γ -Terpineno	11,10	38	14,11	30
Linalol	1,44	54	1,46	59
Alcanfor	0,74 ^a	45	0,35 ^b	46
Borneol	2,15 ^a	81	0,25 ^b	96
Verbenona	3,70	50	2,98	45
Éter metílico de timol	0,55 ^a	85	0,08 ^b	125
Éter metílico de carvacrol	0,11 ^a	100	0,03 ^b	167
Timol	32,59	19	25,79	24
Carvacrol	1,69	27	1,39	29
β -Cariofileno	0,87	38	1,02	58

^{a, b} Valores con distinto superíndice en la misma línea presentan diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

I. 5. 1. 4. *Thymus baeticus* Boiss ex Lacaita.

Es un arbusto ampliamente distribuido en el sudeste de la Península Ibérica (Murcia, Almería, Granada, Málaga, Cádiz y Jaén). Florece desde finales de marzo hasta mediados de julio y se encuentra desde el nivel del mar hasta 1.500 m.s.n.m. En esta planta se han identificado varios quimiotipos en estudios realizados por diferentes autores.

Elena-Roselló (1984) identifica mayoritariamente quimiotipos mixtos en poblaciones de Granada y Almería.

Cabo *et al.* (1989), estudiando la composición del aceite esencial de este tomillo mediante distintas técnicas, destacan la práctica ausencia de compuestos fenólicos con cualquiera de los métodos empleados.

Por su parte, Castillo *et al.* (1991) llevan a cabo un estudio de esta especie en Granada, encontrando plantas con quimiotipos geraniol, terpinen-4-ol, borneol y α -terpineol. También determinan una fuerte presencia de 1,8-cineol en la mayoría de las muestras analizadas.

Sáez Soto (1996) observa, en el sudeste peninsular, una tendencia predominante a la formación de terpinen-4-ol, aunque con frecuencia encuentra plantas con otros constituyentes mayoritarios como fenoles, borneol, linalol y otros compuestos. Esto último puede deberse a interacciones genéticas con otras especies que presentan habitualmente estos quimiotipos, siendo especialmente importante la formación de híbridos con *Thymus hyemalis*.

En un estudio sobre *Thymus x aradanus*, Soriano *et al.* (1997) determinan una composición para *Th. baeticus* (uno de sus parentales) de *trans*-hidrato de sabineno (18,20%), linalol (6,20%), terpinen-4-ol (6,50%), borneol (13,70%) y verbenona (7,30%).

Sotomayor (1998) encuentra los quimiotipos *trans*-hidrato de sabineno, linalol, α -terpineol y alcanfor, así como algunos híbridos con quimiotipo mixto.

Un trabajo sobre *Th. baeticus* recolectado en floración en el sudeste de España realizado por Sáez (1999) muestra una gran variabilidad entre las plantas analizadas, aunque se detecta un elevado número de individuos caracterizados por la presencia de terpinen-4-ol en su aceite esencial. En una de las localidades estudiadas se encontraron muestras con grandes cantidades relativas de 1,8-cineol, pero esto puede ser consecuencia de la formación de híbridos con *Thymus mastichina*, planta que se distingue por la presencia de este componente en su aceite esencial, y que crece en esa misma zona. Las muestras fueron tomadas entre 1990–1993 en diferentes localizaciones, y las concentraciones

relativas halladas para los constituyentes más importantes fueron las siguientes:

Tabla I-8. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. baeticus*.

Componentes	Cantidad (%)
α -Pinoeno	0,54 – 10,53
Canfeno	0,14 – 4,98
α -Terpineno	0,04 – 4,14
Limoneno	0,08 – 4,83
1,8-Cineol	0,33 – 56,23
γ -Terpineno	0,07 – 9,96
p-Cimeno	1,88 – 37,60
<i>trans</i> -Hidrato de sabineno	0,11 – 20,18
Alcanfor	0,07 – 2,43
Linalol	0,61 – 24,58
Terpinen-4-ol	1,07 – 28,82
Neral	0,40 – 2,07
α -Terpineol	1,75 – 15,21
Borneol	1,17 – 53,62
Geranial	0,18 – 14,95
Acetato de geranilo	0,20 – 14,08

I. 5. 1. 5. *Thymus camphoratus* Hoffmanns. & Link.

Planta que suele vivir sobre terrenos arenosos en dunas estabilizadas, arenas asentadas sobre calizas o calizas arenosas. Se encuentra cerca del mar, y puede formar grandes tomillares. Florece de finales de marzo a junio, sobre todo en abril y mayo (Morales, 1986). Esta especie es un endemismo de Portugal.

Salgueiro *et al.* (1997d) realizan un estudio acerca de la composición y variabilidad del aceite esencial de esta planta, recolectando muestras en siete poblaciones de las regiones del Algarve y Bajo Alentejo cuando las plantas se encuentran en floración. Los resultados obtenidos

por estos investigadores, detallados en la Tabla I-9, muestran importantes diferencias en los principales constituyentes encontrados, como borneol, 1,8-cineol, linalol, *trans*-hidrato de sabineno y terpinen-4-ol, los cuales oscilan en un amplio rango.

Tabla I-9. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. camphoratus*.

Componentes	Cantidad (%)
α -Pino	7,00 – 11,00
Canfeno	0,50 – 10,30
Sabineno	0,90 – 5,30
Limoneno	1,00 – 2,00
γ -Terpineno	0,20 – 3,90
<i>trans</i> -Ocimeno	0,20 – 3,00
1,8-Cineol	3,90 – 20,00
<i>trans</i> -Hidrato de sabineno	0,10 – 10,80
Alcanfor	0,20 – 6,80
Linalol	3,00 – 21,00
Acetato de linalilo	0,10 – 8,00
Acetato de bornilo	0,10 – 3,80
Terpinen-4-ol	1,40 – 10,20
<i>trans</i> -Verbenol	1,10 – 2,90
α -Terpineol	1,00 – 5,50
Borneol	0,60 – 24,00
Acetato de geranilo	tr – 6,70
<i>cis</i> - α -Bisaboleno	tr – 4,50
β -Óxido de Cariofileno	0,40 – 3,50
T-Cadinol	tr – 8,30
Intermedeol	tr – 6,50

tr = trazas

I. 5. 1. 6. *Thymus mastichina* (L.) L.

Se trata de una planta endémica de la Península Ibérica, con excepción de Cataluña y Levante. Florece de mayo a junio, y vive desde el nivel del mar hasta 1.800 m.s.n.m. La Sección *Mastichina* incluye tres

taxones: *Th. mastichina* (L.) L. subsp. *mastichina*, *Th. mastichina* (L.) L. subsp. *donyanae* R. Morales y *Th. albicans* Hoffmanns y Link.

García Vallejo *et al.* (1984), y Velasco Negueruela y Pérez Alonso (1986) identifican tres quimiotipos en la Península Ibérica para la subespecie *mastichina*: 1,8-cineol, linalol y el mixto linalol/1,8-cineol. En cuanto a los estudios realizados en el Sudeste Ibérico, Sánchez-Gómez *et al.* (1991) encuentran los quimiotipos 1,8-cineol y el híbrido 1,8-cineol/alcanfor, mientras Soriano *et al.* (1997), determinan la presencia en la Región de Murcia del quimiotipo mixto 1,8-cineol (42,60%)/linalol (32,80%).

Sotomayor (1998) encuentra este mismo quimiotipo en un ensayo realizado igualmente en Murcia, siendo los porcentajes determinados para los constituyentes principales identificados en este estudio, cuando las plantas se encuentran en estado de floración-fructificación, los siguientes: α -pineno (1,70–3,60%), β -pineno (2,60–4,70%), sabineno (1,70–3,20%), mirceno (0,80–1,30%), limoneno (2,30–2,90%), 1,8-cineol (46,10–52,20%), p-cimeno (0,70–1,90%), linalol (20,10–29,00%), y α -terpineol (1,90–4,70%).

Salgueiro *et al.* (1997a) analizan la composición y variabilidad de los aceites esenciales de los tres taxones de la Sección *Mastichina* en Portugal, identificando y cuantificando como componentes mayoritarios los reflejados en la Tabla I–10.

Tabla I–10. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. mastichina*.

Componentes	Cantidad (% valores medios)		
	A	B	C
α -Pineno	3,60	4,00	4,30
Canfeno	1,60	5,20	2,60
β -Pineno	4,00	3,80	5,00
Sabineno	2,80	2,20	3,00

Tabla I-10 (continuación)

Componentes	Cantidad (% valores medios)		
	A	B	C
Mirceno	1,60	1,20	1,70
Limoneno	1,50	1,10	0,40
1,8-Cineol	53,30	38,40	34,90
<i>trans</i> - β -Ocimeno	1,10	0,10	0,60
γ -Terpineno	0,50	1,00	0,70
Alcanfor	1,40	1,20	1,20
Linalol	5,50	2,60	14,20
Terpinen-4-ol	1,40	1,40	1,80
β -Cariofileno	1,30	1,00	0,90
δ -Terpineol	2,00	1,70	2,40
α -Terpineol	4,40	4,80	8,50
Borneol	2,60	15,30	4,60
Viridiflorol	0,20	1,30	1,00

A = *Th. mastichina* ssp *mastichina*

B = *Th. mastichina* ssp *donyanae*

C = *Th. albicans*

El elevado contenido en 1,8-cineol es una característica común a los tres taxones de la Sección *Mastichina*.

I. 5. 1. 7. *Thymus piperella* L.

Se trata de una planta endémica de la provincia de Valencia, norte de Alicante, este de Albacete y norte de Murcia, que florece de junio a octubre, especialmente en septiembre y octubre. Vive generalmente sobre suelos pedregosos, en conglomerados, calizas o margas, desde una altitud próxima al nivel del mar hasta 1.100 m.s.n.m. (Morales, 1986).

Los trabajos realizados sobre la composición del aceite esencial de esta especie han permitido establecer la existencia de tres quimiotipos: p-cimeno/carvacrol/ γ -terpineno, p-cimeno/timol y p-cimeno/carvacrol.

Sotomayor (1998), en un cultivo realizado en Murcia, identifica como componentes mayoritarios p-cimeno (34,30–48,40%), γ -terpineno (11,90–23,40%) y carvacrol (13,80–14,50%). Otros componentes encontrados por este autor son α -pineno (2,10–3,30%), canfeno (0,50–1,20%), α -terpineno (1,70–1,90%), limoneno (0,80–1,60%), 1,8-cineol (1,50–2,00%), linalol (2,50–3,50%), terpinen-4-ol (1,50–3,80%) y α -terpineol (1,10–1,60%).

En un ensayo desarrollado para determinar la variabilidad en la composición química del aceite esencial de esta especie, Blanquer *et al.* (1998) reconocen los tres quimiotipos mencionados anteriormente en muestras tomadas en Albacete, Alicante y Valencia. Los componentes mayoritarios de los aceites esenciales analizados por estos autores son p-cimeno, carvacrol, γ -terpineno y timol. Estos compuestos están relacionados biosintéticamente. Los valores de media y desviación estándar (SD) obtenidos para estos y otros constituyentes del aceite esencial de *Th. piperella*, son:

Tabla I-11. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. piperella*.

Componentes	Quimiotipo A		Quimiotipo B		Quimiotipo C	
	Media (%)	S. D.	Media (%)	S. D.	Media (%)	S. D.
α -Pineno	2,64	1,15	2,10	0,80	1,78	1,20
Mirceno	1,33	0,45	1,36	0,57	0,79	0,45
p-Cimeno	43,27	9,14	44,82	10,64	52,10	16,22
Limoneno	3,15	1,74	1,66	0,87	1,86	1,14
1,8-Cineol	1,25	0,99	0,60	0,52	1,37	1,40
γ -Terpineno	13,98	4,41	4,34	3,99	4,29	3,62
Linalol	2,88	2,04	1,40	1,50	2,40	1,24
Borneol	1,84	0,67	2,54	0,87	2,80	1,65
Timol	1,51	2,75	22,96	8,98	1,28	1,22
Carvacrol	15,76	5,48	1,70	0,91	18,10	7,62
β -Cariofileno	3,10	0,98	2,22	0,72	1,54	0,89

A = p-cimeno/carvacrol/ γ -terpineno

Tabla I-11 (continuación)

B = p-cimeno/timol

C = p-cimeno/carvacrol

Igualmente, Boira y Blanquer (1998) estudian la relación entre las condiciones ambientales y la variabilidad en la composición química del aceite esencial de *Th. piperella* en las mismas localizaciones, determinando que los principales componentes fenólicos de dicho aceite esencial están relacionados con el índice de aridez y otras variables.

I. 5. 1. 8. *Thymus caespitius* Brot.

Es esta una especie endémica del noroeste de la Península Ibérica y de los archipiélagos de Azores y Madeira, aunque Blanco *et al.* (2007) localizan poblaciones de este tomillo al norte de la provincia de Cáceres, en las estribaciones de la Sierra de Gata. Su período de floración abarca desde finales de mayo hasta comienzos de agosto. Para desarrollarse necesita cierta humedad ambiental y no tolera bien las heladas. Crece desde el nivel del mar hasta 1.200 m.s.n.m. (Morales, 1986).

En muestras recolectadas en el NO de Portugal, Salgueiro *et al.* (1997c) encuentran como característico de esta zona un quimiotipo α -terpineol, mientras timol y carvacrol son los constituyentes mayoritarios en plantas recolectadas en Azores. Estas diferencias estarían relacionadas con las distintas condiciones climáticas y de suelo que caracterizan ambas zonas. La Tabla I-12 especifica la concentración relativa hallada por estos autores para los componentes que se encuentran en mayor proporción.

Tabla I-12. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. caespititius*.

Componentes	Cantidad (%)	
	NO Portugal	Azores
α -Tujeno	0,30 - 1,10	2,60
α -Pino	0,30 - 1,20	1,90
Mirceno	1,00 - 2,50	0,00
p-Cimeno	6,00 - 9,10	6,80
Limoneno	1,10 - 2,00	0,40
γ -Terpineno	3,70 - 6,90	1,70
Borneol	1,00 - 2,50	0,10
Terpinen-4-ol	0,90 - 2,00	0,90
α -Terpineol	30,60 - 40,50	5,10
Timol	tr - 0,20	16,10
Carvacrol	tr - 0,10	36,30
β -Cariofileno	0,80 - 3,60	0,00
γ -Cadineno	2,00 - 3,70	0,50
<i>trans</i> -Dihidroagarofurano	1,00 - 3,00	1,70
β -Elemol	0,60 - 2,00	0,40
Epímero de guaiol	1,40 - 2,50	2,40
T-Cadinol	6,20 - 8,70	1,30

tr = trazas

Pereira *et al.* (2000), restringiéndose a la isla de San Jorge (Azores), analizan plantas recolectadas en diferentes localizaciones durante la época de floración. *Th. caespititius* es el único representante del género *Thymus* en el archipiélago de Azores, siendo además una de las pocas plantas de este archipiélago que puede crecer en un amplio rango de altitudes. Estos autores observan un gran polimorfismo químico en el aceite esencial de estas plantas, que parece ser debido a la variabilidad genética o a la influencia de factores edáficos. Entre los componentes identificados en este estudio destacan sabineno (0,10–40,90%), α -terpineol (trazas–68,30%), timol (1,40–57,90%) y carvacrol (0,50–52,30%).

I. 5. 1. 9. *Thymus pulegioides* L.

Planta que vive en hábitats con gran cantidad de agua, lugares de escorrentía o bordes de arroyos (Morales, 1986). En la Península Ibérica sólo se encuentra en la mitad septentrional.

Presenta una gran variabilidad en la composición química de su aceite esencial, como se desprende del trabajo realizado por Ložienė *et al.* (2003), los cuales, en un estudio desarrollado en Lituania, describen cinco quimiotipos para esta especie:

- 1) linalol
- 2) geranial/geraniol/neral
- 3) timol
- 4) carvacrol/ γ -terpineno/p-cimeno
- 5) timol/carvacrol/p-cimeno/ γ -terpineno

Mockute y Bernotiene (1999) analizan el aceite esencial de estas plantas que crecen en estado silvestre en Lituania, encontrando en la mayor parte de las localidades investigadas los quimiotipos citral/geraniol y carvacrol. Los componentes más importantes identificados en el quimiotipo citral/geraniol son: geraniol (14,90–30,80%), geranial (*trans*-citral, 9,70–19,70%), β -cariofileno (6,00–11,40%), nerol (4,10–11,80%) y neral (*cis*-citral, 0,10–9,50%). Los aceites esenciales que presentan quimiotipo carvacrol contienen mayoritariamente este fenol (16,00–22,20%), además de β -bisaboleno (11,10–20,20%), β -cariofileno (11,10–19,10%), γ -terpineno (5,80–16,20%), p-cimeno (5,50–0,40%), timol (3,30–9,80%) y éter metílico de carvacrol (5,60–8,60%).

Estos mismos autores llevan a cabo un estudio de los dos quimiotipos de *Thymus pulegioides* anteriores y un tercer quimiotipo, acetato de α -terpenilo, durante 1996–1997 (Mockute y Bernotiene, 2001), obteniendo los siguientes resultados:

Tabla I-13. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. pulegioides*.

Componentes	Cantidad (%)		
	acetato de α -terpenilo	citral/geraniol	carvacrol
p-Cimeno	0,10 – 2,60	0,10 – 1,80	5,50 – 10,10
γ -Terpineno	0,20 – 1,50	0,10 – 1,60	5,90 – 14,50
Linalol	tr – 0,10	0,40 – 13,70	0,40 – 0,60
Nerol	tr	4,20 – 5,70	tr
Neral (<i>cis</i> -citral)	tr – 0,10	1,10 – 9,50	tr
Éter metílico de carvacrol	tr – 2,50	tr – 1,10	5,90 – 8,90
Geraniol	0,10 – 4,90	16,30 – 29,20	1,30 – 5,70
Geranial (<i>trans</i> -citral)	tr – 0,10	9,70 – 16,10	1,10 – 3,10
Timol	0,10 – 0,50	0,30 – 1,10	4,30 – 8,30
Carvacrol	0,20 – 5,60	1,90 – 5,60	16,00 – 25,50
Acetato de α -terpenilo	49,50 – 70,40	tr	0,10 – 1,20
β -Cariofileno	6,20 – 11,50	7,40 – 9,60	11,40 – 15,80
β -Bisaboleno	2,80 – 5,10	3,40 – 6,90	11,10 – 12,20
Óxido de cariofileno	0,90 – 2,30	2,40 – 8,10	2,60 – 5,40

tr = trazas

I. 5. 1. 10. *Thymus villosus* L.

Esta especie florece de mayo a agosto y se encuentra distribuida en la mitad sur de Portugal, Cáceres, Ciudad Real y Toledo. Es una planta esporádica que no forma grandes tomillares (Morales, 1986), para la que se han descrito dos subespecies: *Th. villosus* subsp. *villosus* y *Th. villosus* subsp. *lusitanicus* (Boiss.) Coutinho. Ambas subespecies pueden ser fácilmente diferenciadas por la composición de sus aceites esenciales.

Respecto a *Th. villosus* subsp. *villosus*, Salgueiro *et al.* (1997b) identifican varios quimiotipos en su aceite esencial, siendo p-cimeno un constituyente importante (10,90–28,00%) para casi todas las muestras analizadas. Así, los quimiotipos identificados para esta planta son: p-cimeno/alcanfor/linalol, p-cimeno/borneol, linalol/geraniol/acetato de geraniol y α -terpineol/alcanfor/mirceno.

Este mismo equipo de investigación realiza un estudio quimiotaxonómico de *Th. villosus* subsp. *lusitanicus* (Salgueiro *et al.*, 2000b), determinando los siguientes quimiotipos: linalol, linalol/terpinen-4-ol/*trans*-hidrato de sabineno, linalol/1,8-cineol, acetato de geranilo/geraniol y acetato de geranilo/geraniol/1,8-cineol. Los principales componentes hallados en el aceite esencial de esta subespecie presentan importantes diferencias, oscilando su cantidad relativa en un rango bastante amplio. La Tabla I-14 resume los resultados de este trabajo.

Tabla I-14. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. villosus*.

Componentes	Cantidad (%)
α -Pino	0,60 – 1,10
Mirceno	0,80 – 4,20
Limoneno	1,10 – 2,00
1,8-Cineol	1,00 – 5,00
γ -Terpineno	1,00 – 5,50
p-Cimeno	1,60 – 5,00
<i>trans</i> -Hidrato de sabineno	1,60 – 3,80
Alcanfor	0,10 – 2,00
Linalol	9,00 – 24,50
<i>cis</i> -Hidrato de sabineno	0,50 – 2,00
Terpinen-4-ol	5,00 – 15,20
Neral	0,20 – 1,80
α -Terpineol	0,80 – 2,60
Geranial	0,30 – 2,00
Acetato de geranilo	11,50 – 23,90
Geraniol	7,20 – 18,00
β -Elemol	0,40 – 2,00

Estos autores comentan que el polimorfismo químico que aprecian en sus resultados también se presenta en plantas recolectadas en España, distinguiéndose las plantas portuguesas de las españolas porque éstas poseen mayor cantidad de alcanfor, borneol y 1,8-cineol que las

portuguesas, y sin embargo no tienen acetato de geranilo ni geraniol, que están presentes en elevadas concentraciones en las plantas lusas.

I. 5. 1. 11. *Thymus lotocephalus* G. López & R. Morales.

Planta endémica del Algarve portugués. Vive preferentemente sobre suelos ácidos, pero también sobre arcillas y calizas descarbonatadas, desde 50 hasta 450 m.s.n.m. Florece de abril a junio (Morales, 1986).

En un estudio publicado por Salgueiro *et al.* (2000a) se evidencian importantes diferencias entre los componentes mayoritarios de esta planta, especialmente linalol y acetato de geranilo, incluso cuando las muestras se toman en localizaciones relativamente próximas. Cinco quimiotipos han sido determinados por estos autores en plantas recolectadas en el mismo estado de desarrollo: linalol, 1,8-cineol, linalol/1,8-cineol, acetato de linalilo/linalol y acetato de geranilo, demostrando así la elevada variabilidad intraespecífica que presenta el aceite esencial de esta planta, que se considera una especie poco común. Los análisis cromatográficos que llevan a cabo proporcionan los siguientes resultados:

Tabla I-15. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. lotocephalus*.

Componentes	Cantidad (%)
α-Pineno	5,00 – 9,00
Limoneno	1,20 – 2,00
1,8-Cineol	6,90 – 12,70
p-Cimeno	0,50 – 1,30
<i>trans</i> -Hidrato de sabineno	0,50 – 3,00
Alcanfor	1,60 – 6,50
Linalol	3,70 – 16,50
Acetato de linalilo	0,10 – 3,00

Tabla I-15 (continuación)

Componentes	Cantidad (%)
Acetato de bornilo	0,50 – 2,30
Terpinen-4-ol	0,90 – 3,90
β -Cariofileno	0,90 – 2,00
<i>trans</i> -Verbenol	1,90 – 3,30
Borneol	2,10 – 3,80
Acetato de geranilo	0,20 – 15,00
β -Óxido de Cariofileno	3,50 – 5,90
Ledol	1,40 – 3,40
Viridiflorol	2,20 – 7,00
Intermedeol	0,20 – 9,50

En este mismo trabajo, estos investigadores se refieren también a *Thymus x mourae*, un híbrido natural entre *Th. lotocephalus* y *Th. mastichina* subsp. *donyanae*, cuyos principales constituyentes son 1,8-cineol (23,50%) y borneol (14,70%).

I. 5. 1. 12. *Thymus serpylloides* Bory subsp. *gadorensis* (Pau) Jalas.

En un trabajo realizado por Sáez (2001) sobre plantas silvestres recolectadas en el Sudeste de España, muchos de los individuos analizados muestran un quimiotipo fenólico, en tanto que otro importante grupo de plantas presentan linalol como principal constituyente. También son identificados otros componentes como geraniol, mirceno, óxido de cariofileno, terpinen-4-ol y 1,8-cineol. Las concentraciones relativas detectadas para estos componentes oscilan en función de las localidades en las que se recolectan las plantas, tal como se muestra en la Tabla I-6.

Tabla I-16. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. serpylloides*.

Componentes	Cantidad (%)
Mirceno	0,13 – 39,39
1,8-Cineol	0,12 – 10,52
γ-Terpineno	0,31 – 11,70
p-Cimeno	1,08 – 30,85
Linalol	0,06 – 29,38
Terpinen-4-ol	0,13 – 11,71
Geraniol	0,26 – 79,99
Óxido de cariofileno	0,31 – 6,28
Timol	0,90 – 18,50
Carvacrol	0,13 – 20,13

I. 6. INTERÉS ECONÓMICO DEL GÉNERO *THYMUS*.

I. 6. 1. Materia prima para la industria.

En los últimos años han aumentado las exigencias por parte de la industria con respecto a los parámetros de calidad de los distintos productos empleados como materias primas, lo que afecta directamente a las plantas de interés comercial, entre las que se incluyen las distintas especies medicinales y aromáticas. Por otro lado, la explotación de la vegetación silvestre, fuente tradicional de este tipo de plantas, puede dar lugar a fraudes, heterogeneidad en el contenido de principio activo según el grado de desarrollo de los individuos, diferentes ecotipos, etc. (Pascual, 2000). Algunas especies están además en peligro de extinción en el medio natural, lo que ha llevado a las distintas Comunidades Autónomas a establecer normas para asegurar la conservación de las poblaciones vegetales, como ha ocurrido en la Región de Murcia con la creación del Catálogo Regional de Flora Silvestre Protegida (Conserjería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente, 2003).

Los parámetros de calidad abarcan cada día más campos, tales como el uso de semillas determinadas, abonos y plaguicidas, así como especificaciones de cosecha y de secado. Cada vez más, las empresas y en especial la industria farmacéutica, están implantando sistemas de aseguramiento de la calidad como los de la serie ISO 9000, lo que implica que necesitan documentar el origen de sus materias primas (Pascual, 2000).

Todo esto propicia la necesidad de fomentar el cultivo de las plantas de utilidad industrial, mediante sistemas de producción integrada, con el fin de conseguir productos de calidad, de forma rentable y respetando el medio ambiente. Sólo a partir de cultivos controlados se pueden garantizar las materias primas libres de contaminantes que exigen las diferentes industrias.

Los aceites esenciales obtenidos de las plantas aromáticas se encuentran entre estas materias primas. Son productos comercialmente importantes debido a sus diversas aplicaciones, cuya demanda va en aumento frente a las sustancias obtenidas por síntesis química, dada la tendencia cada vez más marcada hacia los productos naturales que se aprecia entre los consumidores. La estandarización del sector de estos aceites ha ayudado a determinar cuáles son los usados preferentemente por la industria, y fijar algunos niveles de calidad para ellos, como se desprende del trabajo del comité técnico ISO para aceites esenciales (ISO/TC 54), en el cual se establecen métodos de análisis y especificaciones de calidad para estos productos, determinándose las características físico-químicas y organolépticas, así como el perfil cromatográfico de los diferentes aceites esenciales.

Dado que la calidad y el precio de algunos aceites se basan a menudo en la cantidad relativa de un determinado componente, la separación y cuantificación de los constituyentes individuales es muy importante, por lo que las técnicas empleadas para el análisis de estas sustancias han evolucionado y mejorado paralelamente a los

requerimientos de calidad exigidos para estos y otros productos. Con ello se obtienen mejores resultados, pudiéndose identificar compuestos que se encuentran a muy baja concentración al desarrollarse instrumentos con límites de detección más bajos. La aplicación de estos métodos analíticos permite caracterizar y autenticar los diferentes aceites, así como detectar adulteraciones.

El incremento en la demanda de aceites, paralelo al incremento de proveedores, origina el desarrollo de métodos rápidos de control de calidad, pudiéndose emplear técnicas como la Espectroscopia Raman, que permite medidas directas sobre secciones de la planta para analizar el aceite esencial sin necesidad de extraerlo. Se trata de una técnica rápida y no destructiva, que proporciona una caracterización aproximada de los aceites, siendo necesarias la Cromatografía de Gases y Espectrometría de Masas para conseguir una caracterización detallada (Strehle *et al.*, 2006).

La normalización de este sector adquiere gran importancia ya que permite facilitar el comercio a nivel mundial. En este sentido, con datos obtenidos en 1994, la producción global estimada para estas sustancias se sitúa por encima de las 42.000 toneladas (t), con un volumen de comercio que supera los 600 millones de dólares. En la Figura I-12 se detalla cómo se distribuye, por países, esta producción (ISO/TC 54, 2004).

Estados Unidos produce casi un 24% del aceite esencial que se comercializa en todo el mundo, seguido de China, que aporta un 18% a este mercado. La producción de aceite esencial en España se sitúa en el 1,6% del total, lo que se traduce en unos 10 millones de dólares.

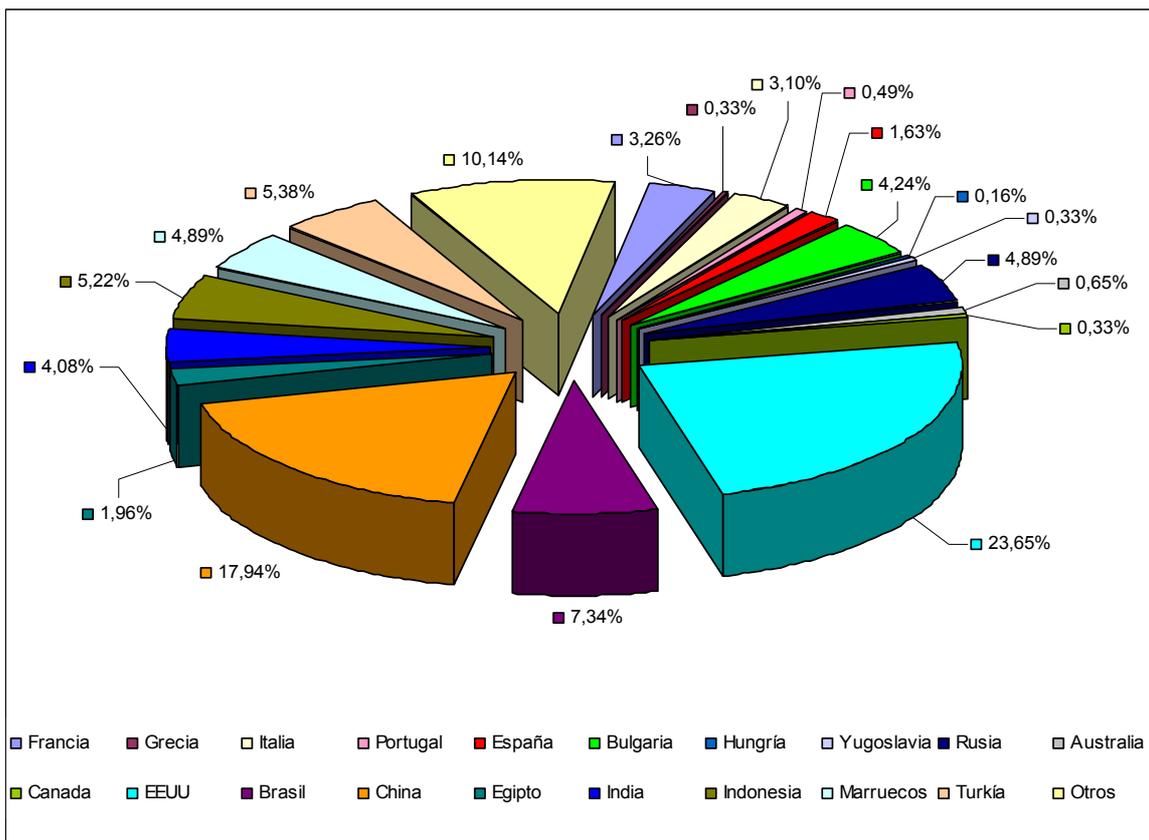


Fig. 1-12. Producción mundial estimada de aceites esenciales (%).

Con datos más recientes, extraídos de las Estadísticas de Comercio Exterior, ESTACOM, del Instituto Español de Comercio Exterior (ICEX), y concernientes a las exportaciones españolas de aceites esenciales, encontramos un volumen de comercio que se acerca a los 40 millones de euros en 2006 (Tabla I-17):

Tabla I-17. Comercio exterior de aceites esenciales.

	2003	2004	2005	2006
<i>Toneladas</i>	2.936	2.803	2.960	3.048
<i>Millones de euros</i>	29,98	32,10	39,43	39,76

1. 6. 2. Importancia del tomillo en la economía española.

España es un país con una amplia variedad de condiciones edafoclimáticas, y ello conduce a una gran biodiversidad. Esto convierte a este país en uno de los de mayor riqueza florística de Europa, con una abundante flora aromático-medicinal espontánea, formada por más de un millar de especies, con numerosos endemismos (Muñoz, 1987). Muchos autores de tratados botánicos ponen de manifiesto esta alta especificidad de nuestra flora, donde las especies se desdoblan a su vez en numerosas subespecies como adaptación a los distintos hábitats que ofrece el territorio español.

Esa misma diversidad, que botánicamente es muy deseable, juega en contra de la homogeneidad necesaria para la explotación comercial de las plantas aromáticas y medicinales, que deberían conseguir, al igual que el resto de productos agroalimentarios, un estándar de producción, reproducible en el tiempo en cuanto a cantidad y calidad. Transformar esa biodiversidad en una producción agrícola racionalizada permitiría a la producción aromático-medicinal española tener un alto grado de competitividad (Gómez Orea *et al.*, 1999).

El cultivo de plantas aromáticas puede resultar especialmente interesante para la economía murciana. El microclima de esta región, caracterizado por un clima cálido en las comarcas cercanas a la costa, la mediana altitud y el clima continental del interior, y las sierras que limitan la región, ofrece diferentes y variadas condiciones ambientales, climáticas y ecológicas que son especialmente favorables para el establecimiento de cultivos. El clima y el suelo de esta zona proporcionan una flora aromática silvestre muy diversificada y de imagen apreciada en el mercado internacional, entre la que destacan tomillo, mejorana, romero, salvia española, hinojo y otras especies que suministran materia prima para los envasadores de infusiones y para las industrias de destilación (Gómez Orea *et al.*, 1999).

Emplear esta riqueza en plantas officinales para establecer explotaciones agrícolas también puede repercutir positivamente en el desarrollo industrial de esta región, considerando que las primeras empresas del sector químico y farmacéutico en la Región de Murcia surgieron a partir de la extracción de compuestos procedentes de materias vegetales, como aceites esenciales.

El establecimiento de este tipo de cultivos constituye, por lo tanto, un recurso de desarrollo más en las áreas donde se ubican (Morales, 2002).

El género *Thymus*, cuyo creciente interés se pone de manifiesto con los numerosos estudios sobre sus constituyentes químicos, mejora genética y ampliación de sus áreas de aplicación, tiene uno de los condicionantes más importantes para su desarrollo comercial en la gran variabilidad intraespecífica que encontramos en estas plantas, lo que, como se ha comentado en la justificación de esta memoria, origina un inconveniente añadido al daño ecológico causado por la recolección tradicional de la flora silvestre, ya que la heterogeneidad de los productos obtenidos de esta forma repercute en la comercialización del material recolectado. Por lo tanto, es un hecho que el aprovechamiento industrial de estas plantas debe basarse en el cultivo de especies y ecotipos seleccionados, tanto por el rendimiento y calidad de sus aceites esenciales y producción de material seco, como por su adaptación a las condiciones climáticas o resistencia a plagas. Igualmente, sería necesario introducir especies seleccionadas de interés industrial que no existan espontáneas y cultivarlas en zonas de ecología adecuada (Muñoz, 1987).

Con todo ello se consigue la estandarización de la producción, lo que permite presentar productos homogéneos y asegurar una calidad controlada y adecuada a las expectativas del cada vez más exigente mercado actual.

Es de resaltar, como se indica anteriormente, que la importancia económica del género *Thymus* radica tanto en su aceite esencial como en la producción de hoja seca.

Las sustancias de procedencia natural han experimentado un auge importante en los últimos años, imponiéndose cada vez más entre los consumidores frente a los productos sintéticos. El aceite esencial que contienen las distintas especies de tomillo es por ello un producto con grandes perspectivas para las industrias farmacéutica, cosmética y alimentaria, ya que su composición química le confiere propiedades beneficiosas que responden a esta creciente demanda de productos naturales por parte de la sociedad. Todo ello explica el incremento en el uso de estos aceites en los últimos años, siendo España el productor del 90% del aceite esencial de tomillo que se comercializa en todo el mundo (McGimpsey, 1993). *Thymus zygis* es la especie más utilizada en España por su alto contenido fenólico. No obstante, durante los últimos años se está comercializando en gran cantidad *Th. hyemalis*, dado que su temprana floración (durante la época invernal) le permite ser el primero en estar a disposición del mercado de plantas aromáticas.

A nivel mundial, la producción de aceite esencial de tomillo (*Th. zygis* y *Th. vulgaris*) representa una cantidad de 29 t, con un valor de 1,5 millones de dólares (Gómez Orea *et al.*, 1999), siendo la industria alimentaria la principal receptora de estos productos (ISO/TC 54, 2004).

Igualmente, es importante señalar el desarrollo creciente del comercio de material seco, especialmente hoja, destinado a la obtención de aditivos naturales para la industria alimentaria. Las plantas con usos culinarios, como el tomillo, pueden contener altas concentraciones de antioxidantes, por lo que su inclusión en la dieta contribuye a aumentar la ingesta diaria de estas sustancias (Dragland *et al.*, 2003).

España es uno de los principales productores de hoja seca de tomillo, observándose en la década de los 90 un incremento en la

exportación de este producto, pasando de 855 t en 1992 a 1.600 en 1995, como consecuencia del aumento en la demanda de esta planta. La Región de Murcia exportó más de 1.500 t de hoja de tomillo en 1995, lo que supone el 93% del total nacional. El comercio exterior de este producto en el período 1990–2000 presenta el balance que se muestra en la Figura I-13, realizada según datos de las Estadísticas de Comercio Exterior, ESTACOM (ICEX), en la que se puede apreciar que en el año 2000 las cantidades se sitúan alrededor de las 1.500 t de hoja, lo que da idea de la gran trascendencia que tiene el comercio de esta planta.

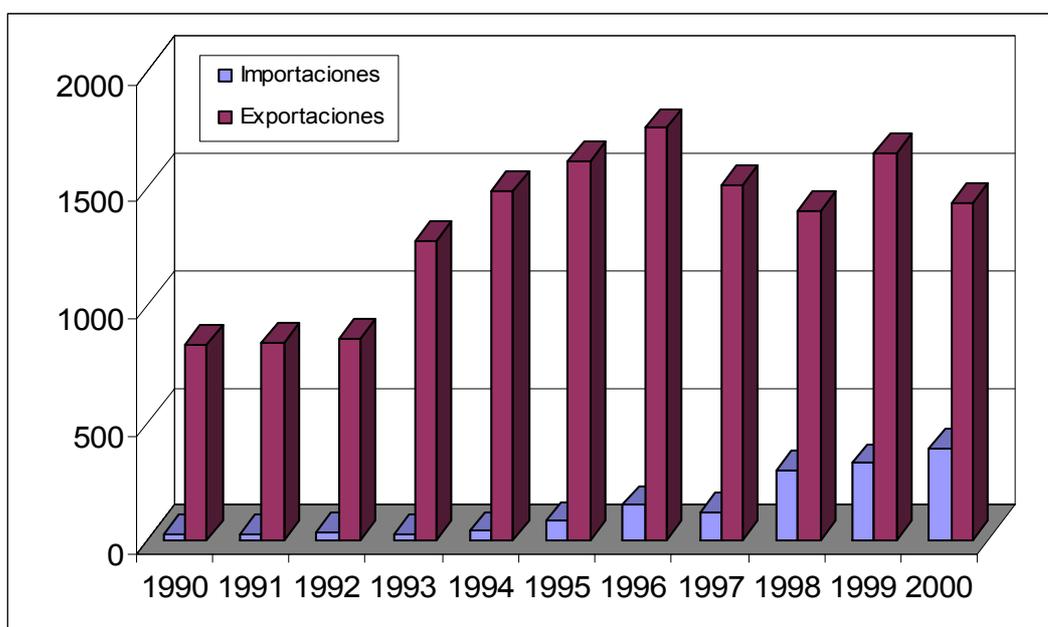


Fig. I-13. Balance del comercio exterior de tomillo sin triturar (toneladas de hoja).

Estados Unidos y Europa, especialmente Francia, Alemania y Reino Unido, son los principales consumidores de tomillo a nivel mundial (Sotomayor, 1998). Es destacable el comercio con el primero, por ser un país con una exigente legislación en materia agroalimentaria. Estados Unidos importa alrededor de 1.000 t de planta seca anualmente, con 1.333 t en el año 2000. España es el proveedor líder de tomillo para este

país y continúa aumentando su cuota de mercado, con un 59% en el año 2000, como queda de manifiesto en la Tabla I-18 (Gil García, 2001).

Tabla I-18. Procedencia y valor de las importaciones de tomillo en EEUU.

País	Millones de dólares			% Cuota		
	1998	1999	2000	1998	1999	2000
España	2,120	3,130	3,049	50,65	58,90	59,20
Turquía	1,262	1,260	1,362	30,16	23,71	26,46
Marruecos	0,222	0,326	0,394	5,32	6,15	7,65
Israel	0,027	0,247	0,122	0,66	4,66	2,38
Francia	0,317	0,158	0,100	7,58	2,98	1,95
Jamaica	0,139	0,099	0,043	3,34	1,86	0,85
China	0,000	0,000	0,028	0,00	0,00	0,56
Polonia	0,000	0,000	0,025	0,00	0,00	0,50
Perú	0,009	0,004	0,008	0,24	0,08	0,17
Méjico	0,000	0,002	0,007	0,00	0,05	0,15
Resto	0,800	0,090	0,010	2,05	1,61	0,13
Total	4,185	5,313	5,151	100	100	100

Fuente: World Trade Atlas

Actualmente, el tomillo continúa siendo una mercancía de gran valor comercial y la demanda de material seco procedente de esta planta sigue creciendo. Las exportaciones españolas se han mantenido en los últimos años cerca de las 1.500 t anuales de hoja, y Murcia ha exportado entre 1.200 y 1.400 t, es decir, alrededor del 95% del total de la producción nacional.

Las importaciones, tanto nacionales como regionales, muestran unos valores mucho más bajos. Tales importaciones encuentran su explicación en la posible insuficiencia del producto nacional para

satisfacer la demanda comercial externa, por lo que serían un medio para complementar los requerimientos del mercado.

La Figura I-14, realizada a partir de la información obtenida de la base de datos de ESTACOM, del ICEX, refleja estas cantidades.

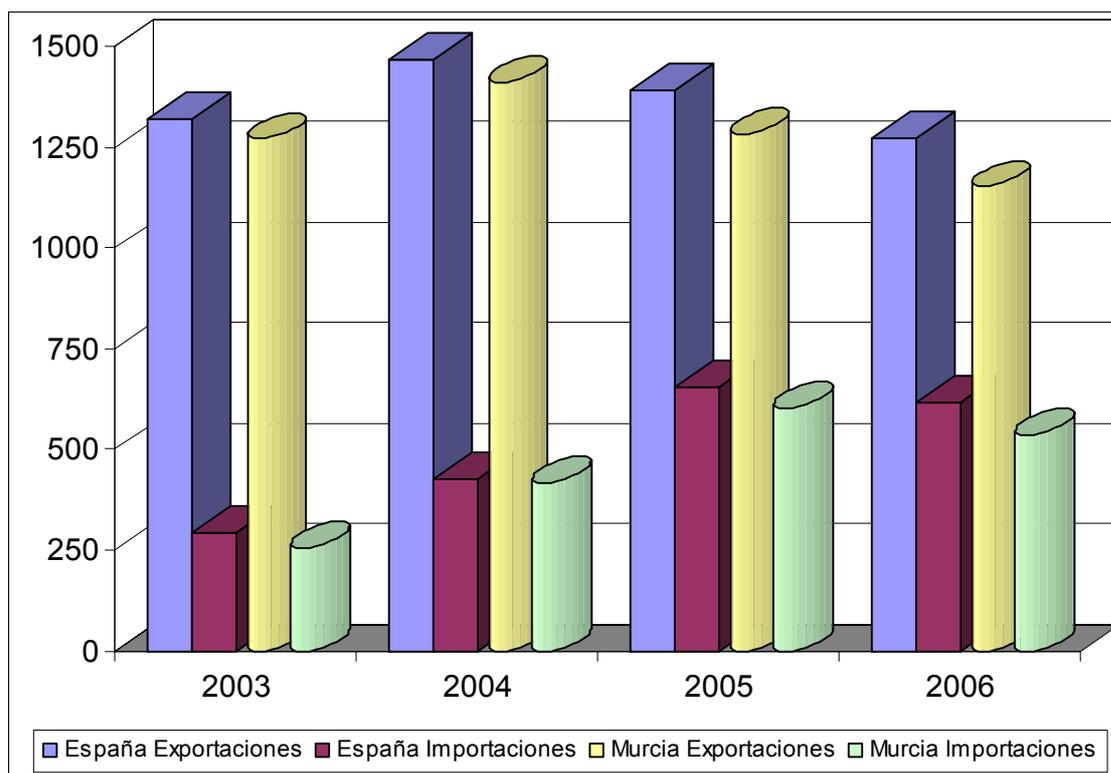


Fig. I-14. Balance del comercio exterior de tomillo sin triturar (toneladas de hoja).

Además, se evidencia cada vez más que los compradores se interesan por especies concretas, con unas características específicas, lo que está obligando a las empresas exportadoras a promover el cultivo de tomillos.

I. 6. 3. Aplicaciones. Propiedades del tomillo.

La importancia de este género es conocida desde la antigüedad, siendo el tomillo una planta comúnmente utilizada en medicina popular.

Sus propiedades, que determinan las posibles aplicaciones de este género, se deben mayoritariamente a su aceite esencial. El género *Thymus* se caracteriza, como se ha visto en apartados anteriores, por el alto contenido en compuestos fenólicos del aceite esencial de muchas especies, componentes aromáticamente activos, y con propiedades terapéuticas.

Considerando que la composición química de los aceites esenciales es determinante para su actividad biológica, realizar análisis por cromatografía de gases y espectrometría de masas de estos aceites es indispensable para la evaluación de dicha actividad (Daferera *et al.*, 2000).

Entre sus muchos usos, los tomillos se emplean para tratar la dispepsia y otros problemas gastrointestinales (WHO, 1999), ya que tienen propiedades eupépticas, coleréticas, carminativas y antihelmínticas.

Tradicionalmente es una planta muy empleada en las afecciones del aparato respiratorio (tos, bronquitis, laringitis) gracias a su capacidad para actuar como espasmolítico y antitusivo (WHO, 1999), características que se suelen atribuir a los compuestos timol y carvacrol, fenoles simples que se encuentran en el aceite esencial de muchas de estas plantas (Reiter y Brandt, 1985). Pero, si bien estos componentes presentan actividad antiespasmódica, parece que esta propiedad del tomillo se debe a la presencia de flavonas polimetoxiladas en este género (Van den Broucke y Lemli, 1983).

Tanto el aceite esencial de tomillo como su constituyente timol se emplean como antisépticos. Este aceite presenta, además, acción

tonificante y estimulante del sistema inmunológico, del apetito y de la memoria, y favorece la circulación sanguínea.

El timol tiene también actividad antiinflamatoria, ya que disminuye la liberación de metabolitos como prostaglandinas, interleuquinas y leucotrienos (Skold *et al.*, 1998; Yucel-Lindberg *et al.*, 1999).

Un trabajo relativamente reciente (Priestley *et al.*, 2003) sugiere que este compuesto fenólico potencia los receptores del ácido gamma-aminobutírico (GABA), y se ha comprobado igualmente que puede actuar como inhibidor de la agregación plaquetaria (Okazaki *et al.*, 2002).

Algunos agentes terapéuticos, como el anestésico volátil halotano, incluyen timol en su composición como estabilizante, para prevenir su descomposición espontánea.

Aydin *et al.* (2005), llevan a cabo un estudio sobre el efecto de los principales componentes volátiles del aceite esencial de tomillo, incluyendo timol, carvacrol y γ -terpineno, sobre el ADN. Estos autores aplican agentes inductores de alteraciones en el material genético a linfocitos humanos, y comprueban que timol y γ -terpineno a bajas concentraciones reducen significativamente los daños causados en el ADN por estas sustancias, pero elevando la concentración de ambos constituyentes hasta 0,2 mM se observa un incremento en estas alteraciones. El carvacrol, isómero del timol, protege a los linfocitos de la acción de los agentes genotóxicos a concentraciones por debajo de 0,05 mM, pero con una concentración de 0,1 mM este componente causa por sí mismo daños en el genoma.

Una importante aplicación de estas plantas es su utilización como suplemento en alimentación animal. En este sentido, actualmente se está desarrollando en el IMIDA un Proyecto de Investigación basado en el empleo de material destilado procedente de distintas plantas aromáticas, entre las que se encuentra el tomillo, como fuente natural de antioxidantes

endógenos. Se pretende sustituir en parte la alimentación de cabras y ovejas con dicho material, con el fin de comprobar la transferencia a la carne y la leche de las sustancias antioxidantes presentes en el mismo.

Asimismo, la sustitución de los antibióticos usados normalmente en la alimentación de animales de granja por plantas con capacidad antimicrobiana, es otra interesante aportación a las utilidades de estas plantas. Urbanczyk *et al.* (2002) analizan el efecto de una mezcla de dichas plantas, entre las que se encuentra *Thymus vulgaris*, como suplemento alimentario. Los resultados muestran que los animales a los que se suministra esta mezcla presentan el mejor promedio de ganancia de peso corporal, sin que se vea afectada la calidad de la carne, lo que confirma la posibilidad de usar estas plantas como una alternativa a los antibióticos como promotores del crecimiento en alimentación animal.

El timol, componente mayoritario del aceite esencial de *Th. vulgaris*, se absorbe rápidamente en el tracto gastrointestinal cuando es ingerido, siendo una pequeña cantidad oxidada a timohidroquinona. Alrededor del 50% de la sustancia absorbida se excreta por el riñón, tanto en forma conjugada como no conjugada, en 24 horas. La timohidroquinona también se excreta vía renal. Por lo tanto, el timol es pronto metabolizado y eliminado tras su ingestión, por lo que los posibles residuos que pudieran quedar en animales tratados con esta sustancia no se consideran tóxicos para los seres humanos (EMEA, 1996).

Es importante destacar que el timol, así como el aceite esencial y la hoja seca de tomillo, están catalogados por la FDA (Food and Drug Administration, EEUU) como alimentos aptos para el consumo humano, y también como aditivos alimentarios. Asimismo, el timol fue evaluado por el Comité de Expertos en Sustancias Aromatizantes del Consejo de Europa en 1992, y se encuentra entre las sustancias cuyo uso como condimento está permitido. La cantidad máxima de timol que se puede incluir en los alimentos como agente aromatizante está establecida en 50 mg/kg, y en bebidas en 10 mg/kg.

Otra de las aplicaciones que merece ser resaltada es el cultivo de plantas clonadas de tomillo y romero para la descontaminación, por métodos biológicos, de suelos, aguas residuales o lodazales contaminados con colorantes portadores de grupos azo, compuestos carcinogénicos generados como residuos por industrias textiles, farmacéuticas, imprentas, y otras explotaciones que suelen emplear tintes y colorantes en sus procedimientos de fabricación. La capacidad de estas plantas de actuar como descontaminantes ha sido estudiada por Zheng y Shetty (2000) con excelentes resultados, observándose que estos colorantes estimulan la respuesta defensiva de los clones a través del incremento de la actividad peroxidasa, lo cual facilita la conversión de los compuestos fenólicos presentes en estas plantas en ligninas. El proceso de lignificación ayuda a polimerizar los colorantes sobre la pared celular, con lo que se eliminan del medio.

A pesar de sus propiedades, es igualmente importante tener en cuenta la potencial toxicidad del aceite esencial de estas plantas. Por ello, cuando se emplea este producto con fines terapéuticos, se debe aplicar a las dosis adecuadas. Por ejemplo, la LD₅₀ oral en ratas para el aceite esencial de *Th. vulgaris*, con una cantidad relativa de timol de 30–50%, es de 2,8 a 4,7 gr/Kg de peso corporal. Para el timol puro, la LD₅₀ es de 980 mg/Kg de peso corporal (EMEA, 1998).

Por otra parte, un estudio realizado sobre personas que trabajan habitualmente en la manipulación de material vegetal sugiere que el polvo procedente de las plantas, especialmente tomillo, puede ocasionar obstrucción aguda de las vías respiratorias, lo que indica la necesidad de tomar las medidas profilácticas adecuadas cuando se realiza este trabajo (Golec *et al.*, 2005).

Un uso racional de estos recursos es imprescindible para conseguir el efecto positivo que los productos naturales pueden ofrecer. Las propiedades beneficiosas de las plantas aromáticas quedan patentadas en los numerosos trabajos publicados al respecto, en los que se comprueba

la capacidad del aceite esencial obtenido de las diversas especies del género *Thymus* para actuar como bactericida y antioxidante, e igualmente como antifúngico, antiparasitario y plaguicida. Todo esto resulta particularmente importante en un momento en el que la sociedad demanda, principalmente en lo referente a la industria alimentaria, productos seguros ante los problemas que una manipulación o conservación inadecuadas pueden ocasionar.

A continuación se expone un breve repaso de algunas de estas publicaciones, que sumadas a las ya mencionadas, ponen de manifiesto el interés que despiertan estas plantas en la comunidad científica.

I. 6. 3. 1. Actividad antibacteriana.

En la actualidad, existe un notable interés por el uso de compuestos antimicrobianos derivados de plantas como conservantes naturales de los alimentos, coincidiendo con los interrogantes acerca de la salubridad de los compuestos sintéticos usados con este fin. El Diccionario de la Real Academia Española define como “natural” aquello “perteneciente o relativo a la naturaleza”. Si bien esta definición engloba sustancias de distinta procedencia, es en el Reino Vegetal donde encontramos la mayor variedad de productos potencialmente útiles, aplicables especialmente a afecciones causadas por microorganismos (Domingo y López-Brea, 2003).

Entre estos productos se encuentran los aceites esenciales, cuyo posible uso por parte de la industria alimentaria justifica los diversos estudios llevados a cabo para determinar las propiedades antimicrobianas de estas sustancias. En este sentido, el aceite esencial de tomillo se encuentra entre aquellos que presentan los mejores resultados (Kalemba y Kunicka, 2003; Singh *et al.*, 2003), siendo especialmente efectivos los compuestos fenólicos presentes en muchos de estos aceites (Rasooli y Mirmostafa, 2003; Rasooli, 2005). Se ha comprobado además que existe

un efecto sinérgico entre distintos componentes del aceite esencial, como ocurre, por ejemplo, entre el carvacrol y su precursor p-cimeno (Ultee *et al.*, 2000). Por ello es importante mencionar que, si bien la efectividad frente a bacterias de los aceites esenciales que contienen compuestos fenólicos, especialmente timol y carvacrol, se suele atribuir a la presencia de dichos compuestos, también es necesario tener en cuenta otros constituyentes de estos aceites por sus posibles efectos sinérgicos o antagonicos (Vardar-Ünlü *et al.*, 2003).

Las condiciones físicas que mejoran la actuación de estos aceites son pH bajo, baja temperatura y bajos niveles de oxígeno (Burt, 2004). Los ambientes anaerobios favorecen la acción tanto del aceite esencial de tomillo como del timol frente a microorganismos como *Salmonella typhimurium* o *Staphylococcus aureus* (Juven *et al.*, 1994).

Por otra parte, las bacterias Gram-positivas parecen ser ligeramente más sensibles a la acción de los aceites esenciales que las Gram-negativas. (Burt, 2004).

Debido a la interacción entre los componentes del aceite esencial y los constituyentes de los alimentos, la eficacia antimicrobiana de estas sustancias se reduce cuando se emplean sobre productos alimenticios, por lo que es necesaria una mayor concentración de aceite para alcanzar resultados similares a los obtenidos "in vitro" (Singh *et al.*, 2003).

En un estudio realizado por Shapiro y Guggenheim (1995) sobre bacterias que afectan a la cavidad bucal, se observa que la perforación de la membrana plasmática de la célula bacteriana, que provoca una rápida salida de los constituyentes intracelulares, parece ser el principal mecanismo de acción del timol, fenol de importancia contrastada en muchos aceites. Este compuesto induce un descenso en el ATP intracelular como consecuencia directa de la infiltración, y además, en algunas bacterias también inhibe las rutas de síntesis de esta

biomolécula. Los efectos del timol sobre el potencial de membrana son probablemente resultado de la infiltración de sustancias que provoca este compuesto.

Evans y Martin (2000) comprueban igualmente la efectividad del timol como inhibidor del crecimiento de microorganismos ruminales, como *Streptococcus bovis* o *Selenomonas ruminantium*.

Por su parte, el carvacrol, compuesto fenólico isómero del timol, puede actuar contra el patógeno *Bacillus cereus* (Ultee *et al.*, 2002). Este componente muestra un marcado carácter hidrofóbico, por lo que se acumula en la membrana plasmática de la célula bacteriana, lo que, al igual que ocurre con el timol, afecta a su integridad y origina una disminución del potencial de membrana. De este trabajo se desprende que el carvacrol actúa como intercambiador de protones, con lo que reduce el gradiente de pH a través de la membrana plasmática. Este compuesto, que presenta un radical hidroxilo en posición *orto* (Figura I-15), difunde a través de dicha membrana hacia el citoplasma de la célula, donde libera su protón. Posteriormente, vuelve al exterior celular transportando un ión potasio (u otro catión) desde el citoplasma. El catión es liberado y el carvacrol capta un nuevo protón, repitiendo el ciclo. El resultado es el agotamiento de los depósitos de ATP de la célula, lo que conduce a un deterioro de los procesos vitales y finalmente a la muerte de la bacteria.

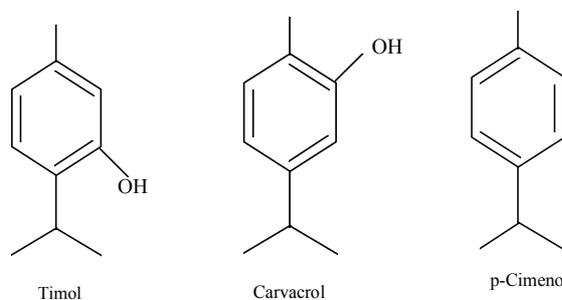


Fig. I-15. Estructura química de timol, carvacrol y p-cimeno.

De esta forma, timol (con el radical hidroxilo localizado en posición *meta*) y carvacrol presentan una fuerte acción antibacteriana. Sin embargo, p-cimeno, precursor biológico de estos dos constituyentes del aceite esencial de tomillo, carece de grupo hidroxilo y muestra una menor actividad, lo que sugiere que este radical está relacionado con la toxicidad frente a microorganismos.

En este trabajo se observa también un efecto sinérgico entre carvacrol y p-cimeno, que puede ser debido a que este precursor contribuye a la desestabilización de la membrana plasmática de la bacteria, con lo que se favorece la entrada de carvacrol en la célula.

Para estos autores, la posición que ocupa el grupo hidroxilo no parece afectar a la actividad antimicrobiana.

Timol y carvacrol se muestran también activos frente a bacterias como *Pseudomonas aeruginosa* o *Staphylococcus aureus* (Lambert *et al.*, 2001). Dichos componentes muestran un efecto aditivo que provoca la inhibición del crecimiento de estos microorganismos, al dañar la integridad de la membrana plasmática, afectando al pH y al equilibrio de iones inorgánicos.

Una reciente publicación remarca el carácter lipofílico de timol y carvacrol, así como de otros constituyentes que se pueden encontrar en el aceite de tomillo, como limoneno o eugenol, cualidad que permite a estas moléculas interactuar con las membranas bacterianas, alterando su estructura y haciéndolas más permeables (Di Pasqua *et al.*, 2006). Estos autores han analizado las variaciones que se producen en la composición de los ácidos grasos de dichas membranas como un mecanismo de estrés adaptativo de las bacterias inducido por concentraciones subletales de estos compuestos activos. Las células responden a estos agentes incrementando la concentración de ácidos grasos insaturados, lo que favorece la fluidez de la membrana bacteriana.

En un trabajo publicado en 2005, Di Pasqua *et al.* comprueban la actividad bactericida y bacteriostática de aceites esenciales obtenidos de diversas plantas sobre bacterias como *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes* y bacterias del ácido láctico, siendo el aceite de tomillo uno de los que actúa con mayor efectividad y frente al mayor número de microorganismos testados.

Escherichia coli es una bacteria sobre la que se han realizado diversos ensayos, ya que se trata de un patógeno que se puede encontrar en una amplia variedad de alimentos, ocasionando enfermedades que afectan a humanos y animales (Buchanan y Doyle, 1997). Tanto el aceite esencial obtenido de *Thymus vulgaris* como el procedente de *Origanum vulgare* (orégano) ejercen una fuerte acción sobre este microorganismo, que se observa en un amplio rango de temperaturas (Burt y Reinders, 2003). Un estudio más reciente (Burt *et al.*, 2005) analiza el efecto de los aceites esenciales de tomillo y orégano y sus cuatro componentes mayoritarios (timol, carvacrol, p-cimeno y γ -terpineno) sobre esta bacteria, comprobando que timol y carvacrol presentan una clara acción bactericida, siendo su efectividad frente a *E. coli* muy similar. La actividad antimicrobiana del aceite esencial depende de estos dos componentes, que tienen un efecto aditivo, y no se ven influenciados en este caso por los otros constituyentes mayoritarios de dicho aceite, los precursores p-cimeno y γ -terpineno, que aparentemente no actúan contra esta bacteria. La ausencia de sinergismo entre carvacrol y p-cimeno contrasta con lo expuesto por otros autores (Ultee *et al.*, 2000; Ultee *et al.*, 2002). Esto podría deberse a las diferencias fisiológicas existentes entre las bacterias empleadas en cada uno de los estudios, ya que la estructura de la pared celular de *E. coli* y otras bacterias Gram-negativas puede inhibir la acción del p-cimeno.

Al igual que en trabajos anteriores, se ha demostrado también sobre *E. coli* que el timol destruye la integridad y afecta al potencial eléctrico de la membrana plasmática de la célula bacteriana, lo que

finalmente conduce a la lisis celular (Vasala *et al.*, 1999). La ruptura ocurre en los cinco minutos siguientes a la adición de timol.

Investigando la actividad de diversos agentes antimicrobianos obtenidos de plantas, Dorman y Deans (2000) determinan que el aceite esencial de tomillo es el que presenta un mayor espectro de actuación, y, al estudiar los componentes por separado, estos autores confirman la mayor efectividad de los compuestos fenólicos presentes en estos aceites, especialmente timol y carvacrol, siendo p-cimeno el constituyente menos activo. En este ensayo queda también patente la importancia del grupo hidroxilo en la estructura fenólica, ya que se puede apreciar una gran diferencia entre la actividad antibacteriana del carvacrol y la de su metil éter, que es un componente relativamente poco efectivo, siendo también importante para los autores la posición que ocupa dicho grupo en el anillo bencénico, contrariamente a lo reflejado con anterioridad en este apartado. Coinciden, sin embargo, con lo expuesto por Domingo y López-Brea (2003), que afirman que la presencia de grupos hidroxilo en los compuestos fenólicos está relacionada con la toxicidad de dichos compuestos, además de plantear que la posición de estos radicales influye en la efectividad de los fenoles para actuar contra bacterias.

El género *Shigella* incluye bacterias responsables de patologías intestinales serias (disentería bacilar). Bagamboula *et al.* (2004) estudian la actividad del aceite esencial de tomillo y sus constituyentes fenólicos timol y carvacrol sobre *S. sonnei* y *S. flexneri*, constatando su efectividad en la inhibición del crecimiento de estas bacterias.

Se puede afirmar que el timol previene la putrefacción y la detiene cuando ha comenzado. En este sentido se ha ensayado con éxito la acción de timol y carvacrol contra microorganismos del género *Erwinia* (Horváth *et al.*, 2002), capaces de degradar fermentativamente polisacáridos complejos como la pectina, pudiendo de esta forma causar enfermedades en plantas. Especies de este género de importancia en

patología vegetal frente a las que actúan estos fenoles son *E. carotovora*, bacteria del suelo que infecta cultivos de zanahoria y otros vegetales como patatas, cebollas, tomate, lechuga, etc, tanto en el campo como en el almacén, y que produce enzimas que destruyen el material cementante (de unión) entre las células, dando lugar a una enfermedad llamada *podredumbre blanda*, y *E. amylovora*, causante del llamado *fuego bacteriano*, enfermedad que afecta a frutales de pepita.

Los aceites esenciales ricos en compuestos fenólicos parecen ser los más efectivos ante las infecciones causadas por microorganismos, pero hay estudios que demuestran que aceites con otros componentes mayoritarios, como los de *Thymus albicans* o *Th. mastichina*, con 1,8-cineol como principal constituyente, presentan también resultados positivos frente a bacterias como *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus* o *Listeria monocytogenes* (Faleiro *et al.*, 1999). Igualmente, el alcohol terpénico linalol es activo frente a bacterias del género *Leishmania* (Rosa *et al.*, 2003), y otros microorganismos como *Citrobacter freundii*, *Clostridium sporogenes* o *Lactobacillus plantarum* (Dorman y Deans, 2000). Los alcoholes poseen más actividad bactericida que bacteriostática, desnaturalizando las proteínas de los microorganismos frente a los que actúan.

En conclusión, los aceites esenciales son efectivos contra un amplio rango de microorganismos, pudiendo actuar como agentes terapéuticos para el tratamiento de infecciones microbianas en humanos y animales, sustituyendo a los antibióticos usados tradicionalmente; también se pueden emplear como desinfectantes, siendo especialmente útiles en casos de aire contaminado o superficies de difícil acceso, dado su carácter volátil. Pero el uso como conservantes de alimentos es el más importante de estos productos, ya que añadidos en pequeñas cantidades, pueden retrasar la contaminación microbiológica y el deterioro de los mismos, sin que se afecten sus propiedades organolépticas (Dorman y Deans, 2000).

I. 6. 3. 2. Actividad antioxidante.

La oxidación es un proceso natural tanto en sistemas biológicos como en productos alimentarios.

Se define como antioxidante cualquier sustancia capaz de retrasar o inhibir la oxidación de un sustrato por un radical libre. El antioxidante puede actuar a baja concentración, y ejerce su acción a través de su propia oxidación, ya que su estructura química le permite reaccionar fácilmente con los radicales libres, protegiendo de esta forma a los sustratos potencialmente oxidables de la acción de tales agentes. Dichos sustratos pueden ser los lípidos presentes en las membranas celulares, cuya oxidación tiene lugar como consecuencia de la formación de radicales libres en células y tejidos. Este proceso conduce a un descenso de la fluidez de dichas membranas, afectando a su estructura y función (Slater *et al.*, 1987).

Dado que el uso de antioxidantes sintéticos se ve restringido por los problemas de toxicidad que pueden presentar (Lindenschmidt *et al.*, 1986; Grillo y Dulout, 1997), tanto la medicina como la industria alimentaria muestran un considerable interés por el desarrollo de antioxidantes naturales de origen vegetal, especialmente los procedentes de plantas comestibles, (Haraguchi *et al.*, 1996).

Las plantas medicinales y aromáticas son una fuente potencial de sustancias antioxidantes (Aeschbach *et al.*, 1994; Grassmann *et al.*, 2002; Lee *et al.*, 2005). Tales productos naturales tienen capacidad para captar los radicales libres y proteger células y organismos de daños producidos por estrés oxidativo, considerado causa de envejecimiento, enfermedades degenerativas y cáncer (Cozzi *et al.*, 1997), por lo que el empleo de estas plantas puede ser de gran importancia en la salud humana y animal.

En lo que se refiere a la industria alimentaria, la autooxidación de los lípidos es un fenómeno que provoca un descenso en la calidad de los alimentos, afectando a su color, aroma, valor nutritivo y funcionalidad, y por ello, retrasar este proceso es un objetivo importante para este sector.

La importancia de los fenómenos oxidativos explica los numerosos trabajos realizados con el objeto de comprobar el efecto protector de diferentes géneros y especies vegetales frente a estos procesos.

En este sentido, Lee y Shibamoto (2002) realizan un estudio de la actividad antioxidante de los componentes volátiles de varias plantas, siendo el tomillo aquella con la que se consiguen los mejores resultados, con un efecto inhibitorio similar al de α -tocoferol o BHT (butilhidroxitolueno).

Schwarz y Ernst (1996) publican un interesante trabajo en el que se analizan los compuestos antioxidantes presentes en diferentes especies de tomillo, entre las que se encuentra *Thymus vulgaris*. Estos autores identifican un nuevo componente, p-cimen-2,3-diol, aislado por primera vez de hojas de tomillo, y que parece tener mayor poder antioxidante que timol y carvacrol, mejorando también la actividad de α -tocoferol y BHA (butilhidroxianisol).

Youdim *et al.* (2002) llevan a cabo un estudio de las propiedades antioxidantes del aceite esencial de *Th. zygis* y sus componentes mayoritarios, constatando una efectividad para estas sustancias que seguiría el siguiente orden:

Aceite esencial > Timol > Carvacrol > γ -Terpineno > Mirceno > Linalol > p-Cimeno > Limoneno > 1,8-Cineol > α -Pineno

Todas las sustancias ensayadas presentan actividad antioxidante, aunque, como se desprende del trabajo de estos autores, ningún componente en solitario es más efectivo que el aceite esencial en conjunto.

Asimismo, ninguno de los constituyentes testados muestra una actividad prooxidante importante, lo que sugiere que el aceite de esta

especie de tomillo puede ser un producto interesante para ser utilizado en la industria alimentaria y como suplemento dietético.

Se ha comprobado, por ejemplo, que suplementar la alimentación en ratas con aceite esencial de tomillo (*Th. vulgaris*) contribuye a que estos animales conserven una capacidad antioxidante favorable durante toda su vida (Youdim y Deans, 1999a). En otro trabajo, estos mismos autores observan que la ingestión diaria de este aceite (42,5 mg/Kg de peso/día) mantiene elevados niveles de ácidos grasos poliinsaturados en tejidos de rata (Youdim y Deans, 1999b). El timol es el principal constituyente del aceite esencial empleado en este ensayo, con una concentración relativa del 49%. Pero este compuesto fenólico administrado en solitario no tiene un efecto significativamente superior, lo que parece indicar que existen otros componentes en el aceite esencial que también contribuyen a su actividad antioxidante, hecho que se confirma en trabajos posteriores, como el mencionado anteriormente realizado por Youdim *et al.* (2002), y otros estudios efectuados sobre especies distintas de tomillo, también con timol como componente mayoritario (Vardar-Ünlü *et al.*, 2003).

El resultado positivo de incorporar aceites esenciales a la dieta ya se había constatado con anterioridad (Deans *et al.*, 1993), consiguiéndose un incremento en el contenido de ácidos grasos poliinsaturados y de enzimas claves en el metabolismo lipídico en los animales tratados. Dado que durante el proceso de envejecimiento del animal se produce un descenso en las cantidades de estos componentes, los aceites procedentes de plantas como el tomillo, capaces de invertir esta tendencia, podrían ser de gran interés en medicina.

En la familia *Labiatae*, el timol aparece siempre acompañado de su isómero carvacrol, y ambos son los constituyentes del aceite esencial de tomillo más estudiados en cuanto a su actividad antioxidante. Yanishlieva *et al.* (1999) comparan la efectividad de ambos componentes,

concluyendo que durante la oxidación de los lípidos a temperatura ambiente, el timol es mejor antioxidante que el carvacrol, lo que puede ser debido a la diferente posición del grupo fenólico en el timol respecto al carvacrol.

Como se ha expuesto con anterioridad, la composición química de los aceites esenciales es determinante en su actividad. Tepe *et al.* (2005) analizan el comportamiento antioxidante de dos variedades de *Thymus sipyleus* que presentan diferencias en cuanto a los constituyentes de su aceite esencial, ya que en una de ellas se identifican mayoritariamente alcoholes como borneol (11,2%), en tanto que la otra variedad se caracteriza por la presencia de los fenoles carvacrol (58,1%) y timol (20,5%). Los autores concluyen que los aceites fenólicos se muestran más efectivos en todas las pruebas realizadas.

I. 6. 3. 3. Actividad Antifúngica.

La aplicación de sustancias químicas para tratar las infecciones por hongos puede provocar el desarrollo de resistencia al producto aplicado.

Si se emplean altas concentraciones de estas sustancias para combatir los organismos resistentes, se aumenta el riesgo de que aparezcan altos niveles de residuos tóxicos en los productos tratados. Cuando estos productos son frutas almacenadas, el problema puede ser importante porque a menudo esas frutas se consumen en un corto espacio de tiempo tras la cosecha.

Penicillium digitatum es un moho patógeno que afecta comúnmente a cítricos tras la recolección, causando el llamado moho verde de los cítricos, que origina una depreciación del producto y que en muchos casos no se pueda comercializar.

Daferera *et al.* (2000) estudian el efecto de diferentes aceites esenciales y sus constituyentes mayoritarios sobre este hongo,

consiguiendo una inhibición de su crecimiento con concentraciones relativamente bajas de estos aceites. Entre las plantas empleadas se encuentra *Thymus vulgaris*, con una cantidad relativa de timol del 63,6%, y un 2,2% de carvacrol. Comprobando la efectividad de los dos constituyentes por separado, estos autores observan que, si bien ambos presentan actividad antifúngica, se requiere una menor concentración de carvacrol para conseguir una inhibición del crecimiento de *Penicillium digitatum*, por lo que este compuesto sería más efectivo que el timol en el tratamiento de dicho hongo.

Una conclusión interesante de este estudio es el efecto sinérgico que parecen tener ambos componentes. Así, a la misma concentración, el aceite esencial obtenido de *Th. vulgaris* (63,6% de timol + 2,2% de carvacrol = 65,8%) resulta más tóxico para *Penicillium digitatum* que el extraído de otra de las plantas empleadas en este ensayo, *Origanum dictamnus*, con un 78% de timol.

En un trabajo posterior, Daferera *et al.* (2003), evidencian que aceites esenciales ricos en timol y carvacrol inhiben también el crecimiento de otros hongos, como *Botrytis cinerea* o *Fusarium solani*, en tanto que aceites con otros constituyentes mayoritarios, como linalol o eucaliptol, presentan una menor actividad inhibitoria.

Botrytis cinerea y *Rhizopus stolonifer* son los causantes de la podredumbre post-cosecha que provoca considerables pérdidas durante el almacenamiento y comercialización de las fresas. Bhaskara Reddy *et al.* (1998) analizan las posibilidades del empleo del aceite esencial de *Th. vulgaris* para combatir esta infección, concluyendo que dicho aceite, con una concentración de timol que oscila entre 9,5–18,1%, y una cantidad relativa de carvacrol de 2,7–8,9%, muestra un importante potencial antimicótico. Las plantas empleadas en este ensayo presentan un contenido en linalol de 3,2–3,3%, que podría actuar sinérgicamente con timol y carvacrol, aunque este componente en solitario sea menos activo que los dos compuestos fenólicos.

Entre distintas plantas, el aceite obtenido de *Th. vulgaris* resulta ser el mejor fungicida frente a *Rhizoctonia solani*, *Pythium ultimum*, *Fusarium solani* y *Colletotrichum lindemuthianum* (Zambonelli *et al.*, 1996), propiedad que estos autores atribuyen a su contenido en timol, que alcanza el 50,06%. Aceites con concentraciones elevadas de carvacrol, como el de *Th. revolutus*, en el que se puede medir hasta un 43,1% de este fenol, presentan también propiedades antifúngicas (Karaman *et al.*, 2001). Igualmente se ha demostrado la efectividad del aceite esencial de tomillo contra especies de hongos pertenecientes a los géneros *Eurotium*, *Aspergillus* y *Penicillium* (Guynot *et al.*, 2003).

Por otra parte, las infecciones causadas por hongos de importancia clínica para los humanos, como los géneros *Candida*, *Cryptococcus* o *Histoplasma*, además de los ya mencionados *Aspergillus*, *Rhizopus* o *Fusarium*, han mostrado un incremento importante en los últimos años, lo que unido a la resistencia que han empezado a mostrar estos organismos frente a los agentes empleados como antimicóticos, han llevado a la búsqueda de terapias alternativas basadas en productos naturales, con mayor espectro de acción y menores efectos adversos, considerando que la naturaleza proporciona una gran variedad de moléculas bioactivas que podrían ser utilizadas como base para la creación de nuevos medicamentos (Mesa *et al.*, 2004). En este sentido, los aceites esenciales obtenidos de *Th. vulgaris* o *Th. zygis*, ricos en timol, muestran actividad frente a hongos patógenos como *Cryptococcus neoformans*, y especies de *Saprolegnia* y *Zygorhynchus* (WHO, 1999). Igualmente, *Th. pulegioides*, especie capaz de sintetizar altos contenidos de timol y carvacrol, actúa frente a *Candida*, *Aspergillus* y hongos dermatofitos (Pinto *et al.*, 2006). La actividad del aceite esencial de esta planta se basa principalmente en la reducción del contenido en ergosterol de la membrana citoplasmática de las células fúngicas, lo que afecta a su fluidez e integridad.

I. 6. 3. 4. Actividad Antiparasitaria y Plaguicida.

El timol es un ingrediente activo en plaguicidas registrado por la EPA (United States Environmental Protection Agency) para ser usado como repelente para bacterias y hongos patógenos que infectan animales domésticos, o como desinfectante médico. También se emplea para combatir plagas causadas por ratas, pájaros, etc.; e igualmente actúa frente a algunos virus, incluyendo el VIH-I (EPA-738-F-93-010, septiembre 1993).

Esta sustancia se considera constituyente de una mezcla de compuestos orgánicos que pueden ser rápidamente degradados en el medio ambiente hasta compuestos elementales por procesos biológicos, físicos y/o químicos normales, que suelen existir en las zonas donde se aplica. Como plaguicida, el timol actúa frente a procesos infecciosos que afectan a animales, de manera que su presencia no resulta tóxica para los animales tratados pero sí para los microorganismos que provocan la infección. Si se emplea de la forma adecuada, el timol no debe provocar efectos adversos sobre los seres humanos ni el medio ambiente. Se sabe que este componente produce irritación cuando es inhalado, o tiene contacto con la piel o los ojos. Según la EPA, la toxicidad causada por el timol es de Categoría III (la Categoría I señala el grado más agudo de toxicidad, y la Categoría IV el más bajo).

El tratamiento con timol es un método muy eficaz para combatir la varroasis de las abejas, causada por el ácaro *Varroa jacobsoni*. Este parásito afecta a estos insectos en todos los estadios de su desarrollo, lo que requiere tratamientos sistemáticos que se deben realizar anualmente. El timol es un compuesto volátil y, por lo tanto, parte del producto se pierde por evaporación. Esto se debe tener en cuenta a la hora de aplicarlo, ya que se ha comprobado que existe una relación directa entre la cantidad de timol evaporada y la eficacia acaricida del tratamiento (Higes y Llorente, 1996). Para que esta sustancia cumpla su función debe

entrar en contacto con las abejas y mantener una concentración lo más homogénea posible dentro de la colmena (Carmona *et al.*, 2002). Es interesante destacar que el timol no resulta especialmente tóxico para las abejas a las dosis apropiadas, y presenta un bajo poder residual en la miel. Tratar las colmenas con este compuesto no altera la condición de miel ecológica.

Se ha estudiado el empleo del aceite esencial de *Thymus vulgaris* como repelente de mosquitos, comprobándose la efectividad de sus constituyentes timol, p-cimeno, linalol, carvacrol y α -terpineno, siendo los dos últimos especialmente activos (Park *et al.*, 2005).

I. 6. 3. 5. Extractos.

Por otra parte, al hablar de las propiedades terapéuticas de estas plantas se debe considerar que, además de aceites esenciales, los tomillos poseen componentes químicos no volátiles que presentan cualidades igualmente interesantes. Estos compuestos se extraen bien directamente de la planta o bien a partir de material vegetal destilado con anterioridad, utilizando disolventes apropiados y concentrando posteriormente la solución obtenida.

El extracto de estas plantas es rico en compuestos polifenólicos, los cuales han demostrado tener actividad antivírica y antimutagénica (Ikken *et al.*, 1999). En este sentido se ha comprobado que la luteolina, una flavona constituyente del extracto de *Thymus vulgaris*, suprime la acción mutagénica del carcinógeno Trp-P-2, que se forma durante los procedimientos de cocción de los alimentos (Samejima *et al.*, 1995). Las propiedades anticancerígenas de los polifenoles se ponen igualmente de manifiesto en otros trabajos, como los realizados por Carrol *et al.* (1999) o Kawaii *et al.* (1999).

En cuanto a la actividad antibacteriana, la baicaleína, otra flavona identificada en el extracto de *Th. vulgaris*, potencia el efecto antimicrobiano de la tetraciclina frente a *Staphylococcus aureus* (Fujita *et al.*, 2005). Otros trabajos estudian el potencial antibacteriano de distintos extractos vegetales (tomillo, hinojo, salvia, té y menta), determinando que el de tomillo es el más efectivo contra bacterias patógenas comunes y bacterias del ácido láctico, por lo que estos concentrados se consideran alimentos naturales o aditivos alimentarios que pueden ejercer un efecto beneficioso sobre el aparato digestivo de humanos y animales (Sagdic *et al.*, 2005).

El extracto acuoso obtenido a partir de *Th. vulgaris* se muestra como uno de los más eficaces frente a bacterias como *Helicobacter pylori* (Tabak *et al.*, 1996). También se ha ensayado con éxito la capacidad para actuar contra diferentes microorganismos de los extractos de otras especies de tomillo, como *Th. serpyllum* (Alzoreky y Nakahara, 2003), o *Th. spathulifolius* (Sokmen *et al.*, 2004). En este último artículo, los autores comparan el efecto del aceite esencial de la planta, con timol (36,5%) y carvacrol (29,8%) como constituyentes mayoritarios, con el extracto metanólico obtenido de la misma. El resultado muestra la fuerte actividad antimicrobiana del aceite esencial, tanto frente a bacterias como frente a la mayoría de las especies de hongos testadas por estos autores, en tanto que el extracto actúa de forma moderada frente a bacterias y no es efectivo frente a hongos. En el mismo trabajo se evalúa la capacidad antioxidante de las dos sustancias, con resultados positivos para ambas.

El efecto antioxidante del extracto de tomillo es analizado en otros trabajos, como el realizado por Haraguchi *et al.* (1996), que comprueban las propiedades del extracto de *Th. vulgaris* como protector de la oxidación de los lípidos presentes en las membranas biológicas, identificando en dicho extracto componentes con un importante poder antioxidante. A partir del concentrado de esta planta se han aislado

flavonoides que muestran una actividad comparable a la del BHT, el α -tocoferol o el ácido L-ascórbico (Miura *et al.*, 2002).

En un estudio realizado por Venskutonis *et al.* (2005) se demuestra que el extracto de tomillo es un inhibidor efectivo de xantina oxidasa, enzima del grupo de las oxido reductasas que produce radicales libres de oxígeno.

Los constituyentes fenólicos parecen ser los principales responsables de las propiedades antioxidantes de estas sustancias (Dorman *et al.*, 2003), aunque estos autores no aprecian una completa relación entre la efectividad como antioxidante de un extracto y el contenido total de compuestos fenólicos que presenta. Sin embargo, Soares *et al.* (1997), evaluando la efectividad como antioxidantes de concentrados obtenidos a partir de *Thymus zygis*, determinan que existe una aparente relación entre el potencial antioxidante del extracto de esta planta y los fenoles totales que contiene.

I. 7. ADAPTACIÓN AL CULTIVO.

El aprovechamiento de la flora aromática y medicinal española se ha basado tradicionalmente en el trabajo de los recolectores locales, conocedores por lo general de las poblaciones más abundantes. Con ello se ha conseguido una producción con una alta calidad en cuanto al contenido en principios activos, pero una escasa presentación y manipulación, por lo que nuestra aportación a este tipo de mercado siempre ha sido proporcionar productos en bruto, con muy poca elaboración y de escaso valor añadido.

La creación de cultivos de plantas officinales aseguraría la obtención de productos con las suficientes garantías de disponibilidad y calidad que requiere el competitivo comercio actual. Sin embargo, el desarrollo de empresas productoras de este tipo de plantas se enfrenta

actualmente a una serie de inconvenientes, entre los que destacan, como citan Gómez Orea *et al.* (1999), los siguientes:

1. Ausencia o déficit grave de material vegetal de multiplicación al no existir ningún centro, oficial o privado, que suministre semillas o plantas con los requisitos que hoy día exigen la producción y el mercado.
2. Desinformación y falta de conocimientos técnicos en los agricultores, que en bastantes ocasiones no abordan estas producciones por ausencia de asesoramiento.
3. Atonía general en las pequeñas empresas que se dedican a la distribución comercial, incluida la exportación, y no se arriesgan a promover cultivos y plantaciones.

Resultaría interesante fomentar la investigación que conduce a la selección y mejora genética de las plantas aromáticas y medicinales, para obtener nuevas variedades de cultivo, más productivas y con elevado rendimiento en principios activos de calidad contrastada.

Tiene gran importancia por ello la generación de *plantaciones experimentales* antes de establecer cultivos a escala comercial, a partir de las cuales se pueden determinar las condiciones más adecuadas para obtener el máximo rendimiento de tales cultivos, dado que se deben considerar distintos parámetros que afectan a la producción de estas plantas, tales como la constitución genética de cada especie, la ecología de la zona de cultivo, la meteorología, o la época y el método de recolección (Muñoz, 1987). Además, estos ensayos se pueden convertir en una fuente de material vegetal selecto, lo que aportaría una solución al problema de carencia de dicho material para su propagación. Es primordial señalar que, sin una selección previa de individuos, poner en cultivo las especies aromáticas y medicinales espontáneas origina cosechas muy heterogéneas, de composición química muy variable y, por lo tanto, de menor calidad e interés comercial, ya que los productos que se obtienen de estos cultivos deben cumplir determinadas

especificaciones en función del mercado al que se destinen. Realizar análisis químicos de los aceites y extractos obtenidos de estas plantas, así como valorar su producción de biomasa, es la forma de asegurar que tales especificaciones se cumplen.

Por otra parte, el desarrollo de una agricultura basada en el cultivo de este tipo de plantas requeriría, como paso previo, la selección de aquellos géneros y especies que resulten más interesantes para ese fin, en base a criterios tales como la presencia en la flora española de dichas especies, dada la necesidad de contar con una fuente de material vegetal a partir del cual elaborar unos planes de posible cultivo, o la perspectiva de mercado potencial para estas plantas.

El tomillo es una de las plantas que se adapta a ambos criterios, considerando que el material desecado procedente de esta labiada es uno de los principales productos de exportación en este campo, representando el 23% de la cantidad total exportada, según datos recogidos por Gómez Orea *et al.* (1999), pertenecientes a 1996.

Trabajos previos acerca de esta labiada permiten establecer los requisitos necesarios para optimizar la producción obtenida a partir de cultivos de tomillo.

A) *Condiciones.*

En primer lugar se debe distinguir entre explotaciones de secano y de regadío, extendiéndose estas últimas en superficies más reducidas que requieren un aporte hídrico para incrementar su rentabilidad. Cuando las plantas aromáticas se cultivan en secano, con el fin de rentabilizar al máximo las opciones que el medio ofrece, los cultivos se deben ubicar en zonas favorables para el desarrollo de la planta que se desea cultivar.

Este tipo de cultivos predominan en los pisos meso y supramediterráneo, en ombroclimas secos y en menor medida en los subhúmedos. El tomillo es una planta que puede vivir desde 0 hasta 2.000

m.s.n.m. En la Comunidad Valenciana, por ejemplo, se pueden encontrar plantaciones particulares, en las que se cultiva *Thymus vulgaris*, situadas a altitudes que oscilan entre 240–840 m.s.n.m., con una temperatura media anual de 13–16°C, y una precipitación mínima anual situada entre 480–637 mm (Morales, 2002).

En los cultivos de regadío, la planta recibe el aporte hídrico, además de nutricional, adecuado a sus necesidades, lo que permite establecer estas explotaciones también en zonas menos favorables para el crecimiento espontáneo de tales plantas.

Respecto a la forma de propagación, el tomillo se puede multiplicar por semillas o vegetativamente, por división de pies o esquejes (Muñoz, 1987). Se debe considerar que, a la hora de implantar un cultivo, la selección, tanto de semillas como de plantas madre de calidad, es más importante que el medio ecológico en el que se establezca dicho cultivo.

Realizar una siembra de semillas en vivero es el método más rápido y económico, pero dada la gran variabilidad intraespecífica que presentan estas plantas, se puede obtener una población de individuos muy diferentes. Para asegurar la homogeneidad en la producción, es necesario elegir y separar previamente las semillas más adecuadas. No obstante, las plantas que nazcan de esas semillas deben ser controladas, ya que se pueden producir hibridaciones o mutaciones que originen semillas portadoras de factores genéticos poco deseables, ausentes en la planta de procedencia.

La división de pies proporciona un número restringido de plantas, entre 20–30 por cada pie madre dividido.

En la multiplicación por esquejes, en las especies en que es posible, de cada pie se pueden obtener algunos centenares de estaquillas. El esquejado se realiza cuando el tomillo se encuentra en período de actividad vegetativa. El porcentaje de enraizamiento es del 85%, reduciéndose al 30–40% cuando el proceso se realiza en durante la parada vegetativa de la planta (Muñoz, 1987). Con este tipo de

multiplicación se consigue obtener una descendencia uniforme, un conjunto de individuos clonados a partir de una única planta, los cuales mantienen las características de la planta original. La selección previa de las plantas madre en función de distintos parámetros (tales como resistencia, producción de biomasa y cantidad y calidad del aceite esencial) aseguran la obtención de un cultivo competitivo desde el punto de vista comercial, dada la presencia en el mercado de plantas de distintas procedencias, como las recolectadas en Marruecos o países del Este de Europa, que suponen una fuerte competencia en este sector.

Un trabajo realizado por López Miralles (2003), sobre el estaquillado en tres especies de tomillo (*Thymus hyemalis*, *Th. vulgaris* y *Th. zygis*), determina que *Th. hyemalis* es la especie que mejor se adapta a la propagación por esquejes de las tres ensayadas, consiguiendo los resultados más satisfactorios en cuanto a porcentaje de enraizamiento, longitud y peso de raíces. No obstante, dicho porcentaje de enraizamiento no alcanza el 40%. En este estudio se evidencia también que *Th. zygis* es más fácil de propagar a partir de brotes apicales, ya que el éxito conseguido con esta técnica es significativamente superior al obtenido con tallos leñosos.

Otra alternativa para la propagación vegetativa de estas plantas puede ser la multiplicación *in vitro* o micropropagación, siempre que se disponga de material selecto. Los medios de crecimiento empleados en las técnicas de cultivo *in vitro* deben proporcionar los niveles óptimos de carbohidratos, vitaminas, aminoácidos, nutrientes minerales y reguladores de crecimiento, siendo necesario controlar además los factores ambientales. Con todo ello se consiguen altos porcentajes de regeneración y se facilita un tipo de propagación comercialmente viable, que contribuya a satisfacer los requerimientos de la industria respecto a los principios activos obtenidos de estas plantas (Rout *et al.*, 2000). Investigadores como Mendes y Romano (1999) emplean con éxito esta técnica para obtener clones de *Thymus mastichina*.

El marco de plantación es también un factor importante en estos cultivos, que repercute en su rentabilidad. Para el tomillo cultivado en regadío, se propone una distancia entre filas de entre 60 y 80 cm, y una separación entre plantas de 25 a 30 cm. La densidad de plantación sería de 40.000–50.000 plantas/ha (Muñoz, 1987). El marco de plantación para el cultivo en secano puede ser de 1,0 m x 0,4 m, lo que supone una densidad de 25.000 plantas/ha. Estos marcos se adoptan considerando el desarrollo máximo estimado para cada planta, dejando una distancia entre calles que permita mecanizar las labores de cultivo para la eliminación de malas hierbas (Sotomayor, 1998).

La época más apropiada para realizar estas plantaciones son los meses de invierno cuando se trata de zonas altas, principalmente finales de febrero-principios de marzo, y durante el otoño en zonas costeras.

Cuando las plantas alcanzan un desarrollo adecuado, se procede a su recolección, que en el caso de tomillos cultivados se realiza mediante siega. Por el contrario, los tomillos silvestres que se recogen del monte se suelen arrancar, práctica que termina por agotar su presencia si se practica de forma abusiva. Además, las plantas en muchos casos no se recolectan en el momento más oportuno debido a la fuerte competencia que se establece entre los recolectores habituales (Sotomayor *et al.*, 2001).

Tanto el rendimiento como la composición del aceite esencial de estas plantas se ven afectados por el estado fenológico en el que se encuentran cuando se recolectan (McGimpsey *et al.*, 1994; Jordán *et al.*, 2006). La etapa de desarrollo más conveniente para efectuar la recolección de estas labiadas varía en función de la especie y el tipo de aprovechamiento, ya que los tomillos se pueden destinar a la obtención de hoja seca o aceite esencial.

De los datos obtenidos por Sotomayor (1998), se desprende que el momento óptimo para la siega suele alcanzarse cuando las plantas se encuentran en floración-fructificación, siendo este es el estado fenológico

más adecuado para la producción de aceite esencial en este género, en función de rendimiento y calidad. Esta época varía también con la climatología y la altitud. Por ejemplo, centrándonos en las tres especies objeto de esta Tesis, *Thymus hyemalis*, que en estado silvestre crece en el piso Termomediterráneo de la Región de Murcia, admite llevar su cultivo hasta el Mesomediterráneo cálido, y su recolección en zonas de interior se puede realizar en marzo o llegar incluso a abril; *Th. vulgaris*, que podría cultivarse prácticamente en toda la región, permite usualmente su recolección entre mayo y junio si se sitúa en terrenos elevados; por su parte, *Th. zygis*, con una amplia zona de distribución y de potencial cultivo en nuestra región, retrasaría su cosecha hasta julio en zonas altas. Pero si los cultivos se desarrollan en terrenos próximos a la costa, *Th. hyemalis* se recolecta hacia el final del invierno, en febrero o marzo, seguido de *Th. vulgaris*, habitualmente en mayo y, por último, *Th. zygis* en junio. En estas zonas, por lo general, las cosechas se adelantan, pudiendo variar las fechas entre algunos días y un mes.

B) Producciones.

Los rendimientos obtenidos a partir de estas plantas, tanto en lo referente a la producción de hoja seca como a los litros de aceite esencial, varían en función de las condiciones de cultivo.

Sotomayor (1998) lleva a cabo un estudio de cultivo del género *Thymus* en dos parcelas de secano situadas en zonas bioclimáticas distintas de la Región de Murcia, una de ellas en Moratalla, en el interior de la región, y otra próxima a la costa, en el término municipal de Torre Pacheco, y obtiene resultados que apuntan a una mayor producción de hoja seca en las zonas montañosas del interior, en tanto que la síntesis de aceite esencial parece verse favorecida por los climas más templados y la escasez de agua. Si consideramos los litros de aceite esencial por hectárea, los datos muestran, en general, una producción superior en la comarca de interior, debido a que también se obtiene una mayor cantidad

de material vegetal en esta zona. En este trabajo, la plantación se realiza a raíz desnuda, lo que origina un bajo porcentaje de enraizamiento que afecta especialmente a *Thymus hyemalis*, que en la parcela cercana al litoral presenta un elevado número de marras. Por ello, en este ensayo no se recogen datos de producción para esta planta en dicha parcela. En la Tabla I-19 se muestra un ejemplo de los resultados obtenidos por este autor durante tres años de cultivo, empleando el marco de plantación indicado anteriormente para cultivos de secano, con una densidad de 25.000 plantas/ha.

Tabla I-19. Rendimientos medios obtenidos en hoja seca y aceite esencial para distintas especies de tomillo en secano.

	MORATALLA		TORRE PACHECO	
	Kg HS/ha	L AE/ha	Kg HS/ha	L AE/ha
<i>Th. zygis</i>	1.069	38,0	612	16,3
<i>Th. vulgaris</i>	1.258	33,5	731	27,3
<i>Th. hyemalis</i>	584	13,2	–	–
<i>Th. baeticus</i>	1.697	92,7	678	39,5

HS = Hoja Seca

AE = Aceite Esencial

En los cultivos de regadío se puede duplicar el número de plantas por hectárea, duplicándose también las producciones. En un trabajo llevado a cabo por Sotomayor *et al.* (2001), se diseña una parcela experimental con una densidad próxima a las 89.000 plantas/ha, aportando agua mediante riego localizado. Trascurridos siete meses desde el inicio del cultivo, se realiza la primera cosecha de la plantación, comprobándose que los rendimientos alcanzados en un período de tiempo tan corto son bastante altos (Tabla I-20), lo que hace pensar a estos autores en la posibilidad de realizar dos recolecciones al año.

Es interesante mencionar que esta plantación se lleva a cabo en la misma finca experimental de Torre Pacheco (Murcia) mencionada anteriormente, aunque en este caso el procedimiento empleado para la siembra ha sido diferente, lo que ha mejorado el arraigo de las plantas, y ha permitido cultivar también con éxito *Th. hyemalis*.

Tabla I-20. Rendimientos medios obtenidos en hoja y aceite esencial para distintas especies de tomillo en regadío.

	Kg MF/ha	Kg HS/ha	L AE/ha
<i>Th. zygis</i>	5.564	1.263	55,7
<i>Th. vulgaris</i>	8.068	1.598	32,0
<i>Th. hyemalis</i>	7.059	1.214	68,5

MF = Materia Fresca

El interés por estos cultivos se puede apreciar igualmente en otros países. Así, también se han establecido cultivos de *Th. vulgaris* en Colombia, donde se considera un cultivo altamente rentable. Se siembran hasta 100.000 plantas/ha y se pueden obtener 4 cortes al año, con rendimientos de unas 18 t/ha en fresco y unas 3 t/ha de tomillo seco, y cerca de 50 kg/ha de aceite esencial; o en Guatemala, donde estos cultivos se encuentran distribuidos en el altiplano del país, en huertos y áreas pequeñas. Se desarrollan en climas templados y fríos, a 1.000–2.500 m.s.n.m., con temperaturas medias de 15–20°C y precipitaciones de 1.000 a 1.500 mm anuales. El rendimiento obtenido en estas plantaciones es de 5.000 kg de materia verde/ha en el primer corte, lo que produce unos 2.000 kg de materia seca. En cultivos de 3 años se obtienen unos 8.500 kg de producto fresco/ha como promedio (ICTA. Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas. <http://www.icta.gob.gt>).

Como se ha podido observar en el desarrollo de esta Introducción, el género *Thymus* representa una buena opción en lo que respecta a la implantación de cultivos, ya que se trata de una fuente de importantes materias primas, de probada utilidad, y altamente demandadas por las diferentes industrias implicadas en el aprovechamiento de estas plantas.

II. MATERIAL Y MÉTODOS

II. 1. PARCELA EXPERIMENTAL.

Este ensayo agronómico se realiza en la finca experimental Torreblanca del IMIDA, situada en Torre Pacheco (Murcia), próxima al litoral murciano, a 37° 47' latitud Norte, 0° 53' longitud Oeste, y a una altitud de 45 m.s.n.m (Figura II-1).



Fig. II-1. Parcela de Torreblanca.

II. 1. 1. Características edafoclimáticas.

Se trata de una zona cuya escasez de agua determina la marginalidad de las tierras de cultivo, al igual que ocurre en áreas del Campo de Cartagena y Sudeste de la región (Sotomayor, 1998).

El suelo es aluvial cuaternario, con una alta proporción de arcilla. Su composición, en los primeros 30 cm, es la siguiente:

Arcilla	51,61%
Limo	33,98%
Arena	14,41%

Las características edafológicas de la parcela son:

C.E. (dS/m)	1,38
ph	7,80
C.C.C. (meq/100 g)	18,90
Caliza activa (%)	28,16
Carbonatos totales (%)	46,68
Materia orgánica (%)	0,64
Nitrógeno total (%) "Kjeldahl"	0,07
Fósforo asimilable (ppm) "Olsen"	28,80
Potasio asimilable (meq/100 g)	1,00

Este suelo muestra una Capacidad de Campo del 39% (por volumen) y un Punto de Marchitez del 21%.

Los valores termométricos de la finca experimental muestran una temperatura media anual de 18,2 °C, una temperatura media de las máximas del mes más frío (enero) de 16,4 °C, y una temperatura media

de las mínimas del mes más frío de 5,5 °C. En base a estos parámetros se calcula el índice de termicidad (It), cuyo valor es de 401, lo que sitúa esta zona en el horizonte bioclimático del Termomediterráneo superior (Alcaraz *et al.*, 1989). Este índice es de gran utilidad, ya que ofrece una medida de la intensidad del frío, factor limitante para el desarrollo de muchas plantas y comunidades vegetales (Rivas-Martínez, 2004).

La Tabla II-1 muestra las temperaturas mensuales y la radiación solar medidas en la parcela en los tres años de ensayo que abarca la presente memoria, según datos del Servicio de Información Agraria de Murcia (SIAM) del IMIDA, Consejería de Agricultura y Agua, a través de su página web (<http://wsiam.carm.es>).

Tabla II-1. Valores de temperatura y radiación en Torreblanca.

	2002				2003				2004			
	T (°C)			Radiación	T (°C)			Radiación	T (°C)			Radiación
	MED	MAX	MIN	(W/m ²) MED	MED	MAX	MIN	(W/m ²) MED	MED	MAX	MIN	(W/m ²) MED
ene	10,0	11,9	7,5	118,7	9,5	12,9	4,6	127,5	10,9	17,0	6,2	139,6
feb	10,6	13,8	8,0	182,1	9,8	13,1	5,0	137,5	10,3	12,9	7,2	139,8
mar	13,0	17,6	9,6	206,5	12,7	18,3	10,5	193,6	11,8	15,9	5,2	175,1
abr	14,1	18,9	10,3	250,4	14,6	18,2	10,4	246,7	13,3	16,4	7,2	243,8
may	17,4	21,5	11,7	290,1	18,0	21,6	14,0	308,6	16,2	21,1	12,1	267,6
jun	22,4	25,2	19,7	306,7	23,7	27,0	19,8	313,9	22,2	25,9	18,6	326,3
jul	23,9	25,7	21,7	310,0	25,5	28,5	23,7	315,6	23,9	27,5	21,5	306,1
ago	24,2	26,2	22,0	257,8	26,4	28,0	23,8	288,0	25,4	27,2	23,9	277,4
sep	22,2	23,7	19,7	226,8	22,9	26,1	20,7	224,4	23,0	27,1	19,3	207,2
oct	18,3	21,3	15,5	160,7	18,1	23,6	13,1	146,2	18,7	22,5	13,0	173,5
nov	14,3	19,8	10,7	120,2	13,8	16,3	10,7	111,0	12,4	16,8	7,8	131,3
dic	11,7	15,1	8,7	100,0	10,5	14,5	6,5	113,6	10,8	15,5	5,1	95,5

La pluviometría media de esta zona es de 308,3 mm/año, lo que señala un ombroclima semiárido.

II. 1. 2. Diseño experimental de la plantación.

En el presente trabajo se estudia como variable el efecto de distintas dosis de riego sobre las plantas, con el fin de determinar las mejores condiciones de desarrollo en cultivo de tres especies distintas de tomillo.

Para ello, la plantación se realiza con bloques al azar, para prevenir posibles gradientes de productividad dentro del área de los ensayos. En concreto, se establecen cuatro bloques o repeticiones (B1, B2, B3, B4), tal como se aprecia en la Figura II-2.

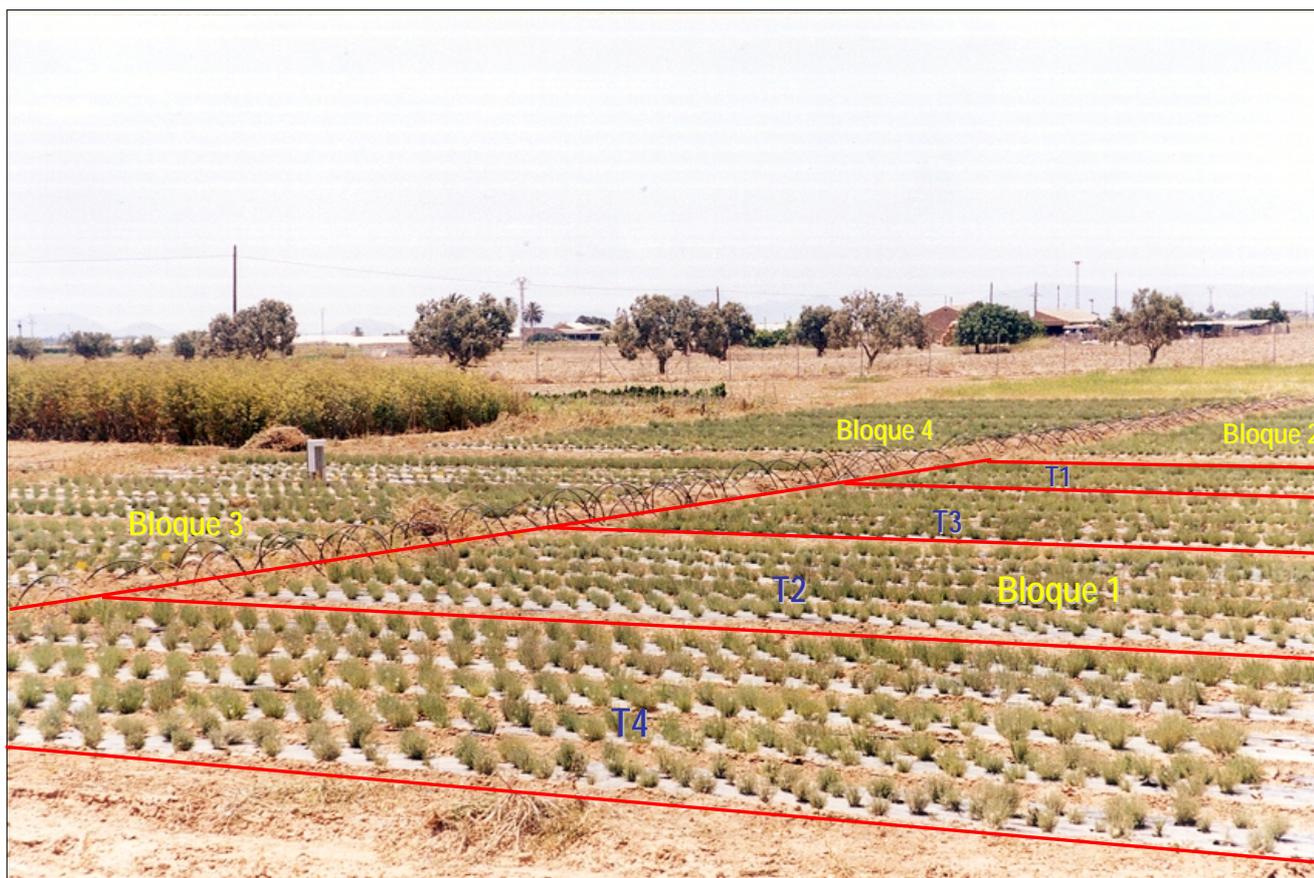
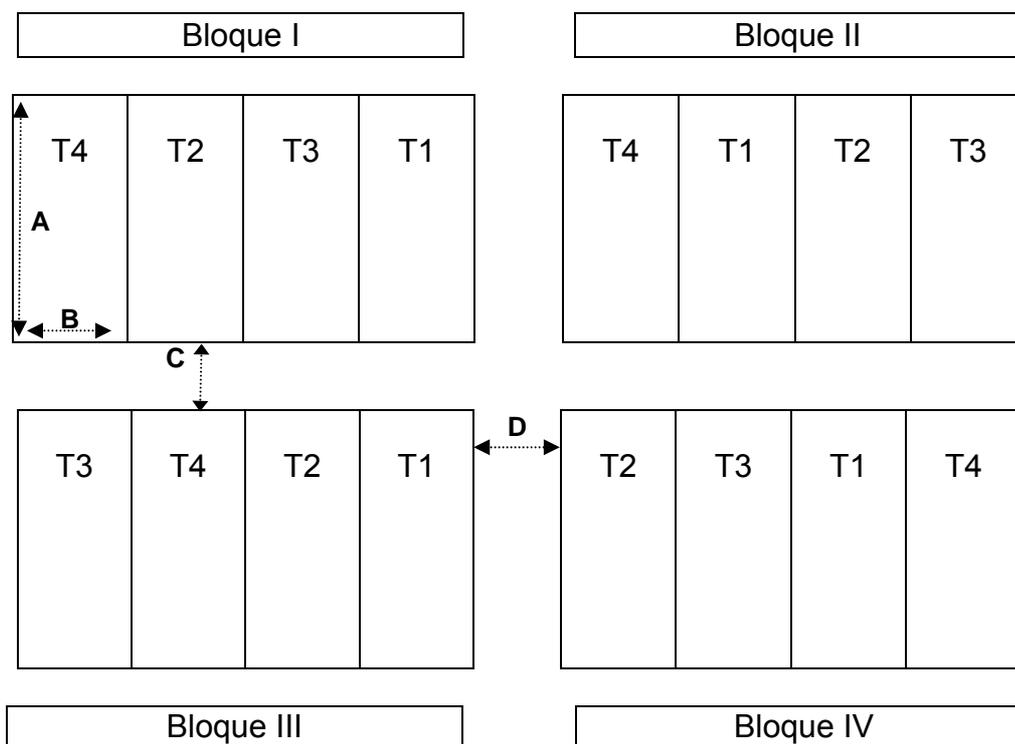


Fig. II-2. Disposición de las repeticiones en la parcela.

Cada bloque se divide en cuatro parcelas que se corresponden con cuatro tratamientos de riego localizado (T1, T2, T3, T4), los cuales se distribuyen igualmente al azar, representando cada uno de ellos un aporte hídrico concreto que permitirá dilucidar la dosis de agua óptima para el desarrollo y productividad de cada una de las plantas consideradas.

Esquemáticamente, el diseño de la parcela sería el siguiente:



A = 10,8 m

B = 7,25 m (incluidos los espacios necesarios para la maquinaria agrícola)

C = 3 m

D = 2 m

Todas las parcelas-tratamiento se subdividen a su vez en tres subparcelas de $15,66 \text{ m}^2$, cultivándose en ellas las tres especies objeto de esta Tesis. Los distintos tipos de tomillo se disponen aleatoriamente en las diferentes subparcelas.



Fig. II-3. Apero utilizado para la colocación de tuberías y plásticos.

En el momento de realizar la plantación se practican orificios en el plástico para colocar las plantas. Éstas se disponen a ambos lados de cada línea de goteros, al tresbolillo, separadas 10 cm de las tuberías, y con una separación entre plantas de 30 cm (Figura II-4). El número de plantas que se deposita en cada subparcela es de 140, lo que constituye una densidad de 89.400 plantas/ha (Figura II-5).

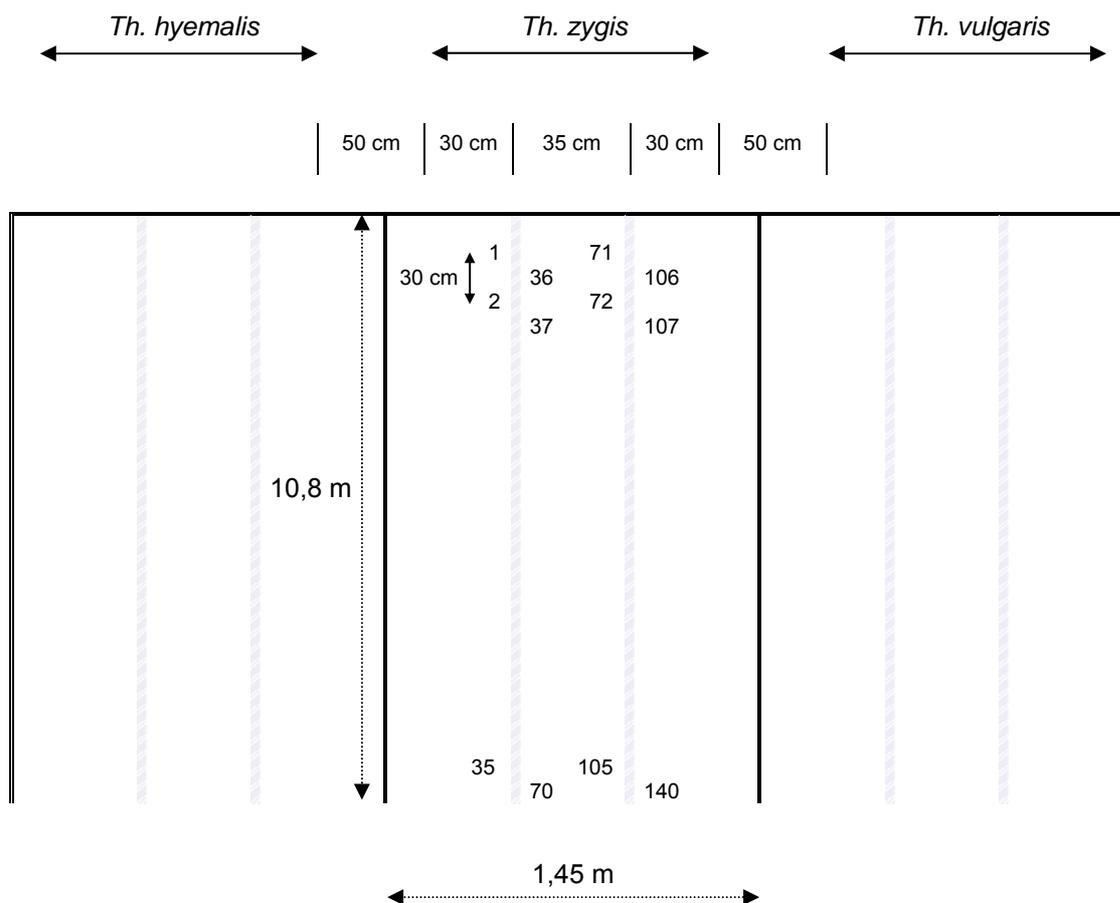


Fig. II-4. Vista esquemática de la disposición de las plantas. Los trazos azules representan las líneas de goteos, y los espacios de 50 cm que separan cada especie de tomillo serían los necesarios para el paso de la maquinaria agrícola.

Para preparar el terreno, se realiza un abonado de fondo sobre la parcela con el fin de que el suelo contenga las Unidades Fertilizantes que recomienda Muñoz (1987) para el cultivo de tomillos:

- 75–80 U. F. de nitrógeno en la preparación del suelo.
- 50–60 U. F. de fósforo en la preparación del suelo.
- 100–120 U. F. de potasio en la preparación del suelo.

En años posteriores se llevan a cabo análisis de minerales en plantas, y se aplican las dosis de abonado necesarias para restituir al terreno los macro y micronutrientes extraídos por los tomillos, de forma

que las plantas dispongan de las mismas cantidades de nutrientes durante todo el ensayo. El abono se suministra disuelto en el agua de riego (fertirrigación).

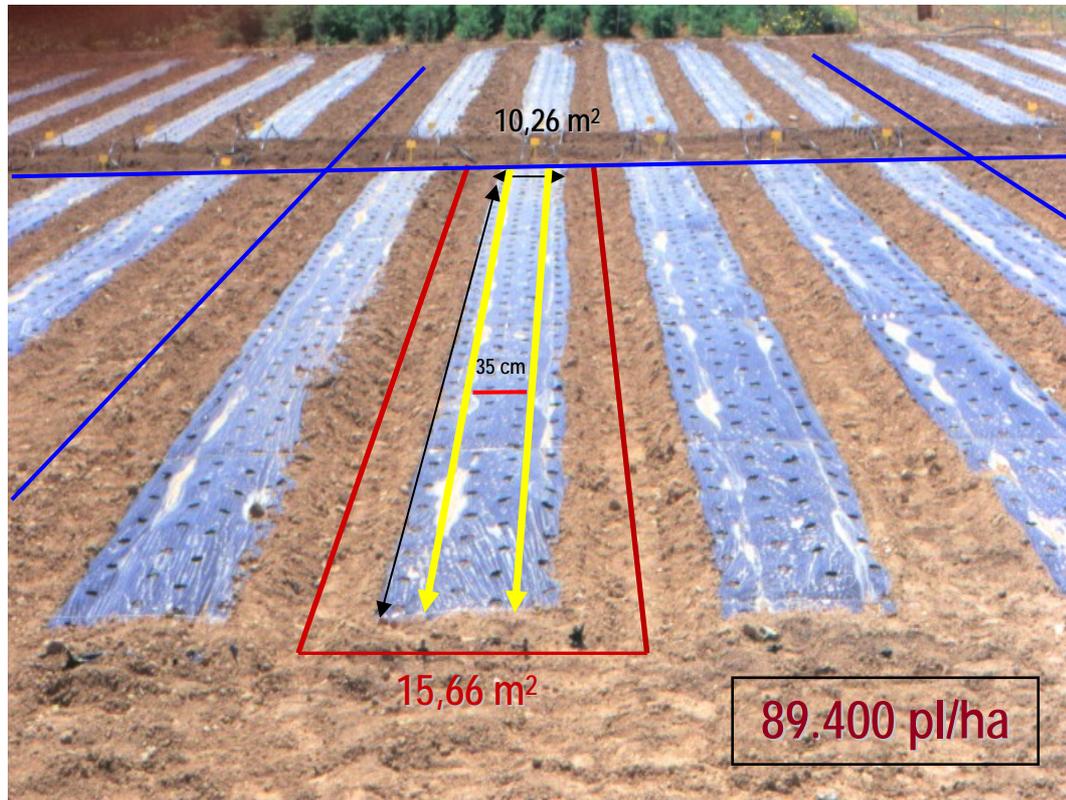


Fig. II-5. Vista real de la distribución de las plantas en las subparcelas. Las flechas amarillas indican la disposición de las tuberías de riego. El espacio ocupado por las plantas, sin considerar el terreno necesario para la separación entre especies, determina un área de 10,26 m².

II. 1. 3. Cálculo de las dosis de riego.

En este apartado se detalla la cantidad de agua que han recibido las plantas. Estos aportes hídricos se han establecido con el fin de abarcar un amplio rango de respuestas por parte de las mismas frente a las diferentes dosis de agua, buscando la mayor producción de fitomasa y el máximo rendimiento y calidad del aceite esencial.

Para ello se suministra a todas las especies estudiadas cuatro tratamientos básicos que consisten en cuatro dosis de riego diferentes, estimadas en función de la Evapotranspiración Potencial (ETP) anual de la zona de cultivo. Dado que la ETP difiere según el tipo planta, con el fin de facilitar valores reproducibles se emplea la correspondiente Evapotranspiración de referencia de gramíneas (ETo), que en la zona de estudio es de 1.234 mm anuales.

En mayo de 2000, fecha en la que se realiza la plantación, se proporciona a toda la parcela un riego inicial para facilitar la supervivencia de las plantas, con una dosis de agua de aproximadamente 20 litros/m².

Posteriormente, y hasta julio de 2001, el agua aportada al cultivo es la necesaria para compensar el 60% de la ETo.

A partir de dicha fecha, comienzan a aplicarse los tratamientos de riego diferenciados, cuyos resultados se analizan en esta memoria.

La cantidad de agua que reciben las plantas se programa para atender las siguientes necesidades hídricas:

- Tratamiento de riego para compensar el 80% de la ETo (T1).
- Ídem al 60% de la ETo (T2).
- Ídem al 40% de la ETo (T3).
- Ídem al 20% de la ETo (T4).

Los valores, calculados según el modelo Penman-Monteith, han sido facilitados por el SIAM (<http://wsiam.carm.es>).

Los riegos se programan semanalmente teniendo en cuenta la ETo de la semana anterior y las precipitaciones caídas en la parcela, regulándose así el total de agua suministrado a las plantas. En la práctica, el aporte hídrico varía ligeramente respecto a los valores propuestos,

determinándose que los niveles reales de agua que reciben las plantas se corresponden con lo especificado en la Tabla II-2.

Tabla II-2. Tratamientos de riego aplicados.

% ETo propuesto	% ETo real (Promedio anual)	Equivalencia ETo (mm/año)*
80	81	1.000
60	63	777
40	44	543
20	30	370

* *Cantidades calculadas en base a la ETo real.*

Como se puede observar, el aporte hídrico equivalente al 30% de la ETo es sólo ligeramente superior a las precipitaciones medias de la zona de cultivo, que se sitúan en 308 mm/año.

II. 2. MATERIAL VEGETAL.

Los datos reflejados en la presente memoria se refieren a un cultivo experimental de tres especies del género *Thymus*, las cuales se han elegido en base a los resultados obtenidos en ensayos previos realizados en el IMIDA (Sotomayor, 1998), considerando su respuesta al cultivo en cuanto a producción de biomasa, rendimiento en aceite esencial y composición química de dicho aceite. En este último caso, se ha prestado especial atención al contenido fenólico, ya que compuestos como timol y carvacrol son los más interesantes desde el punto de vista comercial.

Teniendo esto en cuenta, fueron seleccionadas para su estudio dos especies espontáneas en el Sudeste Ibérico, y una tercera comercial de origen francés, empleándose esta última como referencia agronómica (Tabla II-3).

Tabla II-3. Especies objeto de investigación.

Especies espontáneas	Procedencia
<i>Thymus hyemalis</i>	(Campo de Cartagena, Murcia)
<i>Thymus zygis</i> subsp. <i>gracilis</i>	(Puerto Lumbreras, Murcia)
Especie comercial	
<i>Thymus vulgaris</i>	(Cultivar de Provenza, Francia)

El material vegetal empleado en este ensayo, excepto en el caso del tomillo común, proviene de semillas recolectadas en zonas donde estas plantas crecen espontáneamente. Estas semillas pueden dar origen a individuos muy heterogéneos, ya que proceden de tomillares naturales en los que encontramos una gran variabilidad (Sáez, 1995 a y b). Para conseguir una población uniforme se requeriría una selección clonal previa.

Las semillas comerciales de *Th. vulgaris* fueron compradas a la empresa francesa Vilmorin.

Tras la obtención de las semillas, se realiza una siembra en bandejas de poliestireno expandido, con alvéolos troncopiramidales de 2,5 x 2,5 cm de base y 5 cm de altura. El semillero se elabora en febrero de 2000, y la germinación se produce a las 3 semanas. Las plantas se repican cuando alcanzan una altura de 6 a 8 cm.

Después de la germinación, las plántulas obtenidas se mantienen en invernadero durante tres meses.

Transcurrido ese tiempo, todas las plantas fueron extraídas y trasladadas a la parcela experimental (mayo de 2000).

En el trabajo realizado por Sotomayor (1998) se observa una alta tasa de mortalidad cuando los tomillos se siembran en el terreno definitivo a raíz desnuda, especialmente en el caso de *Th. hyemalis*. Por ello, en el presente ensayo las plantas fueron transplantadas con cepellón,

cubriendo y protegiendo así la raíz, con el fin de mejorar los resultados obtenidos en cuanto a supervivencia en cultivo.

La recolección se realiza cuando las plantas se encuentran en período de floración-fructificación, ya que este ha demostrado ser el estado fenológico más adecuado en cuanto a producción de material vegetal, así como en rendimiento y calidad del aceite esencial (Sotomayor, 1998; Jordán *et al.*, 2006).

Cuando se procede a la recolección del tomillo, se deben tener en cuenta algunos factores que pueden afectar a las plantas y, por lo tanto, al rendimiento de la parcela: en primer lugar, se debe segar sólo la parte aérea de cada individuo, realizando el corte a una altura que permita a la planta conservar la suficiente masa vegetal para facilitar el rebrote; por otra parte, es importante sujetar correctamente el tomillo en el momento de la siega, con el fin de moverlo lo menos posible para evitar descalzar la planta.

II. 2. 1. Recolecciones.

Los muestreos y siegas realizados a lo largo de los años 2002, 2003 y 2004 de las tres especies proporcionan los resultados que se muestran en esta Tesis. En 2002 y 2003 se analiza el efecto de las distintas dosis de riego sobre los parámetros considerados, y en 2004 se lleva a cabo un estudio en profundidad de la variabilidad intraespecífica encontrada en estas plantas, con objeto de realizar una selección de las más adecuadas para su posterior multiplicación.

La plantación, como se menciona anteriormente, se realiza en mayo del año 2000, y entre noviembre y diciembre de ese año se practica una primera recolección de todas las plantas. Los sucesivos muestreos y recolecciones, que tienen lugar a partir de 2001, se detallan por especies

en la Tabla II–4. Los datos correspondientes a 2001 no se han incluido en esta memoria de Tesis, ya que, como se indica en el apartado precedente, los tratamientos de riego específicos comenzaron en julio de 2001, no siendo apreciables sus efectos hasta las recolecciones de 2002. Este diferente aporte hídrico es el fundamento del presente estudio, aunque se señalan las recolecciones de 2001 con el fin de conocer el número de siegas que han experimentado las plantas.

Tabla II–4. Calendario de recolecciones.

	<i>Th. hyemalis</i>		<i>Th. vulgaris</i>		<i>Th. zygis</i>
	1ª recolección	2ª recolección	1ª recolección	2ª recolección	Única recolección
2001	marzo	julio	abril	junio	junio
2002	febrero	mayo	febrero	mayo	junio
2003	marzo	junio	mayo	—	junio
2004	marzo	junio	mayo	—	junio

⇒ De *Th. hyemalis* se obtienen dos cosechas anuales en condiciones de cultivo. En 2003, sin embargo, la segunda recolección se vio afectada por el exceso de calor que tuvo lugar durante la segunda quincena de mayo y el mes de junio, lo que provocó una floración rápida, con un escaso crecimiento de las plantas, especialmente en los tratamientos con menor aporte hídrico. Por este motivo, en 2003 sólo se ha considerado la primera recolección, ya que los datos de la segunda son poco relevantes.

⇒ *Th. vulgaris* produjo igualmente dos cosechas en 2002, pero en 2003 y 2004 las plantas no alcanzaron un momento óptimo de desarrollo hasta principios de mayo, por lo que se realizó una única recolección en esa fecha. Las condiciones climatológicas a las que se vieron expuestas las plantas durante los meses de mayo y junio de 2003 originaron un

rebrote de las plantas casi inmediatamente después de la siega, pero sólo en aquellas que recibieron un mayor aporte de agua.

⇒ *Th. zygis* produce una única cosecha anual, en la primera quincena de junio.

II. 2. 2. Número y procesado de las muestras vegetales.

Para estudiar si un diferente aporte hídrico puede repercutir en el rendimiento y la calidad del aceite esencial, en 2002 y 2003 se recolectan al menos 48 plantas de cada especie (3 plantas x tratamiento x 4 tratamientos = 12 plantas x 4 bloques = 48 plantas). Siempre que ha sido posible, se procurado coger los mismos tomillos en cada recolección, para lo cual, tras segar cada planta seleccionada para ser destilada, ésta es marcada con etiquetas identificativas.

En 2004, para examinar la variabilidad intraespecífica y determinar cuáles de estas plantas resultan más interesantes, especialmente en lo referente a la composición química de sus aceites esenciales, se plantea la necesidad de aumentar el número de individuos recolectados para su análisis. Por ello, este año se toma un número considerablemente superior de ejemplares respecto a los años anteriores, recolectándose al menos 96 plantas de cada una de las especies consideradas (6 plantas x tratamiento x 4 tratamientos = 24 plantas x 4 bloques = 96 plantas), excepto de *Thymus vulgaris*, ya que este tomillo, en nuestro caso, es de origen comercial y está sometido a una selección previa, por lo que se considera innecesario tomar un número tan elevado de individuos, y sólo se ha realizado un análisis de la evolución del cultivo tras someterlo a una nueva siega.

Todas las plantas muestreadas se introducen en bolsas de plástico perforadas para evitar condensaciones debidas a la humedad, y son pesadas en fresco inmediatamente después de su recolección.

Seguidamente, se secan con calor artificial en estufa a 35 °C durante 48 horas, hasta alcanzar peso constante, para la posterior extracción de su aceite esencial. En este sentido, Venskutonis (1997) comprueba que los constituyentes de estos aceites no ven alterada su concentración si los tomillos se desecan a 30 °C, con resultados similares a los obtenidos de la planta fresca. Si la temperatura se eleva hasta los 60 °C, se produce una reducción del 43% en el contenido en compuestos volátiles de la planta.

Cuando se han tomado las muestras necesarias, se procede a la siega de toda la parcela, con lo que se posibilita el rebrote de las plantas y la obtención de nuevas cosechas. Las siegas, que se realizan a mano dado el tamaño de la parcela y la necesidad de conseguir resultados precisos y reproducibles, aportan el material vegetal necesario para expresar los datos de producción de fitomasa. Para ello, dicho material vegetal es separado por bloques y tratamientos, e inmediatamente después de ser recolectado se pesa en fresco. A este peso se debe sumar el correspondiente a las muestras recolectadas para su análisis. Obtenidos los pesos totales, se calcula el promedio alcanzado entre los cuatro bloques para cada una de las dosis de agua. Así se determina la producción de materia fresca (MF) en función del riego recibido por las plantas.

Para calcular la proporción de materia seca (MS) que corresponde a esos kg de tomillo obtenidos en fresco, se seleccionan muestras representativas de material vegetal de todos los tratamientos en el momento de la siega, hasta alcanzar 2 kg de producto verde por tratamiento. Estas muestras son igualmente desecadas en estufa a 35 °C. Una vez obtenido el peso seco, se puede calcular el porcentaje de

materia seca que proporcionan las distintas dosis de riego considerando el peso fresco del material vegetal que se había separado en cada caso:

$$\% \text{ MS} = (\text{Ps}/\text{Pv}) \times 100$$

Ps = Peso seco.
Pv = Peso verde.

Seguidamente, se obtiene el porcentaje de hoja seca (HS) separando hojas y tallos de cada muestra empleada para determinar la proporción de materia seca. Se usan para ello tamices de mayor a menor paso de luz (3 a 0,2 mm de luz), por los que se hace pasar sucesivamente el material vegetal desecado hasta conseguir aislar las hojas. A continuación, se pesan éstas, y se determina su porcentaje respecto al peso seco para todos los tratamientos de riego:

$$\% \text{ HS/MS} = (\text{PHs}/\text{Ps}) \times 100$$

PHs = Peso hoja seca.

Conocidos ambos porcentajes, resulta sencillo precisar los kg de material vegetal en seco y de hoja producidos por el cultivo en función del aporte hídrico, y extrapolar los resultados a hectáreas considerando nuestro marco de plantación.

$$\begin{aligned} \text{Kg MS} &= (\text{Kg MF} \times \% \text{MS}) / 100 \\ \text{Kg HS} &= (\text{Kg MS} \times \% \text{HS/MS}) / 100 \end{aligned}$$

II. 3. EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL.

Es importante señalar que el método empleado para la obtención de estos aceites puede afectar a su rendimiento y composición, siendo la

destilación la técnica más utilizada para la separación de los constituyentes volátiles de una muestra.

El objeto de este ensayo es determinar la influencia de la dosis de riego sobre el rendimiento en aceite esencial, rendimiento que se calcula respecto al peso seco de cada planta.

Para ello, las plantas muestreadas se someten individualmente a destilación con agua o hidrodestilación con un sistema tipo *Clevenger* (European Pharmacopeia, 1990) como el que aparece en la Figura II-6.

El sistema consta de manta calefactora, matraz esférico de 2 L de capacidad, tapa para matraz, tubo colector de esencias con escala de 2 ml, y refrigerante.

El material vegetal procedente de cada ejemplar recolectado, tras ser desecado y pesado, se deposita en el interior del matraz de destilación, añadiendo 1 L de agua destilada. Se sitúa el matraz en la manta calefactora y se cubre con la tapa, sellándose la unión entre ambos utilizando silicona y una abrazadera metálica para evitar pérdidas de sustancias volátiles. El tubo colector se acopla al cuello de la tapa, y finalmente, en la parte superior del colector de esencias se coloca el refrigerante, a través del cual circula agua fría. Cuando la manta calefactora calienta el agua del matraz y ésta entra en ebullición, el vapor de agua arrastra el aceite esencial de la muestra, de naturaleza volátil, y ambos condensan en el refrigerante. La diferencia de densidad entre las dos fases (agua y aceite esencial) permite la separación de ambas sustancias. La fase acuosa se va reciclando al matraz de destilación, con lo que se reduce la posibilidad de que pequeñas cantidades de componentes del aceite puedan quedar retenidas en el agua. Este proceso se prolonga durante 3 horas, para asegurar la extracción de todos los constituyentes volátiles de la planta.



Fig. II-6. Sistema Clevenger empleado en la extracción del aceite esencial.

Transcurrido ese tiempo, el aceite esencial se recupera directamente del tubo colector, y su volumen es medido en una probeta. Para eliminar los restos de agua de la muestra se emplea sulfato sódico anhidro, y finalmente, los aceites se depositan en viales ámbar de 2 ó 4 ml, y se conservan a 4 °C para su posterior análisis cromatográfico.

El porcentaje de aceite esencial obtenido de cada planta se calcula considerando el volumen de aceite producido (en ml) y el peso seco de la muestra (en gr). Teniendo en cuenta los porcentajes de aceite y los kilos de materia seca alcanzados con cada tratamiento, se puede determinar la producción por hectárea de esta sustancia.

II. 4. ANÁLISIS DE COMPONENTES.

El control de calidad de los aceites esenciales obtenidos tras la destilación se realiza mediante Cromatografía de Gases y Espectrometría de Masas, para identificar y cuantificar los componentes volátiles de dichos aceites en las distintas especies cultivadas de tomillo.

II. 4. 1. Cromatografía de Gases (GC).

Los componentes volátiles presentes en cada muestra de aceite esencial son identificados y cuantificados mediante cromatografía gaseosa capilar, empleando para ello un cromatógrafo Agilent 5890 Serie II, equipado con un detector de ionización de llama (FID). La cromatografía de gases es la técnica más adecuada para el estudio de estos aceites, ya que presenta una elevada sensibilidad y una gran eficacia en la separación de los distintos constituyentes de estas sustancias.

Se analizan muestras de 0,1 μ L de aceite esencial, y la separación se realiza en una columna capilar HP-5 (5% Fenil Metil Siloxano entrecruzado) de 30 m de longitud, 0,25 mm de diámetro interno y 0,25 μ m de espesor de fase estacionaria.

El detector y el inyector se mantienen a 280 y 250 °C respectivamente. Se emplea helio como gas portador, con un flujo a

través de la columna de 1 mL/min, que se mantiene constante durante todo el análisis. Dada la elevada concentración a la que se encuentran los constituyentes volátiles de estos aceites, la inyección se realiza con una relación de división de flujo (split ratio) de 100:1.

La rampa de temperatura aplicada al horno es la siguiente:

Temperatura inicial	60 °C
Tiempo inicial	4 minutos
Programa	1 °C/min, hasta 64 °C
Programa	2,5 °C/min, hasta 155 °C
Programa	5° C/min
Temperatura final	250 °C

II. 4. 2. Espectrometría de Masas (MS).

La identificación rigurosa de los diferentes constituyentes del aceite esencial detectados mediante Cromatografía de Gases (FID), se complementa con análisis por Espectrometría de Masas de los perfiles volátiles de dichos aceites.

Para ello, las muestras se inyectan en un cromatógrafo de gases Agilent 6890N, acoplado a un espectrómetro de masas 5973 *inert* como detector. En este caso, se emplean dos columnas distintas que separan los componentes en función de diferentes características: una columna HP-5 igual a la descrita anteriormente, de naturaleza ligeramente polar, que separa los componentes en base a su punto de ebullición, y una columna DB-WAXETR (polietilenglicol ligado) de 30 m de longitud, 0,32 mm de diámetro interno y 1 µm de espesor de fase estacionaria, capaz de separar los constituyentes de los aceites considerando también su polaridad.

Las condiciones cromatográficas, en el caso de la columna HP-5, son idénticas a las ya expuestas para el cromatógrafo de gases equipado con FID.

Con la columna DB-WAXETR, el volumen de muestra inyectado fue igualmente de 0,1 μL , usándose una relación de división de flujo de 100:1. El gas portador es también helio, con un flujo constante de 1 mL/min en columna. Las temperaturas de inyector y detector coinciden con las detalladas en el apartado anterior.

El programa de temperatura en el horno, en este caso, es el siguiente:

Temperatura inicial	60 °C
Programa	2,5 °C/min
Temperatura final	220 °C, 15 minutos

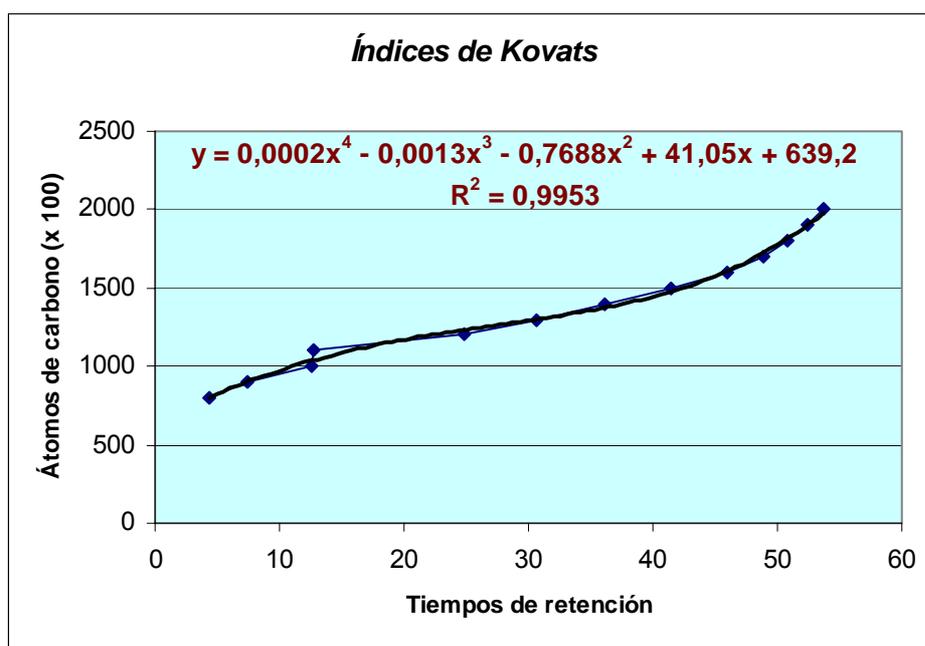
II. 4. 3. Análisis cualitativo y cuantitativo.

Los componentes individuales son identificados mediante la comparación de sus tiempos de retención y sus índices de retención (Índices de Kovats) con los de los componentes puros empleados como patrones de referencia, inyectados en las mismas condiciones cromatográficas que los aceites, y por la semejanza de los espectros de masas de los componentes a identificar con aquellos que se encuentran recogidos en la biblioteca NIST98 (National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD), así como con los espectros obtenidos para los componentes puros.

El índice de retención de Kovats expresa el número de átomos de carbono (multiplicado por 100) de un hipotético alcano que tendría un tiempo de retención igual al del componente de interés cuando se

analizan bajo idénticas condiciones. Estos valores se obtienen por interpolación, relacionado el tiempo de retención del constituyente a identificar con los tiempos de retención de dos alcanos que eluyen inmediatamente antes y después de él.

Para calcular los índices de Kovats se han empleado hidrocarburos alifáticos de 6 a 17 átomos de carbono, obteniéndose para cada uno de ellos su correspondiente tiempo de retención. El punto de ebullición de estos hidrocarburos se incrementa a medida que aumenta la longitud de su cadena, representándose gráficamente los tiempos de retención que corresponden a cada hidrocarburo en función de su número de átomos de carbono.



Algunos componentes son identificados tentativamente teniendo en cuenta la biblioteca de espectros NIST y sus correspondientes índices de retención, ya que no disponemos de los patrones de referencia. Esos componentes son:

- *Hydrocarburos terpénicos*: triciclono, α -tujeno, verbeneno, (*E*)- β -ocimeno, α -gurjeneno, germacreno, elemeno, β -selineno, α -muuroleno y γ -cadineno.
- *Alcoholes*: 3-penten-2-ol, 3-metil-2-buten-1-ol, (*Z*)-hidrato de sabineno y (*E*)-verbenol.
- *Aldehído*: (*E*)-2-butenal.
- *Cetonas*: 3-heptanona y pinocarvona.
- *Ésteres*: 2-Metilbutirato de metilo y acetato de timilo.

La valoración cuantitativa de todos los constituyentes se realiza considerando el porcentaje de área asignado a cada pico cromatográfico.

II. 5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Para comprobar si la producción de biomasa, el rendimiento en aceite esencial y las cantidades relativas de los componentes identificados en dicho aceite para las tres especies consideradas se ven afectados por los distintos tratamientos hídricos, se emplea un test de Análisis de la Varianza (ANOVA), con un nivel de confianza del 95%, tras verificar la homocedasticidad de las varianzas atendiendo al estadístico de Levene con el paquete estadístico SPSS.

Si tras realizar la prueba ANOVA se concluye que existen diferencias significativas entre los tratamientos de riego aplicados, o dicho de otro modo, que los distintos aportes hídricos no tienen el mismo efecto sobre la característica en estudio, el paso siguiente es conocer cuál o cuáles de esos tratamientos tiene un efecto significativamente diferente respecto a los demás, y para ello se usan los Test de Rango Múltiple, pruebas que comparan las medias obtenidas para los distintos parámetros en función del riego, considerándolas dos a dos.

Estos test se eligen estimando los objetivos propuestos por el investigador. En nuestro caso, el procedimiento empleado ha sido la

Menor Diferencia Significativa de Fisher (Fisher's LSD), ya que si bien esta prueba puede cometer errores de Tipo I (rechazar la hipótesis nula cuando es cierta), este riesgo se minimiza al aplicar este test únicamente después de haber rechazado la hipótesis nula usando el ANOVA.

Los resultados de esta prueba se expresan en las correspondientes tablas mediante letras minúsculas que aparecen en forma de superíndice junto a cada valor, indicando la misma letra la pertenencia a grupos homogéneos, en tanto que letras distintas señalan la presencia de diferencias significativas.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos a lo largo de los tres años de ensayo se van a exponer siguiendo un orden acorde con la cronología del trabajo realizado.

Por ser un dato necesario para una correcta interpretación de los resultados, en primer lugar se reflejan las marras ocasionadas a lo largo de los tres años de ensayo para, a continuación, estudiar los valores de producción de biomasa en función del riego recibido por las plantas, especialmente los relativos al material vegetal desecado, más importante a nivel comercial.

Posteriormente, se presentan en la memoria los resultados relacionados con el aceite esencial, extraído de las plantas recolectadas. El primer punto relativo a tales aceites es el rendimiento alcanzado con las distintas condiciones hídricas, analizándose finalmente la composición química de estas sustancias.

Como complemento necesario a este estudio agronómico, se examinará asimismo el efecto de las sucesivas siegas sobre los parámetros considerados más importantes. Se trata de un dato de especial interés, ya que puede ser indicativo de la viabilidad de cada especie para ser cultivada.

Las tres especies ensayadas en esta Tesis se abordan siguiendo idéntico esquema.

En lo referente a los mencionados parámetros objeto de investigación, se deben contemplar los siguientes aspectos:

1. Durante los dos primeros años (2002 y 2003), el número de plantas recolectadas para su análisis fue similar, en tanto que en 2004, año en que se realiza el estudio de variabilidad, se aumenta la proporción de muestras analizadas, salvo en el caso de *Th. vulgaris*.
2. Esto no afecta al estudio de la cantidad de material vegetal producido por las distintas especies, que se analizará por igual en los tres años que comprende el ensayo, ya que para obtener este dato se procede a la siega de toda la parcela.
3. Del mismo modo, el rendimiento en aceite esencial de las plantas individuales se presenta contemplando los tres años bajo el mismo epígrafe, pero los resultados correspondientes a 2004 están más ponderados, debido al mayor tamaño de la muestra.
4. El perfil cromatográfico de estos aceites resulta determinante de la calidad de los mismos y, en definitiva, del interés económico de estas plantas. Por ello, se ha estimado necesario hacer una distinción entre los dos años destinados exclusivamente al estudio del efecto de las distintas dosis de riego sobre este parámetro, y el último año incluido en esta memoria. Tal distinción es necesaria estimando que el estudio de variabilidad llevado a cabo ese último año se plantea como respuesta a la gran diversidad química encontrada en los análisis practicados a estos aceites, lo que hace interesante determinar los distintos quimiotipos que podemos encontrar en estos tomillos, y su presencia en la población.

III. 1. *THYMUS HYEMALIS*.

A pesar del importante contenido fenólico que puede presentar su aceite esencial, *Th. hyemalis* no se cultiva habitualmente con fines comerciales, siendo su recolección en el monte la principal fuente de este tomillo en el mercado de las plantas aromáticas, lo que supone una dificultad a la hora de asegurar la calidad del producto presentado, debido a la gran variabilidad que presenta esta especie. Dado su potencial interés económico, se han establecido cultivos experimentales previos de esta labiada por parte de Sánchez Gómez *et al.* (1989) y Sotomayor (1998), ambos en condiciones de secano; y Sotomayor *et al.* (2001), en regadío.

En el presente ensayo hemos comprobado que esta especie produce dos cosechas anuales cuando se cultiva con regadío, ya que tras realizar una primera siega en invierno, su momento natural de floración, se origina un nuevo ciclo de desarrollo de la planta que culmina en primavera. Esto también puede ocurrir en plantas que crecen en estado silvestre, aunque únicamente cuando se dan inviernos suaves y primaveras lluviosas.

En general, las recolecciones de primavera generan menor cantidad de biomasa y aceite esencial, siendo este aceite además, en promedio, menos rico en compuestos fenólicos.

III. 1. 1. EFECTO DE LAS SIEGAS SOBRE LA SUPERVIVENCIA DE LAS PLANTAS.

En primer lugar, analizamos las marras ocasionadas con los distintos tratamientos hídricos a lo largo de los tres años que comprende el ensayo (Tabla III.1-1). En esta tabla queda de manifiesto que suministrar un escaso riego a esta especie favorece su asentamiento en el terreno, dado que el porcentaje de marras observado el tercer año de

ensayo, con una cantidad de agua equivalente al 20% de la ETo, es inferior al que nos encontramos en 2002, con menos cortes, en los otros tres tratamientos.

Tabla III.1-1. Porcentaje de marras ocasionadas a lo largo de los tres años de cultivo.

	% ETo			
	80	60	40	20
	% marras			
2002	58	55	46	19
2003	66	62	54	29
2004	71	65	64	42

Estos mismos resultados se pueden apreciar gráficamente en la Figura III.1-1, donde están representadas las plantas de *Th. hyemalis* que han persistido por tratamientos y años.

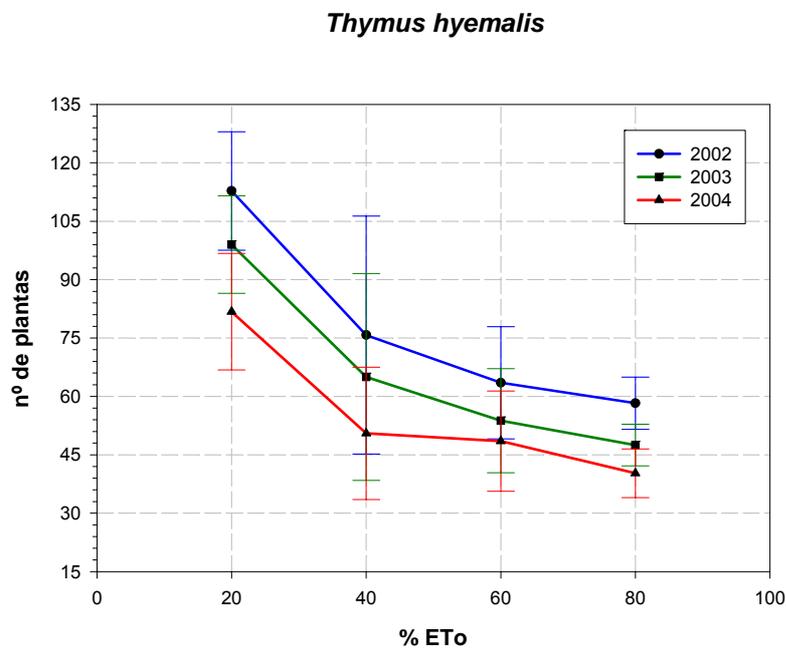


Fig. III.1-1. Número de plantas vivas, en función de la ETo, encontradas en los tres años de estudio.

Estas plantas han sido contadas siempre en los meses de verano, tras la segunda recolección. Se debe recordar que el número inicial de plantas es de 140 por subparcela.

Como se puede distinguir en la figura anterior, tras cada recolección hay un determinado número de plantas que no consigue rebrotar, siendo además evidente en cada año que el número de plantas vivas disminuye a medida que aumenta la cantidad de agua aportada a la plantación.

III. 1. 2. PRODUCCIÓN DE BIOMASA.

Los datos de producción reflejados en este apartado se refieren especialmente a los Kg de material vegetal desecado obtenido a partir del producto fresco recolectado en la parcela.

En primer lugar se exponen los resultados correspondientes a las recolecciones de invierno de los tres años que comprende el estudio, para detallar a continuación los rendimientos cosechados en primavera.

Los valores que se presentan entre paréntesis, tras cada porcentaje de la ETo, corresponden a las cantidades reales de agua que reciben las plantas, ligeramente diferentes de los valores propuestos, como ha sido detallado en la sección Material y Métodos.

III. 1. 2. 1. Invierno.

La Tabla III.1–2 muestra los rendimientos obtenidos en el invierno de 2002, cuando han transcurrido casi dos años desde el momento de la plantación. Es importante recordar que esta es la cuarta recolección efectuada a estas plantas, tras un primer corte realizado en diciembre de

2000, a los siete meses de iniciarse el cultivo, y las siegas de invierno y primavera de 2001. Los tratamientos de riego diferenciado comienzan a aplicarse en julio de ese mismo año.

Tabla III.1–2. Valores de producción, en función de la ETo, correspondientes a invierno de 2002.

	% ETo			
	80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Kg MF/ha	7.518,8 ± 2.060,95	6.974,4 ± 2.043,33	6.596,9 ± 946,51	5.751,6 ± 449,72
% MS	34,85	31,83	34,17	34,46
Kg MS/ha	2.620,3 ± 718,24	2.219,9 ± 650,39	2.254,2 ± 323,42	1.982,0 ± 154,97
% HS/MS	66,67	69,56	68,83	69,23
Kg HS/ha	1.747,0 ± 478,85	1.544,2 ± 452,41	1.551,5 ± 222,61	1.372,1 ± 107,29

± Desviación estándar.

Tras ocho meses en los que las plantas han estado recibiendo diferentes aportes de agua, no existen diferencias estadísticamente significativas entre los distintos niveles de riego en la producción de fitomasa, siendo también similares los porcentajes de materia y hoja secas obtenidos con los cuatro tratamientos hídricos. Sólo el porcentaje de materia seca correspondiente al 60% de la ETo es ligeramente inferior al resto.

En esta primera recolección efectuada tras el inicio del riego diferenciado se observa, no obstante, que estas plantas tienden a elevar su producción de material en fresco a medida que aumenta la cantidad de agua que reciben, pudiéndose superar los 7.500 Kg/ha cuando se riega con el agua necesaria para compensar el 80% de la ETo. Sin el factor limitante de la disponibilidad de agua, las plantas se pueden desarrollar más y mejor, compensando así el menor número de las mismas encontrado respecto a riegos más reducidos.

En un trabajo experimental previo, desarrollado en secano, Sánchez Gómez *et al.* (1989) obtienen para *Th. hyemalis* una producción en fresco de 3.178 Kg/ha transcurrido un año desde la implantación del cultivo, y 3.376 Kg/ha en el segundo año, resultados que corresponden a una densidad de 25.000 plantas/ha.

Centrándonos en los kilos de hoja seca por hectárea, parámetro más importante desde el punto de vista comercial de los contemplados en este apartado, los más de 1.500 Kg obtenidos, 1.300 en el caso del menor aporte hídrico, son significativamente superiores a los alcanzadas por Sotomayor (1998), con un rendimiento máximo, obtenido en el tercer año de cultivo en secano, de 808 Kg/ha para esta especie, con 25.000 plantas/ha.

Sotomayor *et al.* (2001), detallan en una publicación los resultados alcanzados tras la primera recolección efectuada a las plantas objeto de esta Tesis, con un período de cultivo de tan solo siete meses. En dicha recolección aún no ha comenzado a aplicarse el riego diferenciado, recibiendo todas las plantas la cantidad de agua necesaria para compensar el 60% de la ETo. El material en fresco obtenido para *Th. hyemalis* en estas condiciones alcanza los 7.059 Kg/ha, con un rendimiento en hoja seca de 1.200 Kg/ha. A pesar del temprano estado de desarrollo de los tomillos en esta primera cosecha, el producto fresco alcanza un valor similar al conseguido en 2002 con los riegos más abundantes. Sin embargo, el rendimiento en hoja seca en 2002 es superior al citado en la mencionada publicación, incluso con un menor suministro de agua. Esto puede ser debido a que las plantas jóvenes presentan tallos más herbáceos y un menor desarrollo de la estructura foliar.

En la recolección de invierno de 2003 (Tabla III.1–3) continúan sin advertirse diferencias significativas en ningún caso, aunque se puede constatar un cambio de tendencia en la producción de fitomasa de esta

especie, ya que el mejor resultado, en promedio, obtenido tanto para el material en fresco como para la hoja seca por hectárea corresponde al menor aporte hídrico, contrariamente a lo ocurrido en 2002.

Tabla III.1–3. Valores de producción, en función de la ETo, correspondientes a invierno de 2003.

	% ETo			
	80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Kg MF/ha	6.671,3 ± 1.238,17	6.906,0 ± 3.657,28	6.772,3 ± 2.122,81	7.213,7 ± 1.607,58
% MS	38,45	39,13	36,89	33,51
Kg MS/ha	2.565,1 ± 476,08	2.702,3 ± 1.431,09	2.498,3 ± 783,10	2.417,3 ± 538,70
% HS/MS	47,99	51,11	57,03	61,56
Kg HS/ha	1.231,0 ± 228,47	1.381,2 ± 731,43	1.424,8 ± 446,60	1.488,1 ± 331,62

± Desviación estándar.

En 2003 también se aprecian mayores diferencias entre los porcentajes de materia seca relativos a los cuatro tratamientos de riego, con valores más bajos en los tratamientos que conllevan menor humedad, contrariamente a lo que cabría esperar. Este comportamiento se explica considerando que *Th. hyemalis* es un tomillo que se hace más leñoso a medida que transcurren las recolecciones, pero este efecto no es perceptible con los suplementos hídricos más escasos dado el menor tamaño que generalmente alcanzan las plantas que disponen de poca agua para su crecimiento. Sin embargo, el porcentaje de hoja seca aumenta a medida que descende la cantidad de agua que reciben las plantas. En este año, por lo tanto, con un bajo nivel de riego obtenemos menor rendimiento en materia seca, pero un mayor porcentaje de la misma corresponde a hoja.

La tendencia que empezaba a sugerirse en 2003 se hace patente en 2004 (Tabla III.1–4), cuarto año de cultivo, en el cual la producción obtenida con el aporte hídrico más bajo, tanto de material en fresco como

desecado, es significativamente superior a la perteneciente a los tratamientos de más agua. El marcado incremento en la mortalidad de estos tomillos que acompaña a los riegos elevados, acaba influyendo decisivamente en la productividad del cultivo.

Tabla III.1–4. Valores de producción, en función de la ETo, correspondientes a invierno de 2004.

	% ETo			
	80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Kg MF/ha	4.956,9 ± 722,77 ^a	6.245,6 ± 986,27 ^a	7.164,8 ± 1.606,54 ^{ab}	8.899,0 ± 2.282,08 ^b
% MS	38,28	38,27	39,26	39,71
Kg MS/ha	1.897,5 ± 276,68 ^a	2.390,2 ± 377,45 ^a	2.812,9 ± 630,73 ^{ab}	3.533,8 ± 906,21 ^b
% HS/MS	62,10	61,52	64,39	63,87
Kg HS/ha	1.178,3 ± 171,82 ^a	1.470,4 ± 232,20 ^{ab}	1.811,2 ± 406,13 ^{bc}	2.257,0 ± 578,80 ^c

^{a, b, c} Valores con distinto superíndice en la misma línea presentan diferencias estadísticamente significativas, de acuerdo con el test de la Menor Diferencia Significativa de Fisher ($P < 0,05$).
± Desviación estándar.

Los porcentajes de materia seca obtenidos con el 40 y, especialmente, el 20% de la ETo, se elevan respecto al año anterior, por lo que la estructura leñosa de *Th. hyemalis* se acentúa también con el paso del tiempo en condiciones de riego escaso.

Respecto a la hoja seca, se puede observar que los porcentajes determinados en 2004 superan también a los de 2003 con todos los tratamientos hídricos. En el último año de ensayo, suministrar a las plantas una cantidad de agua que compense el 20 ó el 40% de la ETo mejora significativamente el rendimiento en esta materia prima respecto al resultado alcanzado con el 80%.

Si bien no se encuentran diferencias en ningún caso entre administrar un riego equivalente al 40 ó al 20% de la ETo, es con este último tratamiento con el que se alcanzan los mejores promedios de

producción en esta recolección. Esta cantidad de agua, que en la práctica ha supuesto el 30% de la ETo, equivale a 370 mm anuales, sólo ligeramente superior a la pluviometría media de la zona en la que se han cultivado las plantas, que es de 308,3 mm/año.

Dado que la Región de Murcia es una zona con una manifiesta escasez de agua, estos resultados son bastante positivos desde el punto de vista del establecimiento de cultivos de esta especie de tomillo, ya que queda demostrado que estas plantas pueden ofrecer un rendimiento importante con unos requerimientos hídricos mínimos.

Los resultados de 2003 y 2004 corresponden al tercer y cuarto año de cultivo, con una plantación completamente establecida y madura, por lo que parece que son estas las máximas producciones que se pueden conseguir con las condiciones de cultivo descritas.

III. 1. 2. 2. Primavera.

El comportamiento de las plantas en la segunda recolección anual es distinto al encontrado en invierno, tanto en 2002 como en 2004.

En 2003 la parcela sufrió unas condiciones climáticas inusuales, con temperaturas muy elevadas en mayo y junio, originando una floración precipitada en plantas con escasa masa vegetativa, por lo que se ha decidido no incluir en esta memoria los resultados correspondientes a la primavera de este año.

Este tomillo ofrece un rendimiento sensiblemente inferior en la cosecha de primavera, lo que se justifica fácilmente teniendo en cuenta que, tras dicha recolección, las plantas disponen de varios meses hasta la siguiente cosecha, en invierno, para completar su ciclo vegetativo.

Cuando se procede a la siega de invierno, la nueva floración se produce tan solo tres meses después, por lo que los tomillos tienen poco

tiempo desde el corte anterior para desarrollarse. De ahí que, con frecuencia, su aspecto morfológico sea distinto al que presentan en invierno, momento óptimo para la recolección de esta planta. En primavera las plantas son en general más pequeñas, y con pocos tallos que diferencian inflorescencias.

En los datos de producción de la primavera de 2002 (Tabla III.1–5), no se aprecian diferencias significativas entre tratamientos, siendo por lo tanto aparentemente indistinto regar con más o menos agua. Sin embargo, en esta segunda recolección de 2002 se manifiesta una mayor retención de agua por parte de las plantas cuando reciben un riego abundante, por lo que, aunque no es posible distinguir una tendencia clara en cuanto al rendimiento en materia fresca, el porcentaje de materia seca obtenido a partir de la misma es mayor en los tratamientos que implican un menor aporte hídrico, especialmente en el equivalente al 20% de la ETo. Esto conduce a la obtención de valores medios más elevados de producto desecado al aplicar dicho riego.

Tabla III.1–5. Valores de producción, en función de la ETo, correspondientes a primavera de 2002.

	% ETo			
	80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Kg MF/ha	4.242,8 ± 865,90	4.244,4 ± 306,79	4.087,4 ± 1.115,95	4.274,6 ± 724,24
% MS	34,72	35,88	38,91	43,95
Kg MS/ha	1.473,1 ± 300,64	1.522,9 ± 110,07	1.590,4 ± 434,22	1.878,7 ± 318,31
% HS/MS	53,96	54,44	55,02	53,55
Kg HS/ha	794,9 ± 162,23	829,1 ± 59,92	875,0 ± 238,91	1.006,0 ± 170,45

± Desviación estándar.

En 2004 tampoco se encuentran diferencias con significación estadística (Tabla III.1–6), pero los resultados de este año permiten advertir una cierta disposición en las plantas, ya que los mejores promedios se obtienen con los riegos equivalentes al 60 y 40% de la ETo,

siendo bastante señalada esta tendencia en lo referente a la producción de hoja seca.

Tabla III.1–6. Valores de producción, en función de la ETo, correspondientes a primavera de 2004.

	% ETo			
	80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Kg MF/ha	3.397,2 ± 876,97	4.341,7 ± 1.200,88	4.160,7 ± 2.215,46	3.012,6 ± 1.029,99
% MS	38,90	38,25	40,08	40,33
Kg MS/ha	1.321,5 ± 341,14	1.660,7 ± 459,34	1.667,6 ± 887,96	1.215,0 ± 415,39
% HS/MS	43,79	48,80	51,16	53,72
Kg HS/ha	578,7 ± 149,39	810,4 ± 224,16	853,1 ± 454,28	652,7 ± 223,15

± Desviación estándar.

Es interesante advertir que el porcentaje de hoja seca disminuye de 2002 a 2004 con todos los tratamientos, salvo con el correspondiente al 20% de la ETo, al contrario de lo que ocurre con el porcentaje de materia seca, que aumenta de un año a otro exceptuado dicho tratamiento. Es decir, en 2004, de la producción en fresco se obtiene un mayor rendimiento en materia seca, sin embargo, la cantidad de hoja obtenida a partir de la planta desecada es inferior a la alcanzada el primer año de ensayo, excepto en el caso del menor aporte de agua.

De los datos de la segunda recolección de esta planta resulta más difícil extraer conclusiones, ya que en 2002 el efecto de los cuatro tratamientos es muy semejante, y es en 2004 cuando aparece la tendencia a mejorar la producción con los suplementos hídricos intermedios, lo cual se puede deber a diferencias en la climatología de ambos años, o puede ser efectivamente resultado de la adaptación de las plantas a las condiciones de cultivo. No disponer de los datos de 2003 imposibilita verificar dicha tendencia.

No obstante, en términos generales, podemos concluir que en primavera la cantidad de agua que reciben las plantas no afecta a la

producción de biomasa, aunque los resultados sugieren que en esta segunda siega *Th. hyemalis* acaba respondiendo mejor con un suministro de agua mayor del que requiere en invierno para alcanzar el óptimo de producción, muy probablemente para compensar la mayor temperatura a la que están expuestas las plantas en los meses primaverales. Este mayor aporte hídrico sería el equivalente al 40 ó 60% de la ETo, pero ya que los riegos elevados incrementan la mortalidad de estas plantas, el 40% se revela como el tratamiento más adecuado.

III. 1. 2. 3. Comparativa invierno/primavera.

Una vez constatado el rendimiento en biomasa sensiblemente inferior que ofrece esta planta en la segunda recolección, en este apartado determinaremos si tal descenso es o no significativo.

Tras comparar los datos de producción mediante un ANOVA, se comprueba que los resultados de invierno son, en efecto, significativamente superiores a los de primavera en la mayoría de los casos, como se aprecia en la Tabla III.1–7. Aplicar un tratamiento hídrico u otro no compensa la menor productividad de las plantas en primavera, especialmente en cuanto a la obtención de hoja seca, parámetro que siempre es significativamente inferior en esta estación.

Resulta interesante que, en 2004, con el riego equivalente al 40% de la ETo, las diferencias en producción de materia fresca y seca entre invierno y primavera no son significativas. Esto puede explicarse por la elevada desviación estándar que presenta este tratamiento en la segunda recolección (Tabla III.1–6), lo que implica puntos de solapamiento con la producción de invierno.

Tabla III.1-7. Análisis estadístico de las recolecciones de invierno y primavera.

		Kg MF/ha		Kg MS/ha		Kg HS/ha	
		2002	2004	2002	2004	2002	2004
% ETO	80 (81)	D	D	D	D	D	D
	60 (63)	D	D	ND	D	D	D
	40 (44)	D	ND	D	ND	D	D
	20 (30)	D	D	ND	D	D	D

D = Diferencias estadísticamente significativas entre estaciones ($P < 0,05$).

ND = No existen diferencias.

III. 1. 3. RENDIMIENTO EN ACEITE ESENCIAL.

Esta sección se refiere tanto al aceite esencial obtenido por destilación individual, en un sistema Clevenger, de las partes aéreas de las plantas recolectadas para su análisis, como a la producción por hectárea de esta sustancia. En ambos casos, el rendimiento en aceite se presenta respecto al peso seco, calculándose en base a los mililitros de aceite obtenidos por gramos de planta seca destilados, y en litros por hectárea al considerar la producción de toda la parcela.

Al igual que en el apartado anterior, los primeros datos analizados corresponden a las recolecciones de invierno, presentándose posteriormente los resultados de primavera.

III. 1. 3. 1. Invierno.

Con la recolección de invierno, época natural de floración de esta labiada, se obtienen en general los mejores rendimientos en aceite esencial, tanto considerando las plantas individuales como la producción por hectárea.

A) Destilación de plantas individuales.

El aceite esencial de *Th. hyemalis*, de un característico color amarillo, puede alcanzar rendimientos de más del 4% en algunas plantas, habiendo encontrado individuos que superan el 5%. Siendo esta sustancia el producto más valorado de los obtenidos del tomillo, este elevado rendimiento sitúa a esta especie entre las más interesantes desde el punto de vista comercial, especialmente teniendo en cuenta que su fenología invernal convierte a esta planta en fuente única de materias primas, en una época en la que aún no han comenzado a florecer la mayoría de los tomillos.

Otras especies de este género, como *Th. mastichina* (Salgueiro *et al.*, 1997a), *Th. pectinatus* (Vardar-Ünlü *et al.*, 2003) o *Th. lotocephalus* (Salgueiro *et al.*, 2000a) presentan rendimientos medios sensiblemente inferiores, alcanzando el 2,1, 1,8 y 1,1% (volumen/peso) respectivamente.

La elevada variabilidad intraespecífica encontrada en esta labiada afecta notablemente a su rendimiento en aceite, por lo que el porcentaje alcanzado varía mucho de unas plantas a otras, lo cual dificulta determinar si el hecho de aplicar distintos tratamientos de riego influye significativamente en la producción de aceite esencial.

La presencia o ausencia de diferencias significativas se determina mediante el análisis de la varianza, comparando los valores medios obtenidos para las 12 plantas recolectadas en función de cada aporte hídrico.

Con tales datos se elaboran las gráficas que se presentan a continuación, correspondiendo los intervalos a la menor diferencia significativa de Fisher, con un nivel de significación del 5%.

En la Figura III.1–2 quedan reflejados los resultados que proporciona *Th. hyemalis* en invierno de 2002, recolección en la que recibir distintas cantidades de agua no parece afectar a la síntesis de aceite esencial por parte de las plantas.

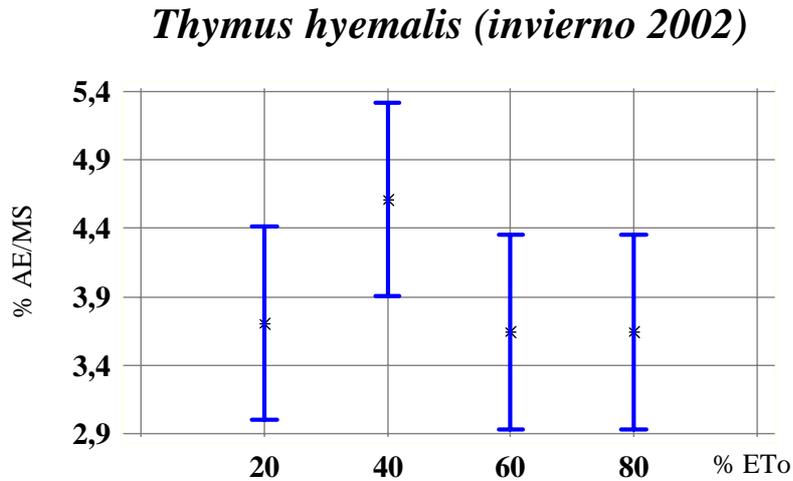


Fig. III.1-2. Rendimiento en aceite esencial, en función del riego, en invierno de 2002.

Los rendimientos obtenidos oscilan entre $3,6 \pm 0,43\%$ y $4,6 \pm 1,15\%$. Se puede advertir que con el riego equivalente al 40% de la ETo se consigue un resultado ligeramente superior, proporcionando el resto de tratamientos unos valores muy homogéneos.

En 2003 sin embargo, tras dos años de aplicación del riego diferenciado, el efecto del mismo sobre este parámetro se hace evidente (Figura III.1-3), encontrando que los tratamientos correspondientes al 60 y 40% de la ETo mejoran significativamente los resultados obtenidos con el 80%, y que con el aporte de agua equivalente al 20% ETo se alcanza un rendimiento superior a todos los demás.

En esta cosecha, los resultados se sitúan entre el $4,1 \pm 1,18\%$ del menor aporte hídrico y el $2,1 \pm 0,50\%$ correspondiente al 80% de la ETo.

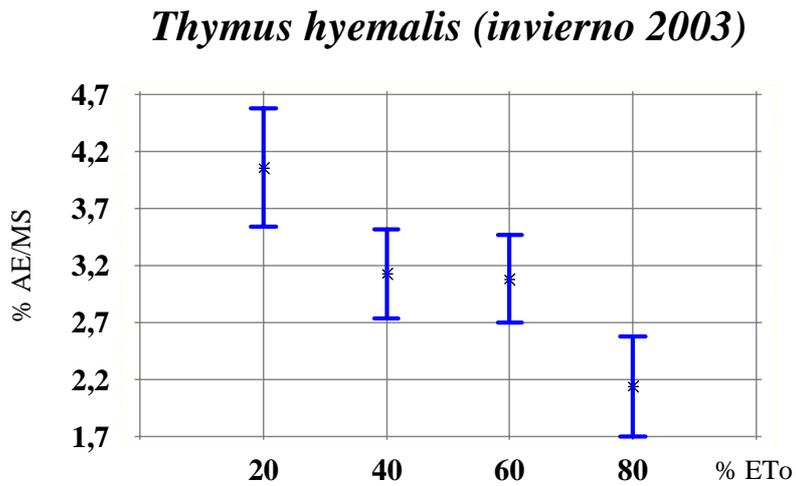


Fig. III.1-3. Rendimiento en aceite esencial, en función del riego, en invierno de 2003.

La recolección del invierno de 2004 (Figura III.1-4) es distinta a los dos años anteriores, ya que con el fin de realizar un estudio de la variabilidad encontrada en la composición química de estas sustancias, se elevó el número de muestras analizadas respecto a 2002 y 2003, recolectándose seis plantas por tratamiento en cada una de las cuatro repeticiones.

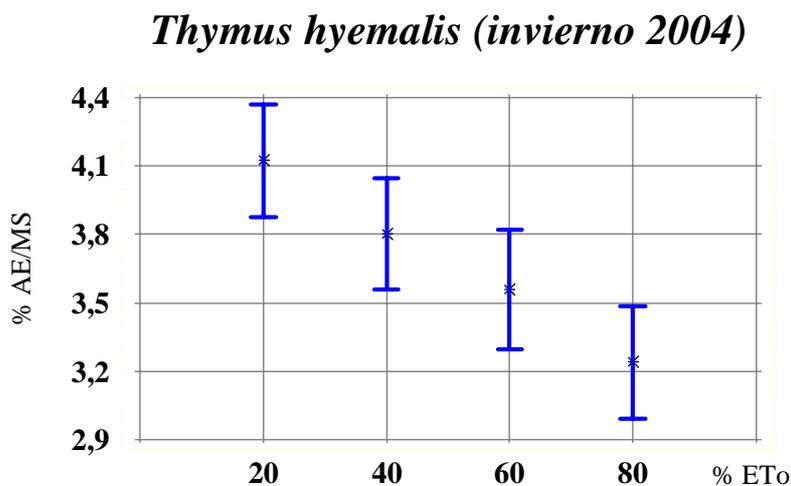


Fig. III.1-4. Rendimiento en aceite esencial, en función del riego, en invierno de 2004.

En la figura precedente es posible apreciar que también en 2004 aparecen diferencias significativas entre tratamientos, obteniéndose con el riego equivalente al 40% de la ETo un rendimiento en aceite significativamente mejor al alcanzado con el 80%, en tanto que el 20% de la ETo proporciona un resultado manifiestamente superior al 60 y al 80%. Tales valores oscilan entre $4,1 \pm 1,06\%$ y $3,2 \pm 0,85\%$, logrados con el menor y el mayor aporte hídrico respectivamente.

La diferencia con el año anterior radica en que en 2004 resulta indiferente regar con el 40 o el 20% de la ETo, mientras en 2003 el 20% es significativamente mejor que el 40%. Esto puede ser atribuido al aumento en el rendimiento determinado con este último tratamiento en 2004 respecto al alcanzado en 2003, aunque en promedio, un riego mínimo resulta más beneficioso para la producción de aceite también en 2004.

Observando las sucesivas recolecciones, los datos indican que someter a estas plantas a un riego diferenciado influye en su producción de aceite esencial, aumentando significativamente la síntesis de esta sustancia a medida que disminuye el agua que reciben las plantas. Esto verifica que una de las razones que induce a la elaboración de aceites por parte de los tomillos es la defensa frente a la desecación (Morales, 1989).

B) Producción por hectárea.

Conocidos los rendimientos en aceite esencial alcanzados con las plantas destiladas, se puede determinar la producción por hectárea de esta materia prima, aplicando los correspondientes porcentajes a los kilos de materia seca obtenidos con los diferentes riegos.

Los resultados se presentan en la Tabla III.1–8, en la que figuran los litros de aceite esencial obtenidos en las recolecciones de invierno de los tres años de ensayo.

Tabla III.1–8. Valores de producción de aceite esencial, en función de la ETo, correspondientes a las recolecciones de invierno.

		% ETo			
		80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
L AE/ha	2002	95,4 ± 26,14	80,8 ± 23,67	103,9 ± 14,91	73,4 ± 5,74
	2003	54,9 ± 10,19	83,2 ± 44,08	78,2 ± 24,51	98,1 ± 21,87
	2004	61,5 ± 8,96 ^a	85,1 ± 13,44 ^{ab}	106,9 ± 23,97 ^b	145,6 ± 37,34 ^c

^{a, b, c} Valores con distinto superíndice en la misma línea presentan diferencias estadísticamente significativas, de acuerdo con el test de la Menor Diferencia Significativa de Fisher ($P < 0,05$). ± Desviación estándar.

En invierno de 2002 no se presentan diferencias significativas entre los distintos niveles de agua, obteniéndose el mejor promedio de producción con el riego equivalente al 40% de la ETo.

En el trabajo que Sotomayor *et al.* (2001) publican acerca de los resultados que proporcionan, tras sólo siete meses de cultivo, las plantas empleadas en esta Memoria, la cantidad alcanzada con esta especie es de 68,5 L/ha, con un riego equivalente al 60% de la ETo. Este valor es inferior a los obtenidos en la primera recolección del presente ensayo con cualquiera de los tratamientos hídricos aplicados, por lo que parece que a medida que las plantas maduran, se optimiza su rendimiento en aceite esencial.

En 2003 tampoco se aprecian diferencias significativas, aunque en esta cosecha se advierte una tendencia a aumentar los valores medios de producción con el menor riego, debido al elevado contenido en aceite esencial de las plantas a las que se suministra dicho tratamiento en este año ($4,1 \pm 1,18\%$). El peor resultado corresponde al 80% de la ETo.

Esta tendencia señalada en 2003 se evidencia en 2004, cosecha en la que ya aparecen diferencias con significación estadística que determinan que un riego elevado (80 y 60% de la ETo) conlleva una

menor producción de aceite esencial por hectárea, e incluso el rendimiento obtenido con el 40% es significativamente inferior al que se alcanza aplicando el aporte hídrico más bajo, a pesar de que no existieran diferencias significativas entre estos dos tratamientos en cuanto a la cantidad de aceite que se extrae de las plantas destiladas, como se aprecia en la Figura III.1–4.

Estos resultados confirman que la obtención de aceite esencial se ve claramente favorecida aportando una cantidad de agua mínima al cultivo.

III. 1. 3. 2. Primavera.

En este apartado, las gráficas y tablas que presentan los resultados se han realizado siguiendo los criterios descritos anteriormente.

A) Destilación de plantas individuales.

Los rendimientos que se obtienen tras la destilación en esta segunda recolección anual se sitúan alrededor del 3%, superándose raramente el 4%.

En primavera de 2002 (Figura III.1–5), la prueba ANOVA no aprecia diferencias significativas entre tratamientos, obteniéndose los mejores resultados con los riegos necesarios para compensar el 20 ($3,4 \pm 0,10\%$) y el 40% de la ETo ($3,6 \pm 0,60\%$). Este último tratamiento proporciona igualmente el mejor rendimiento en la recolección de invierno de este año (Figura III.1–2).

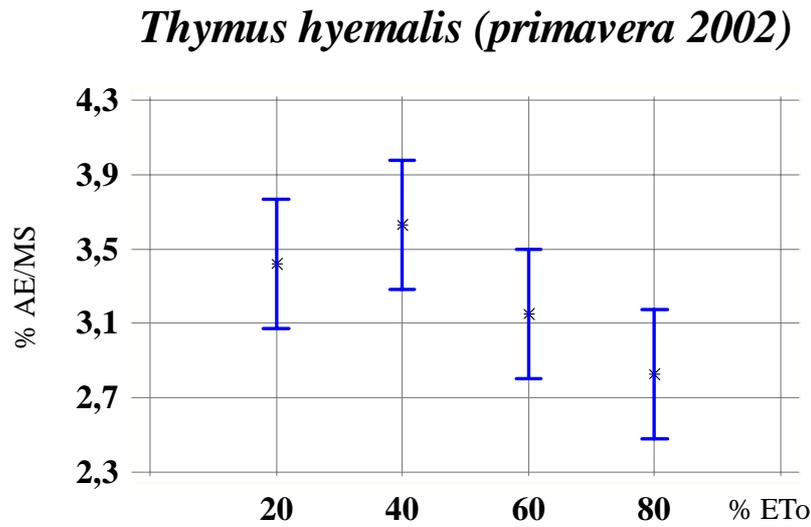


Fig. III.1–5. Rendimiento en aceite esencial, en función del riego, en primavera de 2002.

Los resultados correspondientes a 2004, a pesar del aumento en el número de plantas muestreadas, tampoco presentan diferencias significativas (Figura III.1–6), contrariamente a lo que ocurría en la cosecha de invierno. Se debe aclarar que en primavera se pretendía recolectar para su análisis las mismas plantas tomadas en invierno, sin embargo, el número de muestras resultó ser finalmente ligeramente inferior, dado que algunos de los tomillos estudiados en marzo no rebrotaron en junio.

Asimismo, en la segunda cosecha de 2004, no es posible distinguir una tendencia concreta en cuanto al efecto que el riego diferenciado pueda tener en la producción de aceite esencial, lo que, junto a los menores porcentajes alcanzados, constituye la principal diferencia con los resultados de invierno de este último año, en los cuales sí se observa una manifiesta trayectoria descendente en rendimiento a medida que aumenta la cantidad de agua que reciben las plantas. La explicación se encuentra en el efecto de la variabilidad intraespecífica, que se evidencia más en primavera debido al menor número de plantas recolectadas respecto a invierno.

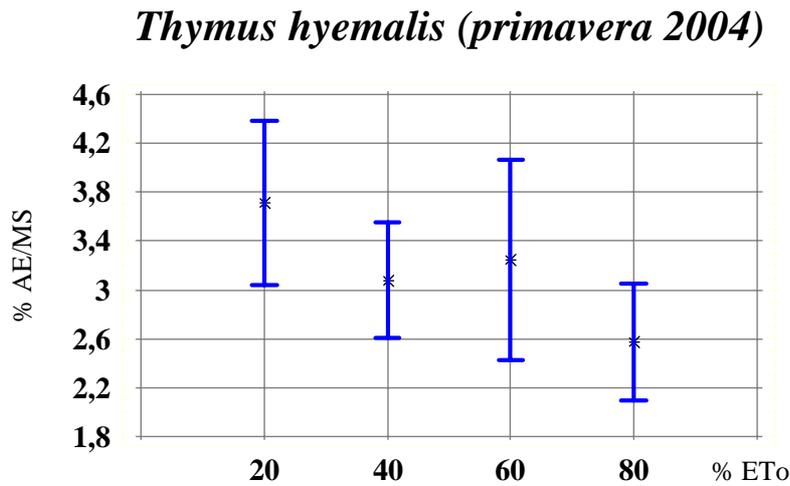


Fig. III.1-6. Rendimiento en aceite esencial, en función del riego, en primavera de 2004.

Sin embargo, al igual que ocurre en la primera cosecha anual, el tratamiento que proporciona el mejor promedio en junio es el equivalente al 20% de la ETo, con un rendimiento de $3,7 \pm 1,23\%$. Y del mismo modo, el peor resultado se obtiene con el riego ajustado para compensar el 80% de la ETo.

De los datos expuestos se puede deducir que la síntesis de aceite esencial por parte de *Th. hyemalis* acaba viéndose favorecida por un escaso aporte hídrico también en su segunda cosecha anual, aunque la elevada variabilidad intraespecífica presente en estas labiadas dificulta apreciar con claridad este efecto, determinando la ausencia de diferencias significativas entre tratamientos en primavera.

B) Producción por hectárea.

Los litros de aceite esencial conseguidos con las recolecciones de primavera, al igual que ocurre con la producción de biomasa, son inferiores a los que se pueden alcanzar en invierno.

La Tabla III.1–9 muestra los resultados de las recolecciones de primavera, apreciándose en 2002 diferencias significativas entre los tratamientos correspondientes al 80 y 20% de la ETo, mejorando la producción con este último.

Regar con el agua necesaria para compensar el 80% de la ETo produce también una cantidad de materia seca ligeramente inferior, en promedio, al resto de tratamientos en la primavera del primer año de estudio (Tabla III.1–5), y, asimismo, el rendimiento en aceite esencial obtenido por destilación es también inferior con dicho aporte hídrico (Figura III.1–5), lo que explicaría las diferencias apreciadas con el 20% de la ETo, riego que resulta ser el más adecuado, dados los promedios alcanzados, en esta cosecha.

Tabla III.1–9. Valores de producción de aceite esencial, en función de la ETo, correspondientes a las recolecciones de primavera.

		% ETo			
		80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
L AE/ha	2002	41,7 ± 8,50 ^a	48,0 ± 3,47 ^{ab}	57,8 ± 15,78 ^{ab}	64,2 ± 10,88 ^b
	2004	34,0 ± 8,77	53,8 ± 14,88	51,4 ± 27,35	45,2 ± 15,45

^{a,b} Valores con distinto superíndice en la misma línea presentan diferencias estadísticamente significativas, de acuerdo con el test de la Menor Diferencia Significativa de Fisher ($P < 0,05$).
± Desviación estándar.

En 2004, sin embargo, no hay diferencias significativas entre los distintos niveles de agua, pero se aprecia la misma tendencia encontrada en la producción de fitomasa de este año (Tabla III.1–6), ya que los mejores promedios de producción se alcanzan con los riegos equivalentes al 40 y 60% de la ETo. Esto es lo que cabría esperar, teniendo en cuenta que los litros de aceite esencial por hectárea se calculan en base a la producción de materia seca y al porcentaje de dicho aceite obtenido tras la destilación. Este porcentaje, algo más elevado en las plantas que han

recibido el aporte hídrico equivalente al 20% de la ETo (Figura III.1–6), determina un mejor promedio de producción por hectárea para este tratamiento respecto al correspondiente al 80%.

Así pues, la producción de aceite esencial en primavera tiende a ser más elevada con los tratamientos hídricos intermedios al hablar de rendimiento por hectárea, dado que tal parámetro va a depender de la generación de biomasa, que es mayor con dichos tratamientos. El mejor resultado que proporciona el 20% de la ETo, tras la destilación individual de estos tomillos, no compensa la mayor producción de materia seca que se logra con el 40 y 60%.

III. 1. 3. 3. Comparativa invierno/primavera.

Comparando los resultados de producción de aceite esencial de invierno y primavera (Tabla III.1–10), observamos que las diferencias entre ambas estaciones no siempre presentan significación estadística.

Tabla III.1–10. Análisis estadístico de las recolecciones de invierno y primavera.

		% AE/MS		L AE/ha	
		2002	2004	2002	2004
% ETo	80 (81)	D	D	D	D
	60 (63)	ND	ND	D	D
	40 (44)	ND	D	D	D
	20 (30)	ND	ND	ND	D

D = Diferencias estadísticamente significativas entre estaciones ($P < 0,05$).

ND = No existen diferencias.

En 2002, las diferencias en cuanto al contenido en aceite esencial de estas plantas, determinado por destilación, sólo son significativas con

el tratamiento hídrico correspondiente al 80% de la ETo. Los litros por hectárea, sin embargo, resultan significativamente superiores en invierno con los aportes de agua necesarios para compensar el 80, 60 y 40% de la ETo.

El mejor rendimiento en materia seca del 20% en primavera (Tabla III.1–5), unido al descenso en producción de la misma en invierno con este tratamiento (Tabla III.1–2), justifican la no existencia de diferencias significativas al comparar los litros de aceite esencial por hectárea obtenidos en ambas estaciones con el menor aporte hídrico.

Respecto a 2004, los resultados de invierno son en general significativamente superiores a los de primavera, salvo en los porcentajes de aceite obtenidos de las plantas individuales con el 60 y 20% de la ETo, tratamientos con los que se alcanza el mejor rendimiento, en promedio, en la recolección de primavera de dicho año, presentando además unos intervalos de confianza bastante amplios, por lo que los valores alcanzados se pueden solapar en ambas estaciones.

III. 1. 4. EFECTO DEL RIEGO SOBRE LA EVOLUCIÓN DEL CULTIVO.

Examinar el efecto de las sucesivas siegas sobre cada uno de los aspectos que determinan el interés económico de este género, es un factor obligado porque aporta información necesaria sobre la adaptación de estas plantas al cultivo. Por lo que respecta a la biomasa, el aspecto más interesante a examinar es la producción de material vegetal desecado, en tanto que el aceite esencial representa la materia prima más importante de las obtenidas de estas labiadas desde el punto de vista comercial. Estudiar las tendencias de producción a lo largo de los tres años de ensayo es fundamental como referencia para considerar el interés de cada especie para ser cultivada.

Para facilitar la interpretación de la repercusión que las recolecciones tienen sobre la síntesis de estos productos, se ha considerado interesante realizar una representación gráfica de los datos que aparecen en las Tablas III.1–2 a III.1–6, así como III.1–8 y III.1–9, además de las Figuras III.1–2 a III.1–6, con el fin de obtener una mejor visualización de la evolución de la plantación, y efectuar un análisis de la influencia de cada uno de los cuatro tratamientos de riego, de forma independiente, sobre la producción de fitomasa y aceite esencial a lo largo del tiempo. Con ello se pretende confirmar la idoneidad de determinados tratamientos sobre otros.

Se debe señalar que en los resultados de cada año, además del número de cortes que puedan haber sufrido las plantas, influye de manera importante la climatología. Sin embargo, es posible determinar tendencias, bastante claras en algunos casos, que pueden aportar una información básica sobre la evolución de la plantación en función del aporte hídrico recibido.

III. 1. 4. 1. Invierno.

Observando la gráfica correspondiente al material desecado (Figura III.1–7a) se puede determinar el claro comportamiento que presenta *Th. hyemalis* ante el efecto combinado del aporte hídrico y las repetidas siegas: a medida que se suceden las recolecciones, y a pesar del descenso en el número de plantas viables, se origina un aumento en los promedios de producción de materia seca de 2002 a 2004 en los tratamientos correspondientes al 20 y 40% de la ETo, ocurriendo lo contrario con los de mayor aporte hídrico.

La prueba ANOVA aplicada a cada tratamiento por separado concluye que las diferencias entre los tres años no son significativas con los riegos equivalentes al 80, 60 y 40% de la ETo, pero sí son sustancialmente diferentes los resultados obtenidos con el 20%, ya que el

análisis estadístico interpreta la producción del año 2004 con este aporte de agua como significativamente superior a las de 2002 y 2003, que formarían un grupo homogéneo.

Centrándonos en el 40 y especialmente en el 20% de la ETo, el aumento en la producción que se observa con el tiempo se debe a que, si bien el número de plantas vivas por subparcela desciende a lo largo de los tres años de estudio, cabe pensar que las plantas supervivientes se adaptan bien a este bajo aporte hídrico y, al tener menos competencia por los recursos, pueden alcanzar mayor tamaño respecto a años anteriores, por lo que se produciría ese aumento de fitomasa.

Respecto a la producción de hoja seca por hectárea (Figura III.1–7b), los análisis estadísticos determinan los mismos resultados anteriores: no hay diferencias con el 80, 60 ni 40% de la ETo entre los tres años, pero sí las hay con el 20%, tratamiento que, según el test de Fisher, presenta un rendimiento en hoja significativamente superior en 2004.

Acerca del cambio de tendencia advertido entre 2002 y 2003 respecto a la figura que refleja la evolución del material desecado, se debe considerar que el porcentaje de hoja seca alcanzado en el segundo año de ensayo, como se aprecia en la Tabla III.1–3, es más bajo que el conseguido en 2002 y 2004 (Tablas III.1–2 y III.1–4) con todos los tratamientos hídricos. Esto justifica la producción más baja de esta materia prima en 2003, si la comparamos con el rendimiento en materia seca.

Para estudiar el aceite esencial, analizaremos en primer lugar el rendimiento en aceite obtenido por destilación, directamente de las plantas recolectadas (Figura III.1–7c).

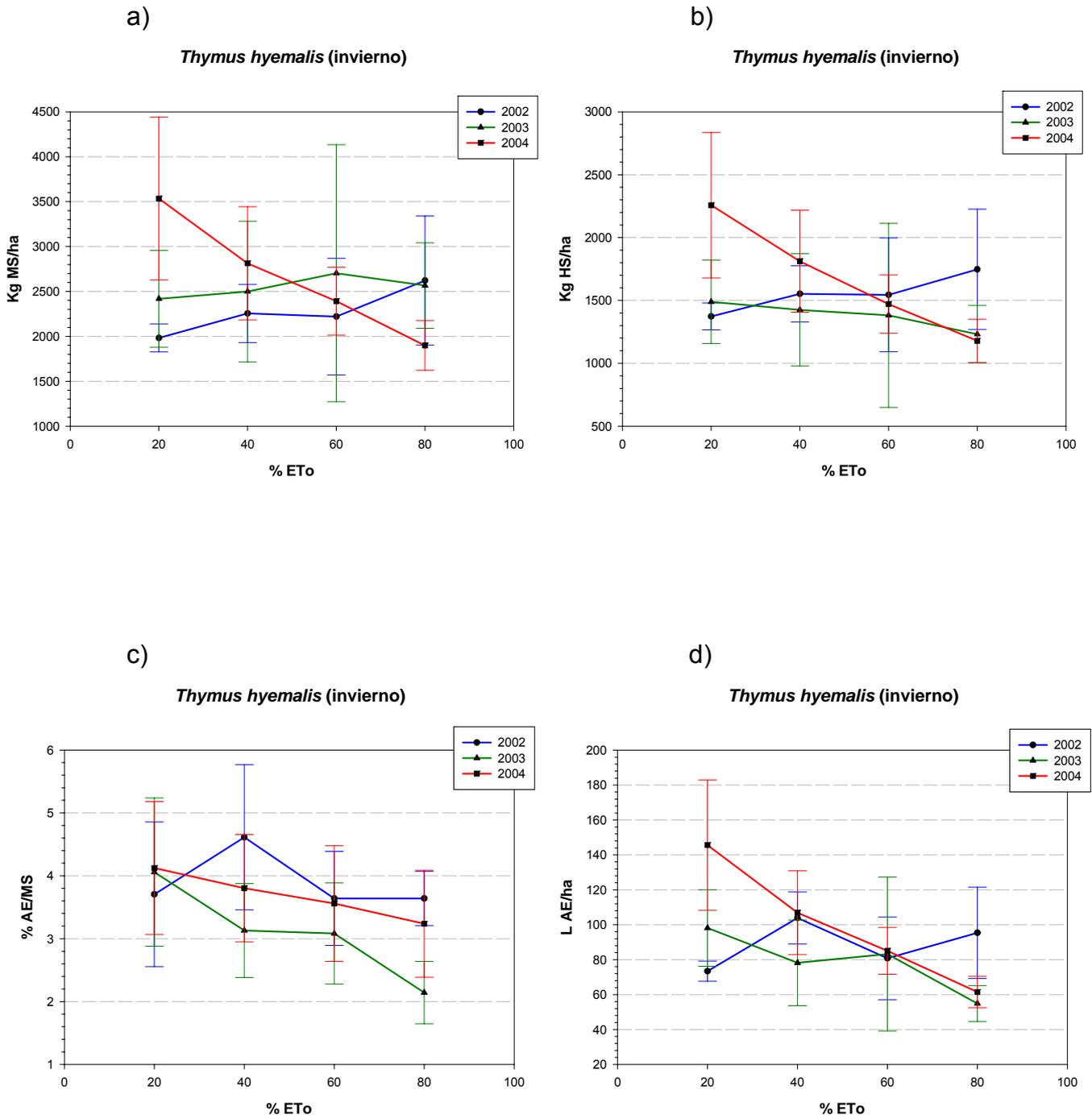


Fig. III.1-7. Evolución de la producción de materias primas, en la recolección de invierno, durante los tres años de ensayo.

Realizada la prueba ANOVA a los datos de cada tratamiento por separado, se determina que no existen diferencias significativas entre los tres años con los riegos equivalentes al 60 y al 20% de la ETo, con un nivel de significación del 5%. Sí las hay, sin embargo, cuando se analizan los valores alcanzados con el 80 y 40%. Con ambos aportes hídricos, los resultados de 2003 son significativamente inferiores a los de 2002 y 2004, que no presentan diferencias entre sí.

Por otra parte, si nos centramos en el aporte hídrico más bajo (20%), se observa que el rendimiento obtenido es bastante similar en los tres años, con un ligero aumento del promedio de 2002 a 2004 aunque, como se ha dicho, sin significación estadística. En el resto de tratamientos, los promedios de 2002 son mejores que los de los años siguientes, siendo más parecidos a los de 2004, probablemente por las condiciones climáticas un tanto atípicas de 2003.

Al contemplar la evolución de los litros de aceite producidos por hectárea (Figura III.1–7d), es posible advertir que, al igual que ocurría con el rendimiento de las plantas individuales, en el caso del riego equivalente al 20% de la ETo la producción aumenta de un año a otro, revelando además el análisis estadístico de los datos que con este mínimo aporte hídrico existen diferencias significativas entre los tres años, ya que la productividad alcanzada en 2004 es significativamente superior a las de 2002 y 2003, análogamente a lo que sucede con la generación de materia seca. Por el contrario, con el 80% de la ETo la cantidad de aceite conseguida en 2002 es significativamente más elevada que las de 2003 y 2004, debido a que en dicho tratamiento se suman la menor producción de materia seca de 2004 respecto a los otros dos años, y el bajo rendimiento obtenido por destilación en 2003 (2,1% en promedio frente a 3,6% de 2002 y 3,2% de 2004), determinando ambos factores el descenso en cuanto a litros de aceite por hectárea alcanzados los dos últimos años.

Los tratamientos intermedios tendrían un efecto similar a lo largo de las tres recolecciones.

Analizando todo lo expuesto, es un hecho que, con el transcurso del tiempo, *Th. hyemalis* se adapta mejor a condiciones de cultivo que impliquen un escaso aporte de agua, siendo perjudicial para la planta someterla a un riego abundante. Esta tendencia es especialmente perceptible en 2004.

Por otra parte, a la vista de estos resultados, cabe plantearse la modificación del marco inicial de plantación, ya que tanto en lo referente a producción en fresco como en seco, los mejores rendimientos se consiguen con el riego equivalente al 20% de la ETo en 2004, superando a los de años anteriores, con mayor número de plantas. Considerando que el número inicial de plantas es de 140 por subparcela, y que las marras correspondientes a dicho tratamiento en ese año alcanzan el 42%, los individuos que han persistido en las correspondientes subparcelas rondarían un promedio de 82, cantidad que sería suficiente para un buen rendimiento de la plantación, y que, extrapolarlo a hectáreas, proporciona una densidad de plantas de aproximadamente 53.000/ha, sensiblemente inferior a las 89.400 propuestas originalmente en el ensayo. Esto es muy importante, ya que con un número inferior de plantas, disminuyen los costes iniciales del cultivo, y se facilitan las labores agrícolas, sin que exista, como se ha comprobado, ninguna merma en la producción. Pero es también importante señalar que esto sólo sería posible partiendo de plantas seleccionadas, resistentes a las siegas, como las que subsisten en 2004.

III. 1. 4. 2. Primavera.

La evolución que presentan estas plantas en los tres años de estudio en lo referente a las recolecciones de primavera ofrece unos resultados distintos a los encontrados en invierno (Figura III.1–8).

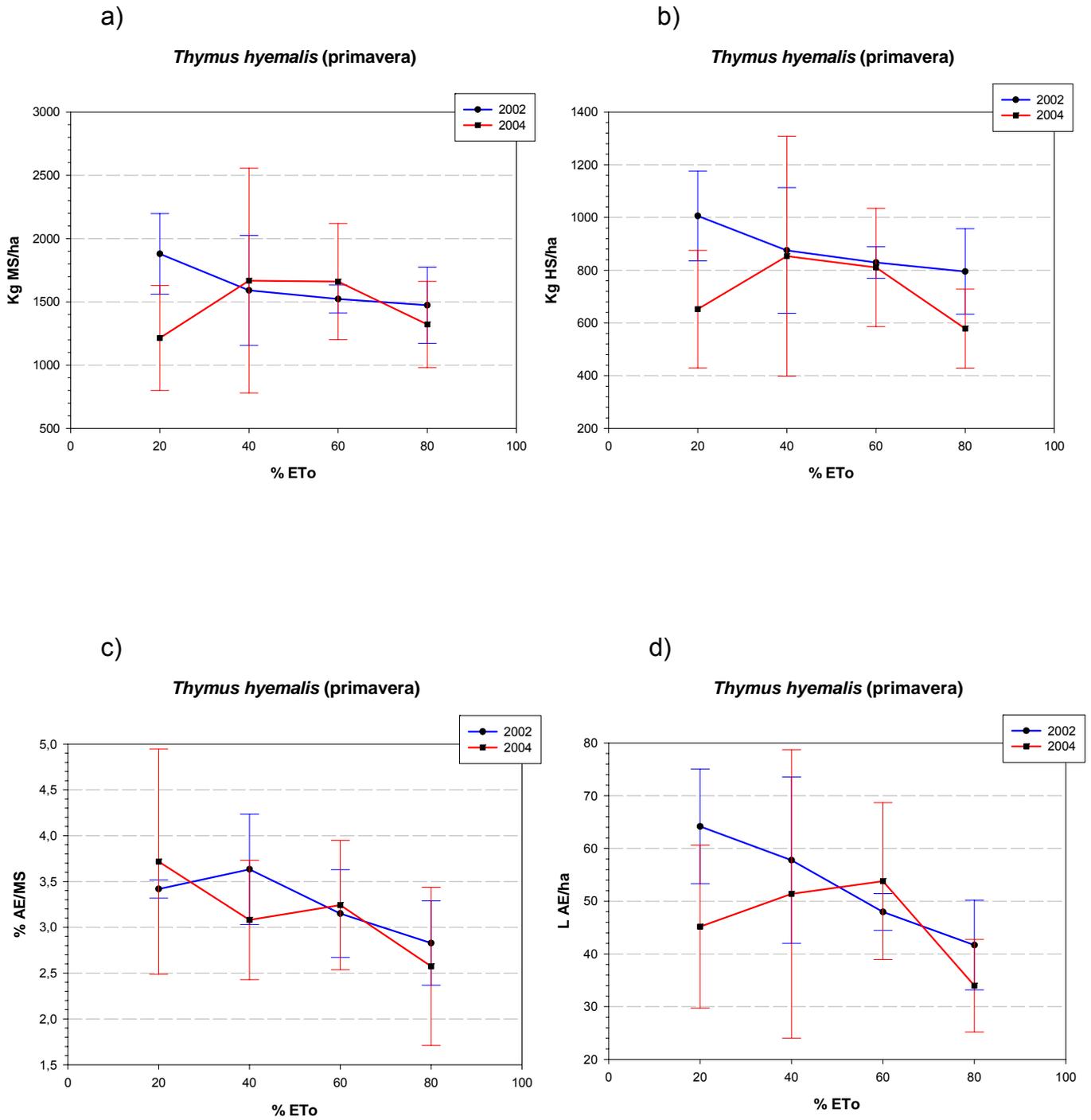


Fig. III.1–8. Evolución de la producción de materias primas, en la recolección de primavera, durante los dos años considerados.

Acerca de la producción de materia seca (Figura III.1–8a), la prueba ANOVA detecta diferencias con el aporte hídrico más bajo (20% ETo), significativamente superior en 2002 respecto a 2004, al contrario de lo que ocurre en la primera recolección anual. El resto de tratamientos afecta de la misma forma los dos años también en primavera.

Las diferencias encontradas en el caso del riego más escaso se pueden explicar, por una parte, por el menor porcentaje de materia seca obtenido a partir del tomillo fresco en 2004 respecto a 2002, en tanto que con el resto de tratamientos aumenta dicho porcentaje. Pero, por otra parte, es igualmente posible que en primavera la productividad se vea afectada por el descenso en el número de plantas viables que se aprecia año tras año, las cuales, con el 20% de la ETo, pasan de un promedio de 113 en 2002 a 82 en 2004 y, al no alcanzar las plantas un gran tamaño en la segunda recolección anual, no es posible compensar la producción como ocurre en invierno.

Por lo que respecta a la hoja seca (Figura III.1–8b), los rendimientos conseguidos en 2002 y 2004 también difieren de forma significativa únicamente con el 20% de la ETo.

En cuanto al aceite esencial, el análisis estadístico del contenido en esta sustancia entre las plantas recolectadas en primavera (Figura III.1–8c), no aprecia diferencias significativas al comparar los valores obtenidos con cada tratamiento en 2002 y 2004.

Finalmente, extrapolando a litros de aceite esencial por hectárea (Figura III.1–8d), tampoco se aprecian diferencias al comparar los datos de los dos años en ningún caso. La tendencia de ambos años es similar a la encontrada en la producción de materia seca, aunque se observa que con el 40% de la ETo los litros de aceite esencial alcanzados, en promedio, son ligeramente inferiores en 2004 respecto a 2002, al contrario de lo que sucedía con el producto desecado. Esto se debe a que, en la primavera de 2004, el contenido medio en aceite esencial de

las plantas regadas con este tratamiento es de los más bajos (Figura III.1–6), y al aplicar ese porcentaje a los kilos de materia seca, se reduce ligeramente la producción por hectárea de estos aceites respecto al primer año de ensayo.

También se puede comentar la evolución advertida con el 20% ETo, riego con el que el rendimiento conseguido al destilar, el más elevado en promedio en la segunda cosecha de 2004, atenúa las diferencias que encontrábamos entre los dos años con el mencionado tratamiento al analizar la producción de material desecado, de forma que en lo referente a litros de aceite por hectárea, tales diferencias no son significativas.

A la vista de estos datos, aunque con las oportunas reservas, dado que faltan los datos de 2003, podemos confirmar que a medida que se suceden las cosechas, la segunda recolección de *Th. hyemalis* se ve favorecida si el riego aportado al cultivo se eleva respecto al invierno, siendo el 40% de la ETo el suplemento hídrico más aconsejable. Los extremos, tanto por defecto como por exceso de agua, perjudican a la producción de esta planta en primavera.

III. 1. 5. PERFIL CROMATOGRÁFICO DEL ACEITE ESENCIAL.

Las propiedades beneficiosas que muestran estos aceites se fundamentan en su composición química, siendo por lo tanto este dato el más importante a la hora de valorar económicamente estas sustancias.

Actualmente, de los distintos constituyentes presentes en los aceites esenciales, son los compuestos fenólicos los más cotizados por las diferentes industrias que utilizan estas sustancias como materia prima, especialmente timol y carvacrol, ya que tales constituyentes han demostrado ser los más activos en la mayor parte de los ensayos realizados.

Es precisamente en la composición de estos aceites donde se hace más patente la gran variabilidad intraespecífica que presentan estas labiadas. La constatación de este hecho en las recolecciones de 2002 y 2003 nos llevó a duplicar el número de muestras analizadas en 2004, con el fin de plantear un estudio en profundidad de los distintos perfiles volátiles que se pueden encontrar en estas plantas. Se debe señalar que estas variaciones son siempre cuantitativas, ya que en general, los aceites esenciales de las plantas de este género son cualitativamente muy semejantes, siendo las cantidades relativas de los constituyentes lo que determina su calidad.

De esta forma, este apartado se va a abordar considerando por una parte las recolecciones de 2002 y 2003, con cuyos datos se analiza el efecto de las distintas condiciones hídricas sobre la calidad de los aceites; y por otra parte se exponen resultados de 2004, recolección en la que se estudia la variación en las proporciones relativas de los componentes del aceite entre las distintas plantas.

Las muestras de aceite esencial extraído de las plantas recolectadas son analizadas mediante Cromatografía de Gases y Espectrometría de Masas, proporcionando los datos que se exponen en las diferentes tablas presentadas en este apartado. Tales tablas se realizan comparando, con la prueba ANOVA, los resultados obtenidos con los cuatro tratamientos hídricos. Si con dicha prueba se concluye que recibir más o menos cantidad de agua afecta al perfil volátil de estos aceites, se realiza el Test de Fisher para determinar, en cada caso, aquellos tratamientos que resultan significativamente diferentes de los demás.

III. 1. 5. 1. Efecto del riego sobre la composición química del aceite esencial.

En *Th. hyemalis*, arbusto endémico del Sudeste Ibérico, la variabilidad intraespecífica es particularmente notoria, ya que esta planta

ha resultado ser la más compleja desde el punto de vista químico de las incluidas en esta Memoria. Esta variación comporta la existencia de diferentes quimiotipos dentro de la especie. Es oportuno recordar aquí el concepto de quimotaxonomía, clasificación de las plantas en función de la composición química de sus aceites esenciales, de forma que los componentes más abundantes de cada aceite determinan los distintos taxones químicos o quimiotipos.

Por lo que se refiere al presente ensayo, los análisis cromatográficos realizados al aceite esencial de *Th. hyemalis* han establecido un quimiotipo fenólico, con el timol como principal componente, para una proporción mayoritaria de las plantas analizadas.

Esto coincide con lo encontrado por Sáez (1995b) en su publicación sobre esta especie, en la cual afirma que el quimiotipo timol es el más representado en las formaciones vegetales en las que *Th. hyemalis* es predominante, y no existen interacciones con otras especies. Igualmente, Jiménez *et al.* (1989) determinan el carácter claramente fenólico de esta planta en un estudio llevado a cabo en cinco localizaciones de la provincia de Almería. Por su parte, Stahl-Biskup (1991), en su revisión sobre la composición química de los aceites esenciales en el género *Thymus*, incluye también a esta especie entre aquellas que contienen fenoles. Sin embargo, Cabo *et al.* (1987), encuentran 1,8-cineol como componente más importante en plantas recolectadas en la Sierra de Alfacar (Granada), apareciendo los fenoles en concentraciones inferiores al 3% en la mayoría de los análisis practicados, por lo que en este trabajo se clasifica a *Th. hyemalis* como tomillo “no fenólico”.

Dada la presencia dominante de timol en esta labiada, el estudio de la repercusión de los distintos niveles de riego sobre la composición química de su aceite esencial se lleva a cabo únicamente sobre este quimiotipo, descartándose para la realización de las correspondientes

tablas, tanto en 2002 como en 2003, aquellas plantas cuyo análisis cromatográfico determina un quimiotipo distinto.

El examen del perfil volátil de esta especie ha permitido la identificación de un total de 105 componentes, incluyendo 31 hidrocarburos terpénicos, 25 alcoholes, 14 aldehídos, 13 cetonas, 12 ésteres, seis fenoles, tres epóxidos y un éter, los cuales suponen aproximadamente el 97,3% de los constituyentes detectados por el cromatógrafo.

De ellos, 64 son descritos por primera vez en esta variedad de tomillo, incluyendo:

- *Hidrocarburos terpénicos*: m-xileno, triciclono, verbeneno, α -copaeno, α -gurjeneno, calereno, α -humuleno, elemeno, β -selineno, valenceno, α -muuroleno, γ -cadineno, δ -cadineno.
- *Alcoholes*: butanol, 3-metil-3-buten-1-ol, 3-penten-2-ol, 3-metil-2-buten-1-ol, (*Z*)-3-hexen-1-ol, (*E*)-2-hexen-1-ol, hexanol, 1-octen-3-ol, 3-octanol, (*Z*)-hidrato de sabineno, (*E*)-pinocarveol, (*E*)-verbenol, isoborneol, p-cimen-8-ol, carveol, nerol.
- *Aldehídos*: (*E*)-2-butenal, pentanal, hexanal, furfural, (*E*)-2-hexenal, heptanal, benzaldehído, nonanal, decanal, perialdehído.
- *Cetonas*: 3-hexanona, 3-heptanona, 3-octanona, β -tujona, pinocarvona, dihidrocarvona, carvona, timoquinona, (*Z*)-jasmona, α -ionona, β -ionona.
- *Ésteres*: acetato de etilo, butirato de metilo, butirato de etilo, acetato de bencilo, caprilato de etilo, acetato de timilo, acetato de nerilo, caprilato de butilo.
- *Fenoles*: éter metílico de timol, éter metílico de carvacrol, eugenol, (*E*)-isoeugenol.
- *Epóxidos*: (*Z*)-óxido de linalol, (*E*)-óxido de linalol.

Muchos de estos compuestos han sido identificados en otras especies del género *Thymus*, como *Th. vulgaris*, *Th. zygis*, *Th. pulegioides*, *Th. serpyllum*, *Th. satureioides*, *Th. praecox*, *Th. broussonetii*, *Th. maroccanus*, *Th. pallidus*, *Th. granatensis*, *Th. orospedanus*, *Th. chamaedris*, *Th. carnosus*, *Th. serpyllum*, *Th. quinquecostatus*, *Th. funkii*, *Th. aestivus*, *Th. baeticus*, *Th. camphoratus*, y *Th. sibthorpii* (Nijssen *et al.*, 1996).

Para presentar los resultados obtenidos con los diferentes suplementos hídricos, expondremos en primer lugar los resultados de los análisis efectuados a las plantas recolectadas en invierno de 2002 (primer año de ensayo); posteriormente, los datos de primavera de ese mismo año; y por último, la composición obtenida en 2003.

III. 1. 5. 1. 1. Invierno 2002.

Al examinar los datos debe tenerse en cuenta la gran variabilidad química presente en estas plantas, capaz de enmascarar en muchos casos el efecto que el riego diferenciado pueda tener sobre las concentraciones relativas de los constituyentes del aceite.

La Tabla III.1–11 muestra el perfil volátil de las plantas analizadas en invierno de 2002. Los componentes en los que los análisis estadísticos han detectado diferencias significativas en sus concentraciones relativas en función del riego recibido son: α -tujeno, mirceno, α -felandreno, Δ_3 -careno, γ -terpineno, α -gurjeneno, aloaromadendreno, elemeno, valenceno, α -muuroleno, γ -cadineno, δ -cadineno, butanol, hexanol, m-xileno, linalol, isoborneol, p-cimen-8-ol, α -terpineol, carveol, nerol, citronelol, geraniol, acetato de linalilo, espatulenol, (*E*)-2-hexenal, heptanal, nonanal, mirtenal, dihidrocarvona, decanal, cuminaldehído, neral, carvona, 3-octanona, alcanfor, pinocarvona, verbenona, (*Z*)-jasmona, β -ionona, acetato de bencilo, caprilato de etilo, acetato de terpenilo, acetato de timilo, timol, carvacrol y (*Z*)-óxido de linalol.

El componente mayoritario es timol, con altos niveles de los precursores p-cimeno y γ -terpineno. Recordemos que la secuencia que acaba en la síntesis de timol o su isómero carvacrol es:



Las concentraciones de ambos terpenos no cambian de acuerdo con las variaciones de sus correspondientes productos fenólicos, lo cual puede ser atribuido a la mencionada variabilidad intraespecífica (Sáez, 1995b). Según este autor, la presencia en cantidades importantes de componentes como cineol, borneol o α -pineno se debe a interacciones con otras especies de tomillo, como *Th. vulgaris* o *Th. baeticus*.

Con relación a los hidrocarburos terpénicos, los que se han identificado en mayor concentración, además de p-cimeno y γ -terpineno, son α -tujeno, α -pineno, canfeno, α -terpineno, limoneno, (*E*)-cariofileno, mirceno y valenceno.

El comportamiento de los terpenos en base al aporte hídrico no es igual en todos los casos. La síntesis de algunos de ellos parece verse perjudicada con un riego mínimo, como ocurre con Δ_3 -careno, que presenta un porcentaje significativamente inferior cuando la planta recibe el agua equivalente al 20% de la ETo, afectándole por igual el resto de tratamientos. Otro componente, el α -tujeno, muestra diferencias significativas entre el aporte hídrico más alto y el más bajo, alcanzando su máximo porcentaje con el 80% de la ETo. En el caso de mirceno y α -felandreno, tanto el riego más elevado como el más escaso originan un descenso en su concentración relativa, viéndose ésta favorecida con los aportes intermedios (60 y 40% de la ETo). El precursor γ -terpineno ofrece su mejor resultado con el 20% de la ETo, significativamente superior a los restantes suplementos hídricos. El p-cimeno, sin embargo, no presenta diferencias significativas en sus porcentajes, aunque el peor resultado, en promedio, se obtiene con el riego correspondiente al 20% de la ETo.

Tabla III.1–11. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. hyemalis*, en función del aporte hídrico (Invierno 2002).

COMPONENTES	I. R.	% ETo			
		80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Hidrocarburos terpénicos					
Triciclono*	931	0,03 ± 0,03	0,01 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,04
α-Tujeno*	940	1,34 ± 0,58 ^a	0,95 ± 0,06 ^{ab}	0,96 ± 0,13 ^{ab}	0,58 ± 0,06 ^b
α-Pineno	949	0,58 ± 0,37	0,84 ± 0,96	1,32 ± 0,70	1,68 ± 1,53
Canfeno	969	1,11 ± 1,08	0,44 ± 0,17	0,50 ± 0,66	1,26 ± 1,34
Verbeneno*	976	0,05 ± 0,00	0,04 ± 0,01	0,06 ± 0,02	0,06 ± 0,02
Sabineno	1001	0,22 ± 0,21	0,18 ± 0,14	0,23 ± 0,24	0,30 ± 0,29
β-Pineno	1007	0,24 ± 0,22	0,30 ± 0,15	0,16 ± 0,11	0,22 ± 0,23
Mirceno	1026	0,75 ± 0,30 ^a	0,90 ± 0,05 ^{ab}	0,95 ± 0,16 ^b	0,74 ± 0,07 ^a
α-Felandreno	1042	0,15 ± 0,01 ^a	0,19 ± 0,02 ^b	0,19 ± 0,03 ^b	0,15 ± 0,03 ^a
Δ ₃ -Careno	1048	0,06 ± 0,01 ^a	0,07 ± 0,01 ^a	0,06 ± 0,00 ^a	0,05 ± 0,01 ^b
α-Terpineno	1058	1,28 ± 0,01	1,83 ± 0,49	2,00 ± 0,69	1,55 ± 0,65
p-Cimeno	1068	26,67 ± 11,20	24,29 ± 2,76	25,41 ± 5,06	22,28 ± 6,40
Limoneno	1073	0,87 ± 0,10	0,85 ± 0,29	1,35 ± 0,42	1,28 ± 0,69
(Z)-β-Ocimeno	1086	0,02 ± 0,02	0,01 ± 0,00	0,03 ± 0,05	0,02 ± 0,02
(E)-β-Ocimeno*	1097	0,21 ± 0,22	0,04 ± 0,03	0,44 ± 0,73	0,06 ± 0,03
γ-Terpineno	1109	10,81 ± 1,78 ^a	13,38 ± 2,32 ^a	12,85 ± 3,87 ^a	17,58 ± 4,59 ^b
Terpinoleno + (E)-Óxido de linalol	1141	0,21 ± 0,01	0,29 ± 0,21	0,25 ± 0,19	0,35 ± 0,25
α-Copaeno	1378	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,00
α-Gurjeneno*	1408	0,02 ± 0,01 ^a	0,01 ± 0,00 ^a	0,01 ± 0,00 ^a	0,03 ± 0,01 ^b
(E)-Cariofileno	1419	0,80 ± 0,23	1,23 ± 0,45	1,08 ± 0,74	1,00 ± 0,51
Calereno	1432	tr	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01
Aromadendreno	1440	0,06 ± 0,05	0,06 ± 0,02	0,05 ± 0,03	0,05 ± 0,06
α-Humuleno	1457	0,05 ± 0,02	0,08 ± 0,05	0,06 ± 0,02	0,13 ± 0,14
Aloaromadendreno	1465	0,09 ± 0,01 ^a	0,08 ± 0,03 ^a	0,08 ± 0,04 ^a	0,19 ± 0,08 ^b
Elemeno*	1481	0,01 ± 0,00 ^a	0,01 ± 0,00 ^a	0,01 ± 0,00 ^a	0,02 ± 0,01 ^b
β-Selineno*	1485	0,01 ± 0,00	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,02 ± 0,01
Valenceno	1510	0,37 ± 0,03 ^a	0,27 ± 0,14 ^a	0,44 ± 0,15 ^a	0,76 ± 0,43 ^b
α-Muuroleno*	1516	0,02 ± 0,01 ^a	0,02 ± 0,01 ^a	0,02 ± 0,01 ^a	0,05 ± 0,03 ^b
γ-Cadineno*	1537	0,04 ± 0,02 ^a	0,05 ± 0,04 ^a	0,07 ± 0,02 ^{ab}	0,09 ± 0,04 ^b
δ-Cadineno	1553	0,09 ± 0,04 ^a	0,08 ± 0,05 ^a	0,13 ± 0,04 ^{ab}	0,20 ± 0,10 ^b
Alcoholes					
Butanol	742	0,01 ± 0,01 ^a	tr ^{ab}	0,01 ± 0,00 ^{ab}	tr ^b
3-Metil-3-buten-1-ol	766	tr	tr	tr	tr
3-penten-2-ol*	784	tr	tr	tr	tr
3-metil-2-buten-1-ol*	789	tr	tr	tr	tr
(Z)-3-Hexen-1-ol	852	tr	tr	tr	tr
(E)-2-Hexen-1-ol	865	tr	tr	tr	tr
Hexanol + m-Xileno	867	0,02 ± 0,01 ^a	0,03 ± 0,02 ^a	0,01 ± 0,00 ^b	0,01 ± 0,00 ^b
1-Octen-3-ol	1009	0,26 ± 0,05	0,18 ± 0,13	0,27 ± 0,16	0,18 ± 0,07
3-Octanol	1031	0,11 ± 0,06	0,07 ± 0,06	0,04 ± 0,03	0,18 ± 0,18

Tabla III.1-11 (continuación)

COMPONENTES	I. R.	% ETo			
		80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Alcoholes (continuación)					
(E)-Hidrato de sabineno	1116	0,62 ± 0,15	1,39 ± 1,28	2,00 ± 2,83	1,78 ± 2,43
(Z)-Hidrato de sabineno*	1151	0,17 ± 0,05	1,74 ± 2,48	0,29 ± 0,22	0,48 ± 0,58
Linalol	1152	2,19 ± 0,04 ^a	1,54 ± 1,16 ^a	0,89 ± 0,56 ^a	8,63 ± 8,22 ^b
(E)-Pinocarveol	1186	0,16 ± 0,05	0,20 ± 0,02	0,18 ± 0,05	0,20 ± 0,07
(Z)-Verbenol	1189	0,29 ± 0,02	0,38 ± 0,22	0,56 ± 0,15	0,38 ± 0,24
(E)-Verbenol*	1197	0,04 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,04 ± 0,02	0,05 ± 0,02
Isoborneol	1203	0,01 ± 0,00 ^a	tr ^a	0,01 ± 0,00 ^a	0,02 ± 0,00 ^b
Borneol	1211	3,35 ± 2,95	0,38 ± 0,38	1,46 ± 2,21	4,17 ± 3,67
Terpinen-4-ol	1220	0,47 ± 0,15	1,48 ± 1,59	1,52 ± 1,75	2,31 ± 3,49
p-Cimen-8-ol	1227	0,15 ± 0,02 ^a	0,29 ± 0,06 ^b	0,22 ± 0,06 ^c	0,24 ± 0,05 ^{bc}
α-Terpineol	1231	4,71 ± 5,18 ^a	0,57 ± 0,26 ^b	0,59 ± 0,35 ^b	0,69 ± 0,52 ^b
Carveol	1252	tr ^a	0,01 ± 0,01 ^a	0,04 ± 0,03 ^b	0,06 ± 0,01 ^b
Nerol + Citronelol	1260	0,02 ± 0,00 ^a	0,02 ± 0,01 ^a	0,02 ± 0,00 ^a	0,04 ± 0,01 ^b
Geraniol + Acetato de linalilo	1281	tr ^a	0,02 ± 0,01 ^a	0,01 ± 0,01 ^a	0,05 ± 0,02 ^b
Espatulenol	1640	0,24 ± 0,09 ^a	0,28 ± 0,07 ^a	0,32 ± 0,10 ^a	0,46 ± 0,12 ^b
Aldehídos					
(E)-2-Butenal*	735	tr	tr	tr	tr
Pentanal	754	tr	tr	tr	tr
Hexanal + Butirato de etilo	802	0,01 ± 0,00	tr	tr	tr
Furfural	832	tr	tr	tr	tr
(E)-2-Hexenal	849	0,01 ± 0,00 ^{ab}	0,01 ± 0,00 ^{ab}	0,01 ± 0,00 ^a	0,02 ± 0,01 ^b
Heptanal	904	tr ^{ab}	0,01 ± 0,01 ^a	tr ^b	tr ^b
Benzaldehído	987	0,01 ± 0,00	tr	tr	tr
Nonanal	1157	0,03 ± 0,00 ^a	0,04 ± 0,02 ^{ab}	0,08 ± 0,04 ^{bc}	0,09 ± 0,04 ^c
Mirtenal + Dihidrocarvona	1235	0,09 ± 0,05 ^a	0,10 ± 0,05 ^a	0,13 ± 0,02 ^a	0,21 ± 0,10 ^b
Decanal	1243	0,04 ± 0,02 ^a	0,04 ± 0,02 ^a	0,14 ± 0,08 ^b	0,16 ± 0,06 ^b
Cuminaldehído	1268	0,04 ± 0,01 ^a	0,02 ± 0,01 ^a	0,04 ± 0,02 ^a	0,13 ± 0,09 ^b
Neral + Carvona	1270	tr ^a	0,02 ± 0,01 ^a	0,15 ± 0,13 ^b	0,04 ± 0,02 ^a
Geranial + Perialdehído	1292	0,05 ± 0,03	0,07 ± 0,06	0,15 ± 0,14	0,08 ± 0,02
Cetonas					
3-Hexanona	795	tr	tr	tr	tr
3-Heptanona*	888	tr	tr	tr	tr
3-Octanona	1019	0,19 ± 0,02 ^a	0,03 ± 0,03 ^b	0,09 ± 0,03 ^c	0,08 ± 0,02 ^c
β-Tujona	1158	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,02	0,01 ± 0,00	0,03 ± 0,02
Alcanfor	1193	0,59 ± 0,29 ^a	0,81 ± 0,24 ^{ab}	0,92 ± 0,19 ^{bc}	1,18 ± 0,29 ^c
Pinocarvona*	1208	0,02 ± 0,02 ^{ab}	0,02 ± 0,01 ^a	0,02 ± 0,01 ^a	0,05 ± 0,03 ^b
Verbenona	1245	2,22 ± 0,56 ^{ab}	1,52 ± 1,01 ^a	4,01 ± 1,83 ^c	3,13 ± 1,22 ^{bc}
Timoquinona	1276	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,03	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,02
(Z)-Jasmona	1399	tr ^a	tr ^a	0,01 ± 0,00 ^{ab}	0,01 ± 0,00 ^b
α-Ionona	1428	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01
β-Ionona	1497	0,01 ± 0,00 ^a	tr ^a	tr ^a	0,03 ± 0,02 ^b

Tabla III.1–11 (continuación)

COMPONENTES	I. R.	% ETo			
		80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Ésteres					
Acetato de etilo	732	tr	tr	tr	tr
Butirato de metilo	763	tr	tr	tr	tr
Acetato de bencilo	1214	0,15 ± 0,05 ^a	0,05 ± 0,01 ^b	0,05 ± 0,01 ^b	0,04 ± 0,01 ^b
Caprilato de etilo	1239	0,03 ± 0,00 ^a	0,03 ± 0,01 ^a	0,05 ± 0,01 ^b	0,04 ± 0,02 ^{ab}
Acetato de bornilo	1302	0,15 ± 0,08	0,13 ± 0,08	0,09 ± 0,05	0,65 ± 0,85
Acetato de terpenilo	1353	tr ^a	tr ^a	0,03 ± 0,03 ^b	tr ^a
Acetato de timilo*	1356	0,19 ± 0,20 ^a	0,04 ± 0,04 ^{bc}	0,03 ± 0,02 ^b	0,14 ± 0,10 ^{ac}
Acetato de nerilo	1366	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01
Acetato de geranilo	1385	0,02 ± 0,02	0,07 ± 0,10	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,00
Caprilato de butilo	1388	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01
Fenoles					
Éter metílico de timol	1265	0,06 ± 0,00	0,38 ± 0,43	0,13 ± 0,15	0,87 ± 1,58
Éter metílico de carvacrol	1272	0,70 ± 0,01	0,07 ± 0,08	0,44 ± 0,57	0,30 ± 0,41
Timol	1308	29,55 ± 3,99 ^a	31,20 ± 2,08 ^a	25,92 ± 4,07 ^a	19,21 ± 4,23 ^b
Carvacrol	1314	1,57 ± 0,16 ^{ab}	1,74 ± 0,18 ^a	1,29 ± 0,38 ^{ab}	1,13 ± 0,39 ^b
Eugenol	1358	0,02 ± 0,00	0,04 ± 0,04	0,08 ± 0,12	0,01 ± 0,00
(E)-Isoeugenol	1453	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,02
Epóxidos					
(Z)-Óxido de linalol	1123	0,02 ± 0,01 ^{ab}	0,01 ± 0,01 ^a	0,01 ± 0,00 ^a	0,04 ± 0,03 ^b
Óxido de cariofileno	1650	0,19 ± 0,01	0,23 ± 0,06	0,24 ± 0,14	0,34 ± 0,16
Éter					
1,8-Cineol	1076	2,32 ± 2,64	3,30 ± 2,86	1,26 ± 2,29	1,89 ± 3,46

^{a,b,c} Valores con distinto superíndice en la misma línea presentan diferencias estadísticamente significativas, de acuerdo con el test de la Menor Diferencia Significativa de Fisher ($P < 0,05$).

± Desviación estándar.

* Identificación tentativa.

I. R. Índices de Kovats (HP-5).

tr = trazas (< 0,01%).

El m-xileno, que eluye con el hexanol, muestra su mejor rendimiento con las cantidades más altas de agua. El resto de hidrocarburos terpénicos cuya síntesis se ve afectada por el riego en esta recolección (α -gurjeneno, aloaromadendreno, elemeno, valenceno, α -muuroleno, γ -cadineno y δ -cadineno), alcanzan sus máximas concentraciones con el aporte hídrico más bajo.

En cuanto a los alcoholes, los más abundantes en esta especie de tomillo son (*E*) y (*Z*)-hidrato de sabineno, linalol, borneol, terpinen-4-ol y α -terpineol. En este grupo químico, 11 componentes se ven afectados por el riego diferenciado (butanol, hexanol, linalol, isoborneol, *p*-cimen-8-ol, α -terpineol, carveol, nerol, citronelol, geraniol y espatulenol). El butanol se encuentra en baja concentración, y alcanza sus mejores porcentajes con el tratamiento correspondiente al 80% de la ETo, significativamente superior al obtenido con el 20%. El α -terpineol, al igual que el hexanol, se ven favorecidos con el máximo aporte hídrico, aunque este último no parece distinguir entre el 80 y el 60% de la ETo. Por el contrario, linalol, isoborneol, carveol, nerol, citronelol, geraniol (integrado junto al acetato de linalilo) y espatulenol mejoran significativamente sus porcentajes con una cantidad de agua mínima. En los aceites esenciales ricos en linalol, uno de los componentes que se determina con mayor intensidad en las pruebas olfatométricas realizadas al aceite extraído de *Th. hyemalis* (Goodner *et al.*, 2006), se ha medido también una importante actividad antirradicalaria (Lax *et al.*, 2007). Por último, *p*-cimen-8-ol presenta su concentración más baja con el agua equivalente al 80% de la ETo, significativamente inferior al resto de tratamientos.

Los aldehídos, por su parte, no son especialmente abundantes en *Th. hyemalis*, encontrándose diferencias significativas en siete casos. Mirtenal y cuminaldehído ven significativamente aumentadas sus proporciones relativas cuando reciben el menor riego, en tanto que nonanal y decanal responden por igual al 40 y 20% de la ETo, con concentraciones significativamente superiores a las obtenidas cuando se les suministra más agua. El heptanal alcanza su mejor porcentaje con el 60% ETo, en tanto que el neral presenta un resultado significativamente superior con el 40%. (*E*)-2-hexenal no muestra diferencias entre 80, 60 y 20% de la ETo, siendo el porcentaje obtenido con el 40% significativamente inferior al alcanzado con el 20%. Todo esto nos lleva a pensar que en la presente recolección, la síntesis de estos compuestos se ve favorecida, en general, por bajos aportes hídricos.

Debe tenerse en cuenta que tanto mirtenal como neral se integran junto a dihidrocarvona y carvona respectivamente, y al igual que ocurre con los casos anteriormente mencionados en los que dos componentes distintos comparten el mismo pico cromatográfico, resulta difícil determinar si su comportamiento está motivado por su carácter aldehídico o cetónico.

Respecto a las cetonas, además de en las mencionadas dihidrocarvona y carvona, el análisis estadístico detecta diferencias significativas en seis casos más. Verbenona y alcanfor son los compuestos de este tipo más abundantes en *Th. hyemalis*. El alto contenido en verbenona es característico de esta especie, alcanzando su máxima proporción relativa con el aporte hídrico equivalente al 40% de la ETo, que resulta ser significativamente superior a la conseguida con el 80 y 60%. El 20% parece tener el mismo efecto que el 40 en este caso, al igual que ocurre con el alcanfor, cuyo mejor porcentaje se obtiene con estos dos tratamientos, en tanto que el alcanzado con el 80% de la ETo es significativamente más bajo. El riego equivalente al 60% de la ETo es el menos adecuado en el caso de 3-octanona, componente que mejora su rendimiento con el aporte hídrico más alto. Por el contrario, β -ionona, (Z)-jasmona y pinocarvona incrementan significativamente sus concentraciones relativas con la menor cantidad de agua. La β -ionona, a pesar de encontrarse en baja concentración, presenta una elevada intensidad de aroma (Goodner *et al.*, 2006).

Los ésteres que se presentan en mayor proporción en esta labiada son acetato de bornilo, acetato de timilo y acetato de bencilo. Los distintos niveles de riego producen cambios significativos en cinco de estos componentes. El acetato de linalilo muestra un porcentaje significativamente superior al resto de tratamientos con el aporte hídrico más bajo. Por el contrario, el acetato de bencilo alcanza su mayor concentración con el 80% de la ETo, al igual que el acetato de timilo, aunque este último no presenta diferencias significativas entre el 80 y el

20%, debido probablemente a la elevada desviación estándar detectada en ambos tratamientos. Por último, caprilato de etilo, y especialmente acetato de terpenilo, mejoran significativamente sus porcentajes si se riegan con el agua necesaria para compensar el 40% de la ETo, efecto que en el caso del caprilato de etilo es equiparable al conseguido con el 20%.

El apartado dedicado a los compuestos fenólicos es especialmente importante, teniendo en cuenta que el timol está considerado como el componente definitorio de calidad en estos aceites. Este fenol alcanza su máxima concentración relativa con el 60% de la ETo ($31,2 \pm 2,08\%$), no apreciándose diferencias significativas entre este tratamiento y los correspondientes al 80 y 40%. El aporte hídrico más bajo resulta ser el menos adecuado para la síntesis de este constituyente en invierno de 2002, con un porcentaje de $19,2 \pm 4,23\%$, significativamente inferior al resto. El carvacrol presenta unas proporciones relativas que varían con el riego de forma semejante a lo mencionado con el timol, aunque en este caso las únicas diferencias con significación estadística las encontramos entre el 60 y el 20% de la ETo. Ambos constituyentes muestran propiedades similares, pero el carvacrol suele aparecer en menor proporción en la mayoría de las plantas de esta especie, como quedará de manifiesto en el capítulo dedicado a la variabilidad intraespecífica.

Finalmente, sólo en un epóxido, (*Z*)-óxido de linalol, se aprecian diferencias significativas entre tratamientos, consiguiéndose el mejor resultado con el riego equivalente al 20% de la ETo, al igual que ocurría con el linalol, aunque tal resultado, en el caso del epóxido, no es significativamente superior al conseguido con el 80%.

Mencionar que el único éter identificado en esta labiada, 1,8-cineol, si bien no presenta diferencias significativas entre tratamientos, muestra sus mejores porcentajes con los aportes hídricos más altos, aunque la

variabilidad determina una desviación estándar muy elevada en todos los casos.

En resumen, considerando especialmente la tendencia observada en el timol, y que otros componentes responden igualmente bien con una cantidad de agua no demasiado alta, además del hecho de que numerosos constituyentes no parecen verse afectados por el riego diferenciado, podemos afirmar que en esta recolección un suplemento de agua que compense el 40% de la ETo es suficiente para asegurar una buena calidad en el aceite esencial.

III. 1. 5. 1. 2. Primavera 2002.

El análisis cromatográfico del aceite esencial extraído a las plantas de *Th. hyemalis* recolectadas en primavera (Tabla III.1–12), muestra variaciones con respecto a la recolección de invierno, que en algunos casos son bastante marcadas, no sólo por la presencia de diferencias significativas donde antes no las había y viceversa, sino también por las distintas concentraciones relativas de los componentes en ambas recolecciones.

Los hidrocarburos terpénicos que en primavera muestran diferencias significativas (triciclono, α -pineno, canfeno, verbeneno, sabineno, Δ_3 -careno, terpinoleno, aromadendreno, aloaromadendreno, elemeno, β -selineno, δ -cadineno y m-xileno) no coinciden con los de invierno en muchos casos. Triciclono, canfeno, verbeneno, sabineno y terpinoleno responden mejor en primavera con niveles bajos de agua (40 ó 20% de la ETo), en tanto que en invierno no se muestran sensibles a los diferentes riegos. Otro compuesto, el α -pineno, presenta en la segunda recolección un porcentaje significativamente más bajo cuando a las plantas se les aplica el riego equivalente al 80% de la ETo. No hay diferencias para este terpeno entre el 60, 40 y 20%, tratamientos con los

que eleva sus promedios respecto a invierno. El aromadendreno, por el contrario, disminuye su concentración con todos los tratamientos al cambiar la estación, y el rendimiento alcanzado con el suplemento hídrico más elevado es significativamente superior a los obtenidos con el 40 y 20% de la ETo en primavera. El β -selineno no varía apenas sus porcentajes respecto a invierno, aunque en primavera responde significativamente mejor con el 60% de la ETo, al igual que δ -cadineno, que reduce la cantidad detectada respecto a invierno con los suplementos hídricos más bajos. El elemeno presenta en primavera diferencias al comparar el 80 con el 40 y 20% de la ETo, resultando los menores aportes hídricos significativamente más eficaces. La presencia de Δ_3 -careno en la segunda cosecha se incrementa significativamente con el 80%, en tanto que en invierno le sucede lo propio con el 20%. El m-xileno, en la recolección de mayo, únicamente muestra diferencias significativas entre el 60 y 20% de la ETo, siendo más adecuado el primero; por su parte, el aloaromadendreno aumenta significativamente sus proporciones relativas con el 80%, pero no se aprecian diferencias entre dicho tratamiento y el equivalente al 20% de la ETo, con el que en invierno alcanza su mejor resultado.

De los alcoholes que demuestran distinguir entre riegos en la primavera de 2002, sólo hexanol, isoborneol, p-cimen-8-ol, α -terpineol y espatulenol lo hacen también en invierno. El hexanol, con diferencias significativas entre el 60 y 20% de la ETo en primavera, eleva su concentración con el 40 y 20% respecto a invierno. El isoborneol consigue sus mejores resultados con el 60 y 40% de la ETo, aunque sin diferencias significativas con el 20%. El α -terpineol incrementa significativamente su porcentaje con el 60% de la ETo en la segunda recolección, aunque registra una elevada desviación estándar en muchos casos, lo que demuestra de nuevo la variabilidad presente entre estas plantas. En primavera, espatulenol y p-cimen-8-ol necesitan poca cantidad de agua (20 ó 40% de la ETo) para alcanzar concentraciones óptimas, al igual que en invierno.

Tabla III.1–12. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. hyemalis*, en función del aporte hídrico (Primavera 2002).

COMPONENTES	I. R.	% ETO			
		80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Hidrocarburos terpénicos					
Triciclono*	931	0,01 ± 0,01 ^a	0,01 ± 0,00 ^a	0,03 ± 0,02 ^b	0,01 ± 0,00 ^{ab}
α-Tujeno*	940	1,04 ± 0,22	1,18 ± 0,81	1,30 ± 0,41	0,63 ± 0,04
α-Pineno	949	0,34 ± 0,06 ^a	2,47 ± 2,19 ^b	1,46 ± 0,82 ^{ab}	2,24 ± 1,77 ^b
Canfeno	969	0,35 ± 0,16 ^a	0,29 ± 0,10 ^a	1,06 ± 0,95 ^b	0,35 ± 0,03 ^a
Verbeneno*	976	0,05 ± 0,04 ^{ab}	0,03 ± 0,02 ^a	0,09 ± 0,05 ^b	0,05 ± 0,02 ^{ab}
Sabineno	1001	0,14 ± 0,10 ^a	0,40 ± 0,15 ^b	0,50 ± 0,32 ^b	0,83 ± 0,04 ^c
β-Pineno	1007	0,27 ± 0,15	0,20 ± 0,06	0,30 ± 0,21	0,16 ± 0,02
Mirceno	1026	0,90 ± 0,33	1,27 ± 0,74	1,07 ± 0,37	0,79 ± 0,05
α-Felandreno	1042	0,18 ± 0,03	0,18 ± 0,06	0,17 ± 0,04	0,16 ± 0,01
Δ ₃ -Careno	1048	0,07 ± 0,01 ^a	0,05 ± 0,02 ^b	0,06 ± 0,01 ^b	0,04 ± 0,00 ^b
α-Terpineno	1058	1,33 ± 0,51	1,26 ± 0,47	1,51 ± 0,47	1,70 ± 0,06
p-Cimeno	1068	27,29 ± 7,87	27,62 ± 9,50	28,94 ± 6,35	22,49 ± 0,72
Limoneno	1073	1,61 ± 0,64	1,34 ± 0,46	1,79 ± 0,79	2,18 ± 0,52
(Z)-β-Ocimeno	1086	0,04 ± 0,04	0,11 ± 0,18	0,06 ± 0,07	0,04 ± 0,04
(E)-β-Ocimeno*	1097	0,17 ± 0,21	0,52 ± 0,85	0,38 ± 0,46	0,18 ± 0,17
γ-Terpineno	1109	9,42 ± 4,25	9,24 ± 2,45	10,99 ± 3,89	9,07 ± 0,82
Terpinoleno + (E)-Óxido de linalol	1141	0,20 ± 0,03 ^a	0,35 ± 0,18 ^b	0,38 ± 0,17 ^b	0,54 ± 0,03 ^c
α-Copaeno	1378	tr	0,01 ± 0,00	tr	tr
α-Gurjeneno*	1408	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,02 ± 0,01
(E)-Cariofileno	1419	0,72 ± 0,23	0,76 ± 0,61	0,88 ± 0,35	0,31 ± 0,10
Calereno	1432	0,01 ± 0,02	tr	0,01 ± 0,01	tr
Aromadendreno	1440	0,04 ± 0,02 ^a	0,03 ± 0,02 ^{ab}	0,02 ± 0,01 ^b	0,01 ± 0,01 ^b
α-Humuleno	1457	0,03 ± 0,01	0,07 ± 0,09	0,05 ± 0,02	0,01 ± 0,00
Aloaromadendreno	1465	0,13 ± 0,05 ^a	0,07 ± 0,02 ^b	0,07 ± 0,01 ^b	0,12 ± 0,03 ^a
Elemeno*	1481	0,01 ± 0,00 ^a	0,01 ± 0,00 ^{ab}	0,01 ± 0,00 ^b	0,02 ± 0,00 ^b
β-Selineno*	1485	0,01 ± 0,00 ^a	0,02 ± 0,01 ^b	0,01 ± 0,00 ^a	0,01 ± 0,00 ^a
Valenceno	1510	0,27 ± 0,08	0,32 ± 0,17	0,32 ± 0,04	0,41 ± 0,04
α-Muuroleno*	1516	0,02 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,03 ± 0,02	0,02 ± 0,01
γ-Cadineno*	1537	0,05 ± 0,02	0,09 ± 0,03	0,06 ± 0,05	0,05 ± 0,02
δ-Cadineno	1553	0,10 ± 0,02 ^a	0,13 ± 0,02 ^b	0,08 ± 0,04 ^a	0,09 ± 0,03 ^a
Alcoholes					
Butanol	742	tr	tr	tr	tr
3-Metil-3-buten-1-ol	766	tr	tr	tr	tr
3-penten-2-ol*	784	tr	tr	tr	tr
3-metil-2-buten-1-ol*	789	tr	tr	tr	tr
(Z)-3-Hexen-1-ol	852	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
(E)-2-Hexen-1-ol	865	tr	tr	tr	tr
Hexanol + m-Xileno	867	0,02 ± 0,01 ^{ab}	0,03 ± 0,01 ^a	0,03 ± 0,00 ^{ab}	0,02 ± 0,00 ^b
1-Octen-3-ol	1009	0,13 ± 0,12	0,20 ± 0,14	0,13 ± 0,07	0,15 ± 0,05
3-Octanol	1031	0,02 ± 0,02 ^a	0,03 ± 0,03 ^a	0,01 ± 0,00 ^a	0,09 ± 0,10 ^b

Tabla III.1–12 (continuación)

COMPONENTES	I. R.	% ETo			
		80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Alcoholes (continuación)					
(E)-Hidrato de sabineno	1116	0,67 ± 0,24 ^a	2,76 ± 2,37 ^{ab}	3,32 ± 3,22 ^b	15,42 ± 0,28 ^c
(Z)-Hidrato de sabineno*	1151	0,17 ± 0,06	4,04 ± 4,24	3,19 ± 4,51	1,05 ± 0,19
Linalol	1152	3,18 ± 2,43	1,87 ± 1,53	1,58 ± 1,28	1,54 ± 0,04
(E)-Pinocarveol	1186	0,25 ± 0,28	0,22 ± 0,02	0,23 ± 0,11	0,20 ± 0,03
(Z)-Verbenol	1189	0,38 ± 0,13 ^a	0,86 ± 0,52 ^b	0,83 ± 0,40 ^b	0,86 ± 0,08 ^b
(E)-Verbenol*	1197	0,04 ± 0,01 ^a	0,03 ± 0,01 ^a	0,02 ± 0,00 ^a	0,06 ± 0,03 ^b
Isoborneol	1203	tr ^a	0,01 ± 0,00 ^b	0,01 ± 0,00 ^b	tr ^{ab}
Borneol	1211	1,09 ± 0,35 ^a	1,23 ± 0,50 ^a	3,84 ± 3,64 ^b	1,33 ± 0,00 ^{ab}
Terpinen-4-ol	1220	0,51 ± 0,14 ^a	1,34 ± 1,04 ^a	3,05 ± 2,67 ^b	4,14 ± 0,18 ^b
p-Cimen-8-ol	1227	0,18 ± 0,04 ^{ab}	0,14 ± 0,11 ^a	0,25 ± 0,04 ^c	0,24 ± 0,05 ^{bc}
α-Terpineol	1231	0,62 ± 0,26 ^a	12,83 ± 13,70 ^b	1,98 ± 2,37 ^a	1,54 ± 0,05 ^a
Carveol	1252	0,04 ± 0,02	0,02 ± 0,01	0,04 ± 0,03	0,05 ± 0,02
Nerol + Citronelol	1260	0,04 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,02
Geraniol + Acetato de linalilo	1281	0,06 ± 0,05	0,04 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01
Espatulanol	1640	0,34 ± 0,06 ^a	0,29 ± 0,11 ^a	0,37 ± 0,09 ^{ab}	0,46 ± 0,08 ^b
Aldehídos					
(E)-2-Butenal*	735	tr	tr	tr	tr
Pentanal	754	tr	tr	tr	tr
Hexanal + Butirato de etilo	802	tr	tr	tr	tr
Furfural	832	tr	tr	tr	tr
(E)-2-Hexenal	849	tr	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
Heptanal	904	tr	tr	tr	tr
Benzaldehído	987	tr	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01
Nonanal	1157	0,04 ± 0,06	0,04 ± 0,02	0,08 ± 0,07	0,11 ± 0,01
Mirtenal + Dihidrocarvona	1235	0,13 ± 0,08	0,12 ± 0,05	0,16 ± 0,09	0,22 ± 0,05
Decanal	1243	0,06 ± 0,04 ^a	0,13 ± 0,17 ^{ab}	0,22 ± 0,15 ^b	0,23 ± 0,06 ^b
Cuminaldehído	1268	0,03 ± 0,02	0,07 ± 0,04	0,05 ± 0,02	0,06 ± 0,02
Neral + Carvona	1270	0,02 ± 0,02	0,03 ± 0,01	0,02 ± 0,02	0,03 ± 0,03
Geranial + Perialdehído	1292	0,19 ± 0,07	0,21 ± 0,02	0,23 ± 0,10	0,13 ± 0,03
Cetonas					
3-Hexanona	795	tr	tr	tr	tr
3-Heptanona*	888	tr	tr	tr	tr
3-Octanona	1019	0,07 ± 0,04	0,04 ± 0,02	0,06 ± 0,06	0,03 ± 0,00
β-Tujona	1158	0,02 ± 0,02	0,03 ± 0,02	0,03 ± 0,04	0,03 ± 0,00
Alcanfor	1193	0,96 ± 0,48 ^a	0,64 ± 0,16 ^a	1,04 ± 0,26 ^{ab}	1,50 ± 0,71 ^b
Pinocarvona*	1208	0,01 ± 0,00	0,03 ± 0,02	0,03 ± 0,03	0,02 ± 0,00
Verbenona	1245	4,33 ± 2,52	2,01 ± 1,37	4,10 ± 2,84	4,45 ± 1,20
Timoquinona	1276	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,03	0,03 ± 0,03	0,04 ± 0,03
(Z)-Jasmona	1399	tr ^a	0,01 ± 0,00 ^{ab}	0,01 ± 0,01 ^b	tr ^a
α-Ionona	1428	0,01 ± 0,00 ^a	0,01 ± 0,00 ^a	0,01 ± 0,00 ^a	tr ^b
β-Ionona	1497	0,02 ± 0,01 ^a	0,02 ± 0,01 ^a	0,01 ± 0,01 ^{ab}	tr ^b

Tabla III.1–12 (continuación)

COMPONENTES	I. R.	% ETo			
		80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Ésteres					
Acetato de etilo	732	tr	tr	tr	tr
Butirato de metilo	763	tr	tr	tr	tr
Acetato de bencilo	1214	0,14 ± 0,14	0,10 ± 0,03	0,08 ± 0,02	0,07 ± 0,00
Caprilato de etilo	1239	0,07 ± 0,04	0,04 ± 0,01	0,07 ± 0,04	0,08 ± 0,00
Acetato de bornilo	1302	0,09 ± 0,02	0,10 ± 0,04	0,11 ± 0,01	0,08 ± 0,02
Acetato de terpenilo	1353	tr	0,04 ± 0,05	0,02 ± 0,02	tr
Acetato de timilo*	1356	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01
Acetato de nerilo	1366	0,03 ± 0,02	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,02	tr
Acetato de geranilo	1385	0,03 ± 0,05	0,02 ± 0,02	0,01 ± 0,01	tr
Caprilato de butilo	1388	0,01 ± 0,01 ^{ab}	0,02 ± 0,01 ^a	0,01 ± 0,01 ^{bc}	tr ^c
Fenoles					
Éter metílico de timol	1265	0,53 ± 0,55	0,18 ± 0,31	0,13 ± 0,09	0,48 ± 0,55
Éter metílico de carvacrol	1272	0,28 ± 0,30	0,43 ± 0,35	0,70 ± 0,59	0,07 ± 0,04
Timol	1308	29,20 ± 2,68 ^a	17,15 ± 8,62 ^b	14,46 ± 3,24 ^b	16,55 ± 2,12 ^b
Carvacrol	1314	2,05 ± 0,25 ^a	1,39 ± 0,79 ^b	0,98 ± 0,24 ^b	1,27 ± 0,30 ^b
Eugenol	1358	0,08 ± 0,02	0,12 ± 0,03	0,07 ± 0,06	0,08 ± 0,02
(<i>E</i>)-Isoeugenol	1453	0,03 ± 0,01 ^a	0,01 ± 0,01 ^b	0,02 ± 0,01 ^b	0,02 ± 0,00 ^b
Epóxidos					
(<i>Z</i>)-Óxido de linalol	1123	0,02 ± 0,01 ^a	0,02 ± 0,01 ^a	0,01 ± 0,01 ^{ab}	tr ^b
Óxido de cariofileno	1650	0,25 ± 0,07	0,27 ± 0,12	0,33 ± 0,08	0,19 ± 0,07
Éter					
1,8-Cineol	1076	2,06 ± 2,21	1,41 ± 1,55	1,69 ± 2,04	0,61 ± 0,68

^{a,b,c} Valores con distinto superíndice en la misma línea presentan diferencias estadísticamente significativas, de acuerdo con el test de la Menor Diferencia Significativa de Fisher ($P < 0,05$).

± Desviación estándar.

* Identificación tentativa.

I. R. Índices de Kovats (HP-5).

tr = trazas (< 0,01%).

Por otra parte, alcoholes como 3-octanol, (*E*)-hidrato de sabineno, (*Z*) y (*E*)-verbenol, borneol y terpinen-4-ol, presentan diferencias con significación estadística que no aparecen en invierno. Los dos primeros aumentan significativamente sus proporciones relativas con el nivel de agua más bajo, siendo esto especialmente relevante en el caso del (*E*)-hidrato de sabineno, que incrementa su concentración 23 veces al comparar con el 80% de la ETo; (*Z*)-verbenol muestra su peor porcentaje

con el 80% de la ETo, significativamente inferior al resto, elevando sus promedios respecto a invierno. Y (*E*)-verbenol presenta una concentración significativamente superior con el 20% en primavera, con unos valores medios similares a los de invierno. Por último, terpinen-4-ol y borneol mejoran significativamente su respuesta en la cosecha de mayo con los dos niveles de agua más bajos.

Cabe destacar el comportamiento del linalol, que en invierno alcanza valores significativamente más altos con el menor aporte hídrico, y en primavera no se muestra sensible a los distintos niveles de agua.

Sólo un aldehído, el decanal, presenta diferencias significativas en primavera. En esta estación, al igual que en invierno, los mejores resultados se consiguen con el 40 y 20% de la ETo, con la diferencia de que en la segunda recolección, el valor alcanzado con el 60% no es significativamente distinto de los demás.

Alcanfor, (*Z*)-jasmona, α y β -ionona, son las cetonas cuyos porcentajes presentan diferencias en función de agua recibida por las plantas en mayo. El alcanfor, que incrementa su presencia en el aceite esencial respecto a invierno con casi todos los tratamientos, mejora significativamente su concentración en primavera con el 40 y, especialmente, el 20% de la ETo. La (*Z*)-jasmona coincide en responder igualmente bien con el 40%, pero dicho tratamiento no es diferente del 60%. Otra cetona, α -ionona, cuya síntesis no se ve afectada en invierno por ningún riego, reduce significativamente su concentración en primavera con el 20% de la ETo, y β -ionona, por su parte, también obtiene en la recolección de mayo su peor resultado con el nivel de agua más bajo, pero en este caso sin mostrar diferencias con el 40% de la ETo.

Respecto a los ésteres, el caprilato de butilo es el único que distingue entre riegos en la segunda recolección, alcanzando con el 60% de la ETo un porcentaje significativamente superior al conseguido con el

40 y el 20%. Este componente no muestra diferencias entre tratamientos en invierno.

Timol y carvacrol manifiestan también en primavera diferencias en sus concentraciones en función del riego. El primero presenta un porcentaje significativamente superior con el aporte hídrico más elevado, que además es el único tratamiento con el que se mantiene una proporción relativa similar a la de invierno, ya que con el resto, este fenol reduce su presencia en el aceite esencial. El carvacrol adopta un comportamiento similar, con una concentración significativamente más alta con el 80% de la ETo, pero en este caso se incrementa el porcentaje alcanzado respecto a invierno tanto con dicho tratamiento como con el 20%, en tanto que disminuye con el 60 y 40%. Otro fenol, (*E*)-isoeugenol, que en invierno no muestra diferencias significativas, presenta en mayo una proporción significativamente mejor con el 80% de la ETo.

Finalmente, el (*Z*)-óxido de linalol alcanza con el 20% de la ETo una cantidad relativa significativamente inferior a las mostradas con el 80 y 60%, en tanto que en invierno exhibe un comportamiento opuesto, ya que obtiene su mejor porcentaje con el aporte hídrico más bajo.

A la vista de estos resultados, se puede concluir que la segunda recolección de *Th. hyemalis* requiere un aporte hídrico superior al de invierno para garantizar la calidad del aceite esencial, ya que parece que en primavera, los fenoles cuya síntesis se ve favorecida por un determinado nivel de riego mejoran sus porcentajes con la cantidad de agua más elevada de todas las ensayadas, aunque otros componentes de estas sustancias, entre los que se incluyen algunos terpenos y alcoholes con concentración relativa importante, no manifiestan este comportamiento, ya que incrementan su presencia en el aceite con suplementos hídricos bajos.

III. 1. 5. 1. 3. Comparativa invierno/primavera 2002.

Resulta interesante analizar si el perfil volátil del aceite esencial varía significativamente con el cambio de estación. Por ello, se ha realizado un estudio estadístico en el cual se determina, con los principales constituyentes de estos aceites, la presencia o ausencia de diferencias entre invierno y primavera en todos los tratamientos de riego (Tabla III.1–13).

Mirceno y p-cimeno, a pesar de elevar sus concentraciones en primavera con todos los tratamientos, no presentan diferencias significativas respecto a invierno. El γ -terpineno, sin embargo, muestra mayores porcentajes en la primera recolección, los cuales son incluso significativamente más altos con el 60 y 20% de la ETo.

Tabla III.1–13. Análisis estadístico comparativo invierno/primavera 2002.

Componentes	% ETo			
	80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Mirceno	ND	ND	ND	ND
p-Cimeno	ND	ND	ND	ND
γ -Terpineno	ND	D	ND	D
(E)-Hidrato de sabineno	ND	ND	ND	D
(Z)-Hidrato de sabineno	ND	ND	ND	ND
Linalol	ND	ND	ND	ND
Alcanfor	ND	ND	ND	ND
Borneol	D	D	ND	ND
α -Terpineol	D	ND	ND	D
Verbenona	ND	ND	ND	ND
Timol	ND	D	D	ND
Carvacrol	D	ND	ND	ND

D = Diferencias estadísticamente significativas entre estaciones ($P < 0,05$).
 ND = No existen diferencias.

Los alcoholes (*E*) y (*Z*)-hidrato de sabineno también incrementan su presencia en el aceite en mayo, especialmente el primero, que con el aporte hídrico equivalente al 20% de la ETo multiplica casi por nueve por su concentración respecto a invierno, lo que explica las diferencias significativas detectadas en ese tratamiento. Con el linalol se obtienen mejores resultados en primavera, al comparar con la primera recolección, con el 80, 60 y 40% de la ETo, pero no con el 20%, aunque este tratamiento, en invierno, si bien proporciona una concentración bastante alta en promedio, muestra una desviación estándar igualmente elevada, lo cual explica la ausencia de diferencias significativas. El borneol, por su parte, presenta en invierno porcentajes superiores en los tratamientos que implican el mayor y menor aporte hídrico, bajando su concentración con los tratamientos intermedios respecto a primavera, aunque las diferencias entre estaciones sólo son significativas con el 80 y 40% de la ETo. En cuanto al α -terpineol, su concentración de mayo se ve incrementada respecto a febrero con todos los tratamientos, excepto el 80% de la ETo, y se detectan diferencias significativas entre las dos estaciones con el 80 y 20%, a pesar del contraste en cuanto a presencia de este componente que encontramos en estas plantas.

La verbenona, cuya presencia en concentraciones relativamente altas caracteriza a *Th. hyemalis*, muestra en general un porcentaje superior en primavera, pero sin diferenciarse significativamente de invierno; en tanto que el aumento que presenta el alcanfor en su concentración en la segunda recolección con todos los tratamientos, salvo el correspondiente al 60% de la ETo, no resulta ser significativo.

Analizando el comportamiento del timol, vemos que la reducción de los porcentajes de este fenol en primavera respecto a invierno es significativa con el 60 y 40% de la ETo, ya que con ambos tratamientos el descenso en el contenido de timol es bastante notable, mientras el valor alcanzado con el 80% es muy semejante en ambas estaciones. El aporte hídrico más bajo no resulta adecuado para la producción de timol en el

primer año de aplicación del riego diferenciado en ninguna estación, ya que el valor alcanzado con dicho riego es relativamente bajo en ambos casos. El carvacrol, por su parte, sólo muestra diferencias significativas entre estaciones con el 80% de la ETo, con una concentración superior en primavera.

Basándonos en los datos comentados hasta ahora, es posible afirmar, a modo de resumen, que un porcentaje importante de componentes se ven favorecidos por los aportes hídricos más bajos (20 ó 40% de la ETo) en ambas estaciones, encontrándose entre éstos, en la recolección de invierno, γ -terpineno, aloaromadendreno, elemeno, valenceno, α -muuroleno, linalol, isoborneol, carveol, nerol, citronelol, geraniol, espatulenol, mirtenal, decanal, cuminaldehído, neral, alcanfor, dihidrocarvona, verbenona, carvona, β -ionona, caprilato de etilo, acetato de linalilo, acetato de terpenilo y (*Z*)-óxido de linalol; en primavera, los componentes que destacan con estos tratamientos son triciclono, canfeno, verbeneno, sabineno, terpinoleno, 3-octanol, (*E*)-hidrato de sabineno, (*E*)-verbenol, borneol, terpinen-4-ol, *p*-cimen-8-ol, espatulenol, decanal y alcanfor.

Los riegos más abundantes, por el contrario, benefician en invierno a *m*-xileno, hexanol, α -terpineol, heptanal, 3-octanona y acetato de bencilo; y en primavera, los componentes que se destacan con el 80 ó 60% de la ETo son Δ_3 -careno, aromadendreno, β -selineno, δ -cadineno, α -terpineol, caprilato de butilo, timol, carvacrol y (*E*)-isoeugenol.

El resto de componentes no muestran diferencias o bien no manifiestan una afinidad claramente definida hacia una cantidad escasa o elevada de agua, ya que pueden reaccionar igualmente bien con aportes hídricos muy diferentes.

Teniendo todo esto en cuenta, regar con el agua equivalente al 40% de la ETo es lo más indicado en la recolección de invierno correspondiente al primer año de ensayo, ya que la calidad del aceite esencial no mejora significativamente aplicando mayores cantidades de

agua. Por el contrario, en primavera de este mismo año, primero con riego diferenciado, se necesita más agua, hasta el 80% de la ETo, para conseguir una calidad óptima en el aceite.

Puede ser beneficioso, por lo tanto, establecer cultivos de *Th. hyemalis*, ya que su primera cosecha anual, con un escaso riego, puede proporcionar un aceite de calidad, adelantándose a la producción de otras especies de tomillo. La siega de primavera, ya que en nuestra región no resulta rentable aumentar el suplemento hídrico hasta el 80%, se podría dedicar a la obtención de hoja para ser empleada como condimento alimentario, puesto que en lo referente a la producción de biomasa, la segunda recolección de 2002 no se ve mermada por aplicar un escaso aporte de agua, que podría ser el equivalente al 40% de la ETo.

III. 1. 5. 1. 4. Invierno 2003.

En esta recolección (Tabla III.1–14), el efecto que los distintos tratamientos de riego pueden tener sobre el perfil volátil de estos aceites parece haberse atenuado, si lo comparamos con el invierno anterior, ya que únicamente se aprecian diferencias con significación estadística en seis componentes: linalol, benzaldehído, 3-hexanona, caprilato de butilo, carvacrol y (Z)-óxido de linalol.

Si nos detenemos en los terpenos, observamos que en esta recolección no se aprecian diferencias significativas entre tratamientos en ningún caso, a diferencia de lo ocurrido en 2002. De hecho, en algunos componentes, como α -tujeno y mirceno, el resultado es completamente distinto en los dos años, ya que en 2003 aparecen los promedios más elevados en los tratamientos que en 2002 proporcionaban los peores rendimientos. Continuando con el seguimiento a los constituyentes que en invierno de 2002 mostraban diferencias significativas, el α -felandreno presenta en 2003 el mejor resultado con el aporte hídrico más bajo, a

diferencia de 2002, recolección en la que se necesita aumentar el riego hasta el 40 o 60% de la ETo para aumentar la concentración relativa de este compuesto. El m-xileno mejora sus porcentajes en 2003 respecto a 2002 con aportes de agua bajos. Por el contrario, aloaromadendreno, elemeno, valenceno, α -muuroleno y γ y δ -cadineno necesitan en 2003 más agua que en 2002 para alcanzar sus mejores promedios. Por su parte, la tendencia de Δ_3 -careno y α -gurjeneno en 2003 es igual a la de 2002, ya que el primero disminuye su concentración relativa con el suplemento de agua más bajo, y el segundo la aumenta. El precursor fenólico γ -terpineno ve mejorado su porcentaje en 2003 a medida que disminuye el agua que reciben las plantas.

Es importante recordar que, por lo que respecta a los terpenos, en 2003 sólo podemos señalar tendencias, ya que el diferente aporte de agua no afecta significativamente a su presencia en el aceite esencial de la planta.

En cuanto a los alcoholes, sólo el linalol se muestra sensible a los distintos tratamientos hídricos en esta recolección, alcanzando cantidades relativas significativamente más elevadas con los riegos abundantes, equivalentes al 80 y 60% de la ETo. El porcentaje más bajo aparece con el 20%, tratamiento con el que en 2002 se consigue el mejor resultado. El resto de alcoholes que anteriormente mostraban diferencias entre riegos varían ligeramente su respuesta en 2003. Algunos de ellos, como hexanol, no necesitan en 2003 un suplemento hídrico elevado para obtener un buen resultado, en tanto que nerol y citronelol mejoran el porcentaje logrado con el 80, 60 y 40% respecto al año anterior, al igual que carveol y espatulenol. El butanol aumenta la concentración alcanzada con el 40% de la ETo con relación a 2002, al igual que el isoborneol, que además muestra un descenso con el 20% respecto al primer año de ensayo. El p-cimen-8-ol y el α -terpineol presentan en 2003 sus promedios más elevados con el 80%, y el geraniol pasa, con dicho tratamiento, de aparecer en trazas en 2002 a tener un promedio relativamente alto en 2003, pero con una desviación estándar muy elevada.

Tabla III.1–14. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. hyemalis*, en función del aporte hídrico (Invierno 2003).

COMPONENTES	I. R.	% ETo			
		80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Hidrocarburos terpénicos					
Triciclono*	931	0,02 ± 0,02	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,02	0,03 ± 0,02
α-Tujeno*	940	0,83 ± 0,12	1,05 ± 0,32	0,96 ± 0,39	1,16 ± 0,84
α-Pineno	949	1,19 ± 1,09	1,10 ± 0,48	0,98 ± 0,26	2,72 ± 2,77
Canfeno	969	0,99 ± 1,01	0,69 ± 0,36	0,92 ± 0,62	1,10 ± 0,63
Verbeneno*	976	0,09 ± 0,03	0,08 ± 0,02	0,06 ± 0,03	0,10 ± 0,07
Sabineno	1001	0,12 ± 0,11	0,17 ± 0,16	0,20 ± 0,25	0,27 ± 0,30
β-Pineno	1007	0,22 ± 0,17	0,18 ± 0,13	0,11 ± 0,01	0,29 ± 0,21
Mirceno	1026	0,86 ± 0,63	0,63 ± 0,16	0,69 ± 0,24	0,85 ± 0,23
α-Felandreno	1042	0,12 ± 0,03	0,15 ± 0,02	0,15 ± 0,01	0,16 ± 0,03
Δ ₃ -Careno	1048	0,06 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,05 ± 0,01
α-Terpineno	1058	0,97 ± 0,41	1,29 ± 0,32	1,39 ± 0,39	1,51 ± 0,67
p-Cimeno	1068	32,36 ± 2,73	30,73 ± 5,55	31,42 ± 10,16	26,68 ± 7,43
Limoneno	1073	0,97 ± 0,36	1,14 ± 0,29	1,24 ± 0,16	1,38 ± 0,34
(Z)-β-Ocimeno	1086	0,03 ± 0,03	tr	0,05 ± 0,06	0,01 ± 0,00
(E)-β-Ocimeno*	1097	0,07 ± 0,08	0,03 ± 0,01	0,34 ± 0,45	0,05 ± 0,02
γ-Terpineno	1109	6,23 ± 3,57	9,31 ± 4,07	10,28 ± 2,47	11,50 ± 3,76
Terpinoleno + (E)-Óxido de linalol	1141	0,24 ± 0,06	0,23 ± 0,12	0,23 ± 0,10	0,28 ± 0,27
α-Copaeno	1378	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
α-Gurjeneno*	1408	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,06 ± 0,05
(E)-Cariofileno	1419	0,78 ± 0,25	1,23 ± 0,59	0,82 ± 0,22	0,51 ± 0,25
Calereno	1432	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
Aromadendreno	1440	0,05 ± 0,04	0,11 ± 0,06	0,06 ± 0,07	0,05 ± 0,03
α-Humuleno	1457	0,06 ± 0,02	0,07 ± 0,07	0,04 ± 0,02	0,03 ± 0,02
Aloaromadendreno	1465	0,06 ± 0,02	0,07 ± 0,07	0,11 ± 0,06	0,03 ± 0,02
Elemeno*	1481	0,01 ± 0,00	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01
β-Selineno*	1485	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,01
Valenceno	1510	0,24 ± 0,07	0,48 ± 0,37	0,39 ± 0,27	0,34 ± 0,16
α-Muuroleno*	1516	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,00	0,02 ± 0,01
γ-Cadineno*	1537	0,04 ± 0,02	0,09 ± 0,06	0,09 ± 0,03	0,07 ± 0,01
δ-Cadineno	1553	0,08 ± 0,02	0,12 ± 0,06	0,15 ± 0,04	0,11 ± 0,02
Alcoholes					
Butanol	742	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01	tr
3-Metil-3-buten-1-ol	766	tr	tr	tr	tr
3-penten-2-ol*	784	tr	tr	tr	tr
3-metil-2-buten-1-ol*	789	0,01 ± 0,00	tr	tr	tr
(Z)-3-Hexen-1-ol	852	tr	tr	tr	tr
(E)-2-Hexen-1-ol	865	tr	tr	tr	tr
Hexanol + m-Xileno	867	0,03 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,02	0,02 ± 0,01
1-Octen-3-ol	1009	0,19 ± 0,07	0,18 ± 0,13	0,18 ± 0,04	0,17 ± 0,09
3-Octanol	1031	0,04 ± 0,02	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,06 ± 0,05

Tabla III.1-14 (continuación)

COMPONENTES	I. R.	% ETo			
		80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Alcoholes (continuación)					
(<i>E</i>)-Hidrato de sabineno	1116	0,75 ± 0,35	1,24 ± 1,35	3,44 ± 4,76	1,33 ± 1,38
(<i>Z</i>)-Hidrato de sabineno*	1151	0,46 ± 0,57	0,84 ± 1,50	0,35 ± 0,27	1,65 ± 2,90
Linalol	1152	2,21 ± 0,54 ^a	1,78 ± 0,63 ^a	0,90 ± 0,32 ^b	0,45 ± 0,25 ^b
(<i>E</i>)-Pinocarveol	1186	0,23 ± 0,12	0,22 ± 0,08	0,20 ± 0,01	0,33 ± 0,15
(<i>Z</i>)-Verbenol	1189	0,50 ± 0,24	0,78 ± 0,45	0,52 ± 0,20	0,69 ± 0,26
(<i>E</i>)-Verbenol*	1197	0,07 ± 0,04	0,06 ± 0,01	0,07 ± 0,02	0,07 ± 0,02
Isoborneol	1203	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
Borneol	1211	3,63 ± 3,51	2,51 ± 1,17	3,51 ± 2,17	3,52 ± 1,34
Terpinen-4-ol	1220	0,77 ± 0,35	1,00 ± 1,26	1,09 ± 1,16	1,76 ± 2,65
p-Cimen-8-ol	1227	0,38 ± 0,08	0,27 ± 0,05	0,29 ± 0,05	0,29 ± 0,09
α-Terpineol	1231	1,55 ± 2,35	0,45 ± 0,15	0,50 ± 0,33	0,63 ± 0,28
Carveol	1252	0,05 ± 0,02	0,05 ± 0,02	0,06 ± 0,01	0,06 ± 0,04
Nerol + Citronelol	1260	0,03 ± 0,02	0,05 ± 0,02	0,05 ± 0,03	0,05 ± 0,02
Geraniol + Acetato de linalilo	1281	0,13 ± 0,19	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,02 ± 0,01
Espatuleno	1640	0,41 ± 0,10	0,38 ± 0,22	0,35 ± 0,24	0,33 ± 0,18
Aldehídos					
(<i>E</i>)-2-Butenal*	735	tr	tr	tr	tr
Pentanal	754	tr	tr	tr	tr
Hexanal + Butirato de etilo	802	0,01 ± 0,00	tr	tr	tr
Furfural	832	0,01 ± 0,00	tr	tr	tr
(<i>E</i>)-2-Hexenal	849	0,01 ± 0,00	tr	tr	tr
Heptanal	904	tr	0,01 ± 0,00	tr	tr
Benzaldehído	987	0,01 ± 0,00 ^a	tr ^b	tr ^b	tr ^b
Nonanal	1157	0,06 ± 0,03	0,06 ± 0,03	0,06 ± 0,02	0,08 ± 0,03
Mirtenal + Dihidrocarvona	1235	0,15 ± 0,08	0,12 ± 0,07	0,13 ± 0,01	0,22 ± 0,09
Decanal	1243	0,17 ± 0,12	0,21 ± 0,11	0,21 ± 0,09	0,20 ± 0,09
Cuminaldehído	1268	0,07 ± 0,04	0,05 ± 0,02	0,07 ± 0,03	0,06 ± 0,02
Neral + Carvona	1270	0,03 ± 0,04	0,10 ± 0,08	0,17 ± 0,21	0,11 ± 0,08
Geranial + Perialdehído	1292	0,13 ± 0,05	0,21 ± 0,15	0,21 ± 0,25	0,16 ± 0,11
Cetonas					
3-Hexanona	795	tr ^a	0,01 ± 0,01 ^b	tr ^a	tr ^a
3-Heptanona*	888	tr	0,01 ± 0,01	tr	tr
3-Octanona	1019	0,13 ± 0,10	0,10 ± 0,05	0,12 ± 0,03	0,11 ± 0,09
β-Tujona	1158	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,04 ± 0,02
Alcanfor	1193	0,90 ± 0,41	1,06 ± 0,32	1,06 ± 0,20	1,36 ± 0,45
Pinocarvona*	1208	0,04 ± 0,02	0,02 ± 0,02	0,03 ± 0,01	0,05 ± 0,03
Verbenona	1245	3,12 ± 1,99	4,38 ± 1,69	4,13 ± 0,81	4,28 ± 1,17
Timoquinona	1276	0,06 ± 0,04	0,03 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,01
(<i>Z</i>)-Jasmona	1399	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	tr	0,01 ± 0,00
α-Ionona	1428	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
β-Ionona	1497	0,01 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01

Tabla III.1–14 (continuación)

COMPONENTES	I. R.	% ETo			
		80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Ésteres					
Acetato de etilo	732	tr	tr	tr	tr
Butirato de metilo	763	tr	tr	tr	tr
Acetato de bencilo	1214	0,04 ± 0,02	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,03 ± 0,03
Caprilato de etilo	1239	0,06 ± 0,01	0,07 ± 0,03	0,06 ± 0,02	0,07 ± 0,03
Acetato de bornilo	1302	0,09 ± 0,04	0,15 ± 0,12	0,09 ± 0,02	0,13 ± 0,09
Acetato de terpenilo	1353	tr	tr	tr	tr
Acetato de timilo*	1356	0,04 ± 0,05	0,04 ± 0,02	0,02 ± 0,01	0,05 ± 0,05
Acetato de nerilo	1366	0,03 ± 0,01	0,02 ± 0,02	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
Acetato de geranilo	1385	0,01 ± 0,01	0,07 ± 0,15	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01
Caprilato de butilo	1388	tr ^a	0,02 ± 0,01 ^b	tr ^a	tr ^a
Fenoles					
Éter metílico de timol	1265	0,92 ± 1,04	0,33 ± 0,43	0,41 ± 0,66	0,19 ± 0,16
Éter metílico de carvacrol	1272	0,35 ± 0,34	0,21 ± 0,26	0,43 ± 0,62	0,49 ± 0,49
Timol	1308	27,38 ± 5,25	27,31 ± 3,57	24,65 ± 2,51	24,24 ± 5,00
Carvacrol	1314	1,73 ± 0,05 ^{ab}	1,96 ± 0,44 ^a	1,33 ± 0,37 ^{bc}	1,24 ± 0,18 ^c
Eugenol	1358	0,03 ± 0,01	0,02 ± 0,02	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01
(E)-Isoeugenol	1453	0,03 ± 0,03	0,03 ± 0,02	0,02 ± 0,00	0,01 ± 0,00
Epóxidos					
(Z)-Óxido de linalol	1123	0,03 ± 0,01 ^a	0,01 ± 0,01 ^b	0,02 ± 0,01 ^b	0,01 ± 0,00 ^b
Óxido de cariofileno	1650	0,37 ± 0,14	0,34 ± 0,11	0,24 ± 0,08	0,21 ± 0,10
Éter					
1,8-Cineol	1076	2,80 ± 3,27	1,32 ± 2,72	0,11 ± 0,15	2,14 ± 2,97

^{a,b,c} Valores con distinto superíndice en la misma línea presentan diferencias estadísticamente significativas, de acuerdo con el test de la Menor Diferencia Significativa de Fisher ($P < 0,05$).

± Desviación estándar.

* Identificación tentativa.

I. R. Índices de Kovats (HP-5).

tr = trazas (< 0,01%).

Los aldehídos también modifican su comportamiento respecto al primer año de estudio, encontrando en 2003 que únicamente uno de estos compuestos, el benzaldehído, distingue entre tratamientos, con un porcentaje alcanzado con el 80% de la ETo significativamente superior al resto. Este componente, en 2002, no presenta diferencias entre los distintos riegos, aunque el resultado sea aparentemente el mismo, al contrario que el heptanal, que en 2003 no muestra diferencias

significativas que sí se detectan en 2002. El decanal experimenta un aumento en sus concentraciones relativas en todos los tratamientos en 2003, lo cual atenúa las diferencias mostradas en 2002, mientras el (*E*)-2-hexenal sufre el efecto contrario, mostrando valores más bajos con el 60, 40 y 20% de la ETo en 2003. El nonanal también disminuye las diferencias entre tratamientos en 2003 respecto a 2002, ya que eleva los porcentajes alcanzados con el 80 y 60%, y los baja ligeramente con el 40 y 20% de la ETo, en tanto que el cuminaldehído muestra igualmente un peor resultado con el 20%, pero mejora con el resto de aportes hídricos. Mirtenal y neral mantienen su mejor respuesta al mismo tratamiento, 20 y 40% respectivamente, en ambas recolecciones, pero en 2003 los promedios conseguidos con todos los riegos están más equilibrados, aunque en el caso del neral con una desviación estándar muy elevada.

El caso de las cetonas es semejante, con 3-hexanona mostrando diferencias significativas que no aparecen en 2002; en 2003, el suplemento hídrico equivalente al 60% de la ETo es significativamente mejor que el resto. No se detectan más diferencias en la respuesta al riego entre estos compuestos en 2003, pero comparando con el año anterior, vemos que en la mayor parte de los casos las concentraciones relativas determinadas en 2003 para las cetonas experimentan un aumento respecto a 2002. Esto sucede en todos los tratamientos en el caso de alcanfor, mientras otros constituyentes del aceite, como pinocarvona, o verbenona mantienen el mismo porcentaje alcanzado en 2002 con algunos tratamientos, y lo mejoran en otros. La 3-octanona, que en 2002 presenta su mejor resultado con el 80% de la ETo, disminuye este porcentaje en 2003, en tanto que eleva los promedios conseguidos con el 60, 40 y 20%. La (*Z*)-jasmona incrementa sus concentraciones con los tratamientos hídricos más abundantes en el segundo año de ensayo, y la β -ionona, por su parte, reduce ligeramente en 2003 la proporción alcanzada con el 20%, mejorando visiblemente con el 60 y 40% de la ETo. Todo esto contribuye a atenuar las diferencias entre riegos encontradas en 2002.

El caprilato de butilo es el único éster cuya producción se ve favorecida por un suplemento de agua específico en 2003.

Concretamente, el porcentaje alcanzado con el 60% de la ETo es significativamente superior a los demás tratamientos. Este compuesto experimenta un descenso en sus concentraciones respecto a 2002 en todos los casos, salvo en el mencionado tratamiento, lo que explica las diferencias encontradas en el segundo año de ensayo, las cuales no aparecen en el primero. Continuando con estos compuestos, el acetato de bencilo ve disminuidos sus porcentajes con el 80% en 2003, y para el acetato de timilo el descenso se produce tanto con el 80 como con el 20%. El acetato de terpenilo reduce su presencia a trazas con todos los tratamientos en la recolección de 2003. Otro éster, el caprilato de etilo, incrementa de forma general sus concentraciones relativas respecto al año anterior, y el acetato de linalilo, como ya se ha comentado en el caso del geraniol, junto al que se integra, aumenta su porcentaje con el 80%.

Por lo que se refiere a los fenoles, es importante mencionar que para el timol, en 2003 el análisis estadístico no aprecia diferencias significativas entre los porcentajes alcanzados con los cuatro aportes hídricos, aunque los promedios más elevados corresponden al 80 y 60% de la ETo. El carvacrol, sin embargo, presenta diferencias entre riegos en 2003, al igual que en 2002, siendo el porcentaje conseguido con el 60% significativamente superior a los alcanzados con el 40 y 20%.

En cuanto a los epóxidos, únicamente el (Z)-óxido de linalol muestra diferencias significativas en 2003, paralelamente a lo ocurrido en 2002. Tales diferencias aparecen con el tratamiento equivalente al 80% de la ETo, significativamente superior a los demás. El porcentaje alcanzado con el 20% disminuye respecto al año anterior.

Una vez más, en el 1,8-cineol no se detectan diferencias entre tratamientos, debido a la gran diversidad cuantitativa que presenta este componente en estas plantas.

Se debe comentar que al analizar conjuntamente las recolecciones de 2002 y 2003 es necesario considerar dos factores: la variabilidad intraespecífica y la diferente climatología de ambos años. Todo ello afecta al perfil volátil de estas labiadas, haciendo difícil establecer paralelismos entre dos cosechas distintas. Si nos restringimos a 2003, teniendo en cuenta las pocas diferencias significativas que se detectan, y que en concreto el timol, aunque alcanza mejores promedios con los aportes hídricos más elevados, no muestra tales diferencias, se puede pensar que un riego equivalente al 20% de la ETo es suficiente para conseguir un buen aceite esencial en este segundo año de aplicación del riego diferenciado, al igual que ocurre con la producción de biomasa y el rendimiento en dicho aceite.

III. 1. 5. 2. Estudio de la variabilidad intraespecífica.

Los componentes volátiles presentes en el aceite esencial de *Th. hyemalis* presentan variaciones cuantitativas importantes entre las distintas plantas, como hemos podido comprobar en los análisis cromatográficos efectuados a las muestras recolectadas en 2002 y 2003.

Esta evidencia es la base del estudio de variabilidad intraespecífica que se lleva a cabo en 2004, el cual se expone en este apartado. El estudio, en el caso de esta especie, se lleva a cabo sobre un número de individuos superior al propuesto inicialmente para este fin, ya que en lugar de 96 plantas se recolectan 109, seleccionadas entre los distintos tratamientos de riego. Tales plantas no muestran diferencias morfológicas reseñables, por lo que la diversidad se presenta en los aceites esenciales extraídos a partir de ellas, afectando tanto a su rendimiento como a su composición química. Los resultados de este estudio podrían extrapolarse a la población en general de esta especie, dado que se realiza sobre un número bastante elevado de plantas, las cuales proceden de semillas recolectadas en tomillares silvestres.

Como se ha mencionado anteriormente, el componente más destacado en un porcentaje mayoritario de los aceites analizados en esta Memoria es el timol, detectándose también concentraciones considerables de su isómero carvacrol, así como de los precursores fenólicos p-cimeno y γ -terpineno. Por otra parte, algunas plantas examinadas no presentan quimiotipo fenólico, mostrando como constituyentes más abundantes α -terpineol, linalol o borneol.

El aceite esencial de esta labiada ha sido estudiado con anterioridad por numerosos autores, generalmente analizando plantas procedentes de poblaciones espontáneas.

Adzet *et al.* (1976b), en su trabajo, determinan la presencia dominante de carvacrol, en cantidades que oscilan entre 70–80%. La proporción de borneol es también bastante alta, siendo en algunos casos este alcohol el componente mayoritario, con un porcentaje de 40–60%.

En otras publicaciones (Cabo *et al.*, 1986; Cabo *et al.*, 1987), se habla de altas concentraciones de 1,8-cineol, alcanfor, linalol y mircenol entre las plantas estudiadas.

Sáez (1996) identifica 38 componentes en los aceites analizados, variando sus proporciones en función de las localidades de las que proceden las plantas. El quimiotipo timol es el más extendido, con unas cantidades relativas para este fenol de hasta el 36,7%, presentando algunas plantas su isómero carvacrol como componente mayoritario, que puede alcanzar el 56,5%. En ambos casos se encuentran también muy elevados los precursores de estos fenoles (γ -terpineno y p-cimeno). El quimiotipo linalol también se presenta en esta especie, con una cantidad máxima del 34,4% para este componente. Otros constituyentes encontrados por este autor en concentraciones importantes son 1,8-cineol, borneol, α -terpineol, α -pineno y canfeno.

En un trabajo previo sobre el perfil volátil de este tomillo creciendo en condiciones de cultivo, Sotomayor (1998) identifica 30 componentes, señalando el quimiotipo timol para todas las plantas analizadas. Las cantidades de este componente varían en función de la edad y el estado fenológico de las plantas en el momento de su recolección.

En el presente estudio, los quimiotipos determinados se distribuyen tal como se aprecia en la Tabla III.1–15, en la que se especifica entre paréntesis el número de plantas que presenta cada uno de ellos, así como el porcentaje que suponen sobre el total de las plantas analizadas (109). Tales quimiotipos se exponen de mayor a menor presencia en la población.

Tabla III.1–15. Quimiotipos determinados y porcentaje de los mismos en la población.

Quimiotipos (nº de plantas)	Porcentaje (%)		
Fenólico*, timol > 20% (55)	50,46	74,31 ⁽¹⁾	
Fenólico*, timol ≤ 20% (18)	16,51		
Fenólico* (timol ≤ 20%), con precursores elevados (8)	7,34		
Mixto, α-terpineol/timol (7)	6,42		
Linalol* (6)	5,50		
Fenólico*, carvacrol (4)	3,67		
Mixto, borneol/timol* (3)	2,75		
Mixto, linalol/timol* (2)	1,83		
α-Terpineol (2)	1,83		
1,8-Cineol* (1)	0,92		
Mixto, carvacrol/(E)-hidrato de sabineno (1)	0,92		
Mixto, linalol/α-terpineol (1)	0,92		
Mixto, mirceno/hidrato de sabineno (1)	0,92		
Nº total de plantas: 109			

⁽¹⁾ Este porcentaje equivale a la suma de los tres primeros, que presentan al timol como componente más importante.

* Quimiotipos identificados por otros autores en esta especie.

Dentro del quimiotipo fenólico, el más abundante, se distingue entre plantas con un contenido en timol claramente superior al resto de componentes, y otros tomillos en los que si bien el timol continua siendo mayoritario, aparecen distintos constituyentes que también alcanzan una cantidad relativa en algunos casos similar a la de timol, o incluso superior cuando se trata de quimiotipos fenólicos con una concentración predominante de los precursores p-cimeno y γ -terpineno. Los tres primeros grupos que aparecen en la tabla engloban a estos individuos.

Se ha estimado conveniente hacer esta distinción entre ellos, únicamente a título informativo, con el fin de aportar una explicación detallada sobre el modo en que se distribuyen los componentes en las plantas, en base al contenido en timol y su relación con los precursores fenólicos y otros constituyentes del aceite esencial. No obstante, los tres grupos presentan el timol como componente destacado, y sumando las plantas que integran dichos grupos encontramos un porcentaje del 74,31%, visiblemente mayoritario en la población, al cual hay que añadir aquellos tomillos con presencia dominante de carvacrol en sus aceites, lo que les confiere también quimiotipo fenólico.

A continuación se exponen las principales características de los diferentes perfiles volátiles encontrados, siguiendo el mismo orden que aparece en la tabla anterior.

Quimiotipo fenólico, con timol > 20%

Las plantas de esta categoría suponen el 50,46% del total de muestras recolectadas. Presentan un quimiotipo simple, con el timol como componente destacado, ya que la concentración de este fenol es superior al 20% en todos los casos. Sobre este grupo, que constituye un porcentaje mayoritario de las plantas analizadas, se ha llevado a cabo un estudio similar al de años anteriores, para comprobar el comportamiento de los tomillos frente al diferente aporte hídrico en este tercer año de ensayo. Sus resultados se muestran en las Tablas III.1–16 y III.1–17, en

las que se recogen los porcentajes determinados para los distintos constituyentes del aceite esencial en las recolecciones de invierno y primavera, respectivamente. En tales tablas aparecen únicamente aquellos componentes para los que se determina una concentración relativa igual o superior a 0,1%, lo que supone un total de 45 constituyentes, ya que el propósito del apartado que nos ocupa es el estudio de la variabilidad química presente en estas plantas, por lo que se ha considerado suficiente hacer un seguimiento de la respuesta frente al riego en 2004 sólo sobre aquellos componentes que se encuentran en proporciones importantes. Tales componentes representan el 95,7% del total.

A) Invierno.

Como se puede ver en la Tabla III.1–16, en invierno de 2004 sólo un compuesto, (*E*)-hidrato de sabineno, muestra una respuesta diferente en función del riego recibido por las plantas.

La concentración de los hidrocarburos terpénicos no varía significativamente al aplicar los distintos tratamientos en esta recolección, al igual que ocurre en 2003. Dado que en 2002 sí se aprecian diferencias, parece que las plantas se van adaptando a los recursos hídricos de los que disponen, de forma que suplementos de agua que en el primer año de ensayo provocan un aumento o descenso en la síntesis de determinados terpenos, no tienen un efecto significativamente distinto del resto de tratamientos en el segundo y tercer año.

Compuestos como α -tujeno, α -pineno, canfeno, α -terpineno y limoneno, además de *p*-cimeno y γ -terpineno, son los terpenos más abundantes en esta recolección. Respecto a ambos precursores fenólicos, la presencia de *p*-cimeno en invierno de 2004 es similar a la de años anteriores con todos los tratamientos; en tanto que el γ -terpineno experimenta un descenso en casi todos sus promedios en 2004 con

relación al primer año de ensayo, especialmente marcado en el caso del 20% de la ETo.

Los alcoholes son el único grupo en el que se aprecian diferencias significativas en esta cosecha, ya que (*E*)-hidrato de sabineno, que en 2002 y 2003 no muestra tales diferencias, presenta en 2004 una concentración significativamente superior cuando a las plantas se les aplica el agua necesaria para compensar el 20% de la ETo, aunque dicha concentración no es distinta de la alcanzada con el 40%. Como ya ocurriera en la primavera de 2002, la síntesis de este alcohol acaba viéndose favorecida por aportes bajos de agua también en la primera recolección anual, transcurridos tres años desde el inicio del riego diferenciado.

Del resto de alcoholes, linalol y borneol destacan por su marcada presencia en el aceite esencial, detectándose en ambos una desviación estándar bastante alta.

La síntesis de los cuatro aldehídos mayoritarios en esta recolección no está influida por el riego, como tampoco lo está la de las cetonas. Verbenona y alcanfor son las que presentan las proporciones relativas más elevadas.

El acetato de bornilo, por su parte, no ha visto afectada su presencia en los aceites por los distintos niveles de riego en ninguna recolección, al igual que ocurre con las recolecciones invernales de los epóxidos (*E*)-óxido de linalol y óxido de cariofileno.

En la concentración de los fenoles incluidos en la tabla de 2004 tampoco se encuentran diferencias significativas en función del suplemento hídrico.

Tabla III.1–16. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. hyemalis*, quimiotipo timol, en función del aporte hídrico (Invierno 2004).

COMPONENTES	I.R.	% ETo			
		80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Hidrocarburos Terpénicos					
α -Tujeno*	940	0,90 \pm 0,23	1,00 \pm 0,14	1,02 \pm 0,16	0,94 \pm 0,10
α -Pino	949	1,73 \pm 1,59	1,09 \pm 0,44	1,59 \pm 0,87	1,32 \pm 1,09
Canfeno	969	0,41 \pm 0,15	1,46 \pm 1,05	1,10 \pm 0,84	1,07 \pm 1,04
Verbeneno*	976	0,10 \pm 0,07	0,09 \pm 0,02	0,07 \pm 0,03	0,07 \pm 0,03
Sabineno	1001	0,13 \pm 0,09	0,15 \pm 0,13	0,18 \pm 0,10	0,16 \pm 0,11
β -Pino	1007	0,20 \pm 0,15	0,20 \pm 0,15	0,26 \pm 0,15	0,19 \pm 0,17
Mirceno	1026	0,81 \pm 0,23	0,75 \pm 0,26	0,88 \pm 0,16	0,79 \pm 0,15
α -Felandreno	1042	0,17 \pm 0,03	0,16 \pm 0,03	0,18 \pm 0,03	0,16 \pm 0,03
α -Terpineno	1058	1,17 \pm 0,34	1,28 \pm 0,39	1,44 \pm 0,28	1,25 \pm 0,35
p-Cimeno	1068	24,54 \pm 6,89	28,60 \pm 6,84	25,63 \pm 4,89	23,78 \pm 6,61
Limoneno	1073	1,26 \pm 0,51	1,07 \pm 0,18	1,08 \pm 0,31	1,09 \pm 0,33
(<i>E</i>)- β -Ocimeno*	1097	0,08 \pm 0,12	0,73 \pm 1,46	0,30 \pm 0,45	0,27 \pm 0,60
γ -Terpineno	1109	8,99 \pm 2,93	11,07 \pm 4,52	12,94 \pm 4,16	9,80 \pm 2,67
Terpinoleno + (<i>E</i>)-Óxido de linalol	1141	0,23 \pm 0,08	0,20 \pm 0,03	0,18 \pm 0,04	0,20 \pm 0,05
(<i>E</i>)-Cariofileno	1419	0,88 \pm 0,38	0,95 \pm 0,35	0,82 \pm 0,31	0,78 \pm 0,29
Aloaromadendreno	1465	0,10 \pm 0,06	0,11 \pm 0,03	0,09 \pm 0,05	0,12 \pm 0,06
Valenceno	1510	0,40 \pm 0,24	0,49 \pm 0,24	0,50 \pm 0,37	0,54 \pm 0,34
δ -Cadineno	1553	0,17 \pm 0,10	0,13 \pm 0,08	0,14 \pm 0,08	0,11 \pm 0,08
Alcoholes					
1-Octen-3-ol	1009	0,27 \pm 0,20	0,23 \pm 0,15	0,14 \pm 0,08	0,18 \pm 0,09
(<i>E</i>)-Hidrato de sabineno	1116	0,47 \pm 0,11 ^a	0,58 \pm 0,15 ^a	0,62 \pm 0,25 ^{ab}	0,82 \pm 0,39 ^b
(<i>Z</i>)-Hidrato de sabineno*	1151	0,11 \pm 0,03	0,17 \pm 0,05	0,22 \pm 0,19	0,18 \pm 0,07
Linalol	1152	4,35 \pm 4,09	2,69 \pm 2,34	1,81 \pm 1,13	2,02 \pm 1,22
(<i>E</i>)-Pinocarveol	1186	0,20 \pm 0,11	0,15 \pm 0,05	0,17 \pm 0,05	0,18 \pm 0,06
(<i>Z</i>)-Verbenol	1189	0,67 \pm 0,40	0,51 \pm 0,14	0,48 \pm 0,27	0,51 \pm 0,20
Borneol	1211	1,57 \pm 0,82	5,05 \pm 3,73	3,46 \pm 2,44	4,07 \pm 3,99
Terpinen-4-ol	1220	0,50 \pm 0,05	0,65 \pm 0,19	0,57 \pm 0,26	0,60 \pm 0,18
p-Cimen-8-ol	1227	0,23 \pm 0,06	0,23 \pm 0,10	0,21 \pm 0,05	0,19 \pm 0,07
α -Terpineol	1231	0,53 \pm 0,32	0,46 \pm 0,24	0,52 \pm 0,32	0,75 \pm 0,75
Espatulenol	1640	0,34 \pm 0,14	0,41 \pm 0,21	0,31 \pm 0,18	0,38 \pm 0,18
Aldehídos					
Mirtenal + Dihidrocarvona	1235	0,16 \pm 0,07	0,11 \pm 0,03	0,14 \pm 0,03	0,14 \pm 0,08
Decanal	1243	0,19 \pm 0,15	0,15 \pm 0,08	0,11 \pm 0,06	0,20 \pm 0,20
Geranial + Perialdehído	1292	0,12 \pm 0,11	0,14 \pm 0,11	0,08 \pm 0,06	0,08 \pm 0,04
Cetonas					
3-Octanona	1019	0,15 \pm 0,09	0,13 \pm 0,09	0,10 \pm 0,08	0,07 \pm 0,04
Alcanfor	1193	1,00 \pm 0,55	1,01 \pm 0,32	0,89 \pm 0,26	0,97 \pm 0,46
Verbenona	1245	4,85 \pm 2,22	3,14 \pm 1,05	2,94 \pm 1,28	3,77 \pm 1,53
Éster					
Acetato de bornilo	1302	0,10 \pm 0,05	0,12 \pm 0,06	0,08 \pm 0,03	0,21 \pm 0,20

Tabla III.1–16 (continuación)

COMPONENTES	I.R.	% ETo			
		80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Fenoles					
Éter metílico de timol	1265	1,04 ± 1,19	0,10 ± 0,10	0,37 ± 0,53	0,51 ± 0,96
Éter metílico de carvacrol	1272	0,47 ± 0,47	0,23 ± 0,29	0,11 ± 0,12	0,44 ± 0,45
Timol	1308	31,55 ± 3,67	26,91 ± 4,34	29,75 ± 4,17	33,06 ± 8,79
Carvacrol	1314	2,04 ± 0,94	1,77 ± 0,42	1,91 ± 0,28	1,80 ± 0,58
Epóxido					
Óxido de cariofileno	1650	0,24 ± 0,09	0,27 ± 0,13	0,19 ± 0,05	0,21 ± 0,10
Éter					
1,8-Cineol	1076	2,12 ± 2,77	1,16 ± 2,32	2,30 ± 2,16	1,59 ± 2,09

^{a,b} Valores con distinto superíndice en la misma línea presentan diferencias estadísticamente significativas, de acuerdo con el test de la Menor Diferencia Significativa de Fisher ($P < 0,05$).

± Desviación estándar.

* Identificación tentativa.

I. R. Índices de Kovats (HP-5).

El timol, componente más importante desde el punto de vista comercial, alcanza con el 20% de la ETo un porcentaje medio que supera a los conseguidos con el resto de tratamientos, contrariamente a lo ocurrido los dos años anteriores. En la Figura III.1–9 se describe la distribución de las diferentes plantas, en función de la ETo, de acuerdo a su contenido en timol. La gráfica muestra la mediana (línea negra) y la media (línea roja discontinua), así como los percentiles 10, 25, 75 y 90, representados como cajas verticales con barras de error. En esta figura es posible apreciar que con el riego equivalente al 20% de la ETo, de acuerdo con el valor de la mediana, la mitad de los tomillos recolectados tienen un contenido en timol superior al 32%, muy semejante a lo que ocurre con el 80% de la ETo.

Sin embargo, al observar el P_{75} , encontramos que con el aporte hídrico más bajo, el 75% de las plantas presenta una concentración de este fenol igual o inferior al 40%, en tanto que en el caso del riego más elevado, el valor del mismo percentil nos sitúa en un porcentaje de timol igual o inferior al 34%. Esto indica que una proporción importante de tomillos que han recibido el suplemento hídrico necesario para compensar

el 20% de la ETo son más ricos en timol que aquellos que han sido regados más abundantemente, por lo que parece que un escaso aporte de agua es más favorable para la síntesis de este componente, a pesar de la ausencia de diferencias significativas entre tratamientos.

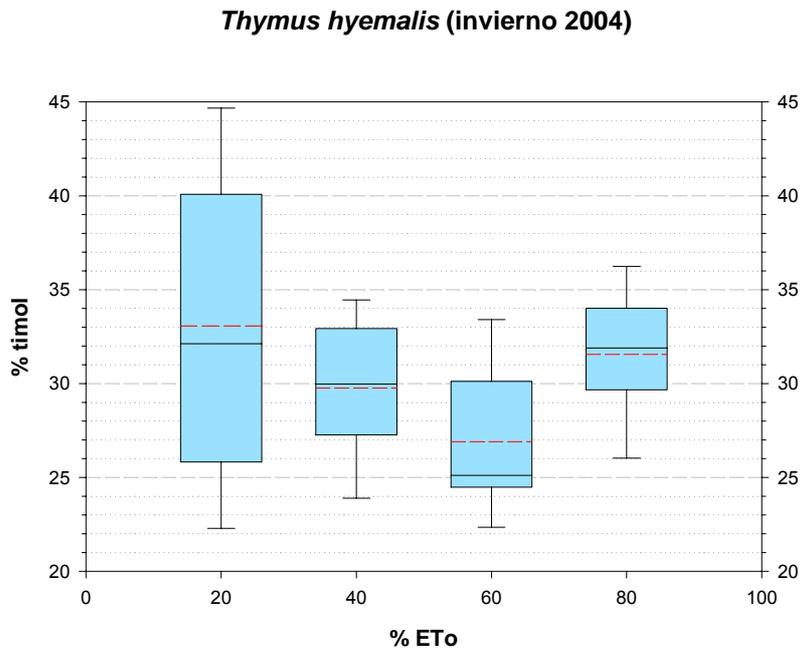


Fig. III.1-9. Distribución de las plantas según su contenido en timol.

El peor resultado corresponde al 60% de la ETo, ya que con esta cantidad de agua, el 50% de las plantas tiene una proporción de timol inferior al 25,11%, que es el valor de la mediana en este caso.

También es interesante advertir cómo, en este último año de ensayo, los porcentajes medios determinados para el timol con cada aporte hídrico resultan inversos al perfil seguido por el p-cimeno, coincidiendo el máximo de uno con el mínimo del otro (Figura III.1-10). Al tratarse de precursor y producto final, esto es lo que cabría esperar, aunque el hecho no es tan evidente los dos años anteriores, debido probablemente a que al haber un mayor número de muestras en 2004, se ha atenuado el efecto de la variabilidad intraespecífica.

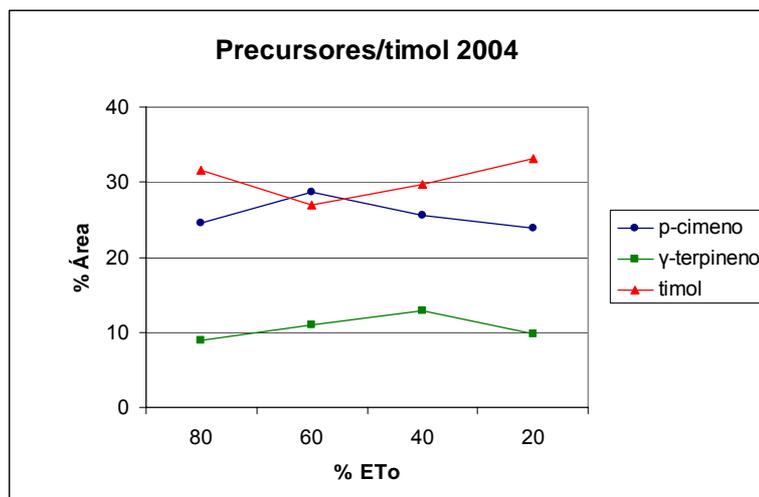


Fig. III.1–10. Estudio comparativo del comportamiento del timol y sus precursores, en función del aporte hídrico.

Por último, el carvacrol, cuya producción se ve afectada por el riego tanto en 2002 y 2003, presenta en 2004 unos porcentajes más igualados, de forma que ya no hay diferencias entre tratamientos.

Teniendo todo esto en cuenta, se puede afirmar que, si bien la variabilidad intraespecífica y la climatología influyen de nuevo en estos resultados, es posible advertir una tendencia en los tomillos hacia el equilibrio entre los distintos tratamientos, ya que, aunque en un principio la respuesta de las plantas ante la modificación de los suplementos hídricos que reciben se traduce en una alteración en la síntesis de componentes volátiles, efecto que se hace patente en 2002, tales plantas se readaptan a la nueva situación, imponiéndose el condicionamiento genético y logrando una síntesis de componentes relativamente estable, sin influencias del riego, aunque la producción de timol acaba viéndose favorecida en esta especie por aportes de agua mínimos.

La predisposición observada, que conduce a la equivalencia entre tratamientos, coincide con lo publicado por Ložienė y Venskutonis (2005), trabajo en el que queda de manifiesto que una modificación repentina de las condiciones de crecimiento de *Th. pulegioides* puede afectar al perfil

volátil de algunas de estas plantas, las cuales, transcurrido un tiempo, recuperan una composición similar a la que mostraban originalmente. La conclusión alcanzada apunta a una composición cualitativa estable del aceite esencial de estos individuos, la cual estaría predeterminada genéticamente.

B) Primavera.

Por lo que respecta a la primavera de 2004 (Tabla III.1–17), ninguno de los componentes considerados en dicha recolección ve afectada su síntesis por el aporte hídrico recibido.

(*E*)-cariofileno, aloaromadendreno, valenceno y δ -cadineno, hidrocarburos terpénicos más complejos estructuralmente, tienden a disminuir su concentración respecto a invierno con todos los tratamientos hídricos. El resto de los terpenos, en general, son más abundantes en primavera, aunque en algunos casos, como canfeno, verbeneno, α -terpineno, p-cimeno, (*E*)- β -ocimeno, γ -terpineno y terpinoleno, el porcentaje alcanzado en promedio en la segunda recolección aumenta respecto a la primera sólo con determinados tratamientos. El p-cimeno, en concreto, incrementa su proporción en junio únicamente con el 40% de la ETo.

(*E*)-hidrato de sabineno, alcohol que en invierno mejora su respuesta con el aporte hídrico más bajo, disminuye sus porcentajes en primavera con dicho tratamiento, de manera que en la segunda recolección las concentraciones están más igualadas y las diferencias entre los distintos niveles de agua no son significativas.

En los aldehídos, se puede apreciar una tendencia a mejorar su concentración relativa respecto a la de invierno con el 40 y 20% de la ETo, especialmente en el caso de geranial y perialdehído.

Tabla III.1–17. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. hyemalis*, quimiotipo timol, en función del aporte hídrico (Primavera 2004).

COMPONENTES	I. R.	% ETo			
		80	60	40	20
Hidrocarburos Terpénicos					
α -Tujeno*	940	0,97 \pm 0,22	1,08 \pm 0,08	1,02 \pm 0,14	0,96 \pm 0,14
α -Pinoeno	949	3,43 \pm 2,95	1,91 \pm 0,36	2,77 \pm 1,75	2,58 \pm 1,47
Canfeno	969	0,49 \pm 0,45	3,05 \pm 1,97	0,92 \pm 0,86	1,90 \pm 1,90
Verbeneno*	976	0,08 \pm 0,05	0,08 \pm 0,04	0,10 \pm 0,05	0,14 \pm 0,09
Sabineno	1001	0,22 \pm 0,17	0,21 \pm 0,11	0,34 \pm 0,26	0,31 \pm 0,30
β -Pinoeno	1007	0,32 \pm 0,21	0,40 \pm 0,25	0,44 \pm 0,31	0,41 \pm 0,34
Mirceno	1026	1,09 \pm 0,39	0,95 \pm 0,17	0,96 \pm 0,06	1,11 \pm 0,41
α -Felandreno	1042	0,20 \pm 0,06	0,18 \pm 0,03	0,21 \pm 0,03	0,19 \pm 0,02
α -Terpinoeno	1058	1,38 \pm 0,50	1,43 \pm 0,38	1,54 \pm 0,25	1,23 \pm 0,22
p-Cimeno	1068	23,55 \pm 6,36	22,54 \pm 3,77	27,70 \pm 3,08	19,59 \pm 7,21
Limoneno	1073	1,64 \pm 0,68	1,28 \pm 0,24	1,60 \pm 0,48	1,52 \pm 0,27
(<i>E</i>)- β -Ocimeno*	1097	0,30 \pm 0,46	0,85 \pm 1,33	0,27 \pm 0,55	0,98 \pm 1,70
γ -Terpinoeno	1109	12,01 \pm 4,86	13,26 \pm 5,80	13,44 \pm 2,60	9,63 \pm 1,60
Terpinoleno + (<i>E</i>)-Óxido de linalol	1141	0,21 \pm 0,04	0,25 \pm 0,07	0,21 \pm 0,05	0,20 \pm 0,05
(<i>E</i>)-Cariofileno	1419	0,66 \pm 0,28	0,84 \pm 0,18	0,52 \pm 0,30	0,47 \pm 0,35
Aloaromadendreno	1465	0,06 \pm 0,01	0,09 \pm 0,02	0,07 \pm 0,05	0,08 \pm 0,03
Valenceno	1510	0,31 \pm 0,18	0,34 \pm 0,17	0,48 \pm 0,27	0,40 \pm 0,20
δ -Cadineno	1553	0,12 \pm 0,05	0,13 \pm 0,02	0,11 \pm 0,08	0,06 \pm 0,01
Alcoholes					
1-Octen-3-ol	1009	0,13 \pm 0,09	0,31 \pm 0,09	0,15 \pm 0,13	0,22 \pm 0,14
(<i>E</i>)-Hidrato de sabineno	1116	0,49 \pm 0,10	0,64 \pm 0,21	0,76 \pm 0,59	0,60 \pm 0,20
(<i>Z</i>)-Hidrato de sabineno*	1151	0,21 \pm 0,17	0,24 \pm 0,10	0,17 \pm 0,05	0,18 \pm 0,07
Linalol	1152	1,92 \pm 0,77	3,03 \pm 1,12	1,61 \pm 0,43	2,15 \pm 0,47
(<i>E</i>)-Pinocarveol	1186	0,17 \pm 0,05	0,14 \pm 0,06	0,19 \pm 0,09	0,23 \pm 0,09
(<i>Z</i>)-Verbenol	1189	0,67 \pm 0,45	0,54 \pm 0,20	0,77 \pm 0,39	0,92 \pm 0,29
Borneol	1211	1,41 \pm 1,00	8,77 \pm 5,23	2,61 \pm 2,42	6,22 \pm 6,32
Terpinen-4-ol	1220	0,73 \pm 0,27	0,63 \pm 0,09	0,79 \pm 0,49	0,62 \pm 0,21
p-Cimen-8-ol	1227	0,17 \pm 0,04	0,14 \pm 0,04	0,24 \pm 0,04	0,20 \pm 0,09
α -Terpineol	1231	0,66 \pm 0,34	0,42 \pm 0,09	0,76 \pm 0,52	0,70 \pm 0,47
Espatuleno	1640	0,31 \pm 0,15	0,32 \pm 0,18	0,39 \pm 0,26	0,36 \pm 0,13
Aldehídos					
Mirtenal + Dihidrocarvona	1235	0,14 \pm 0,07	0,11 \pm 0,04	0,16 \pm 0,05	0,17 \pm 0,14
Decanal	1243	0,13 \pm 0,09	0,11 \pm 0,06	0,21 \pm 0,14	0,22 \pm 0,19
Geranial + Perialdehído	1292	0,18 \pm 0,14	0,12 \pm 0,06	0,15 \pm 0,04	0,19 \pm 0,10
Cetonas					
3-Octanona	1019	0,08 \pm 0,05	0,09 \pm 0,02	0,05 \pm 0,04	0,11 \pm 0,08
Alcanfor	1193	0,96 \pm 0,56	1,31 \pm 0,39	1,07 \pm 0,22	1,57 \pm 0,79
Verbenona	1245	4,17 \pm 2,84	2,18 \pm 1,18	3,63 \pm 1,53	4,32 \pm 1,08
Éster					
Acetato de bornilo	1302	0,12 \pm 0,08	0,18 \pm 0,12	0,06 \pm 0,01	0,30 \pm 0,37

Tabla III.1-17 (continuación)

COMPONENTES	I. R.	% ETo			
		80	60	40	20
Fenoles					
Éter metílico de timol	1265	0,60 ± 0,48	0,05 ± 0,03	0,31 ± 0,41	0,72 ± 0,97
Éter metílico de carvacrol	1272	0,30 ± 0,17	0,40 ± 0,40	0,07 ± 0,04	0,12 ± 0,07
Timol	1308	30,14 ± 3,68	24,14 ± 4,59	22,94 ± 4,84	28,34 ± 6,56
Carvacrol	1314	1,82 ± 0,31	1,46 ± 0,34	1,63 ± 0,37	1,91 ± 0,54
Epóxido					
Óxido de cariofileno	1650	0,26 ± 0,17	0,27 ± 0,04	0,23 ± 0,06	0,21 ± 0,13
Éter					
1,8-Cineol	1076	2,79 ± 3,80	1,37 ± 1,37	4,13 ± 4,54	3,25 ± 4,40

^a Valores con idéntico superíndice en la misma línea no presentan diferencias estadísticamente significativas, de acuerdo con el test de la Menor Diferencia Significativa de Fisher ($P < 0,05$).

± Desviación estándar.

* Identificación tentativa.

I. R. Índices de Kovats (HP-5).

Y las cetonas muestran mejores promedios en la recolección de junio si se aplica el aporte hídrico más bajo. Por su parte, el acetato de bornilo incrementa su presencia en el aceite esencial en primavera con todos los tratamientos, salvo el 40% de la ETo.

El timol, por el contrario, es menos abundante en la recolección de primavera, y el mejor promedio en esta recolección se obtiene con el nivel de agua más alto, aunque no es significativamente diferente del resto. En este punto se debe mencionar que en primavera de 2002, el resultado conseguido con dicho aporte hídrico es significativamente superior a los alcanzados con los otros tratamientos.

Lo que ocurre es que este fenol ha incrementado su concentración en la segunda recolección de 2004 respecto a la de 2002 especialmente con el 60, 40 y 20% de la ETo, por lo que los porcentajes obtenidos en este tercer año de ensayo están bastante ponderados, compensándose las diferencias observadas en 2002.

En la Figura III.1–11 se puede apreciar el comportamiento de las plantas en cuanto a la síntesis de timol en función del riego.

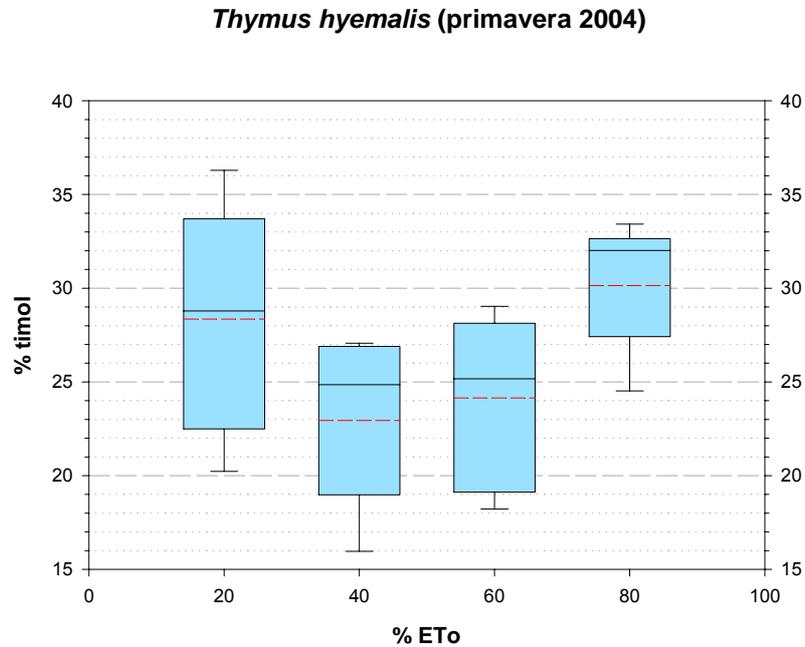


Fig. III.1–11. Distribución de las plantas según su contenido en timol.

En este caso, con el menor suplemento de agua, el valor de la mediana corresponde a una concentración de timol del 28,8%, y con el aporte hídrico más elevado tal valor se sitúa en el 32,0%. Los resultados obtenidos con el 60 y 40% de la ETo son semejantes, determinándose para la mitad de las plantas en ambos tratamientos una concentración de timol igual o inferior al 25%.

Al igual que sucede con el timol, la síntesis de carvacrol no se muestra afectada por el riego en 2004.

Se puede concluir, por todo ello, que la tendencia de las plantas hacia el equilibrio entre tratamientos a medida que transcurre el tiempo también se hace patente en primavera, por lo que en 2004, a diferencia de 2002, la ausencia de diferencias significativas implica que no es

necesario un aporte hídrico elevado para conseguir una buena calidad en el aceite esencial.

Por otra parte, en 2004, de la misma forma que en el primer año de ensayo, se ha realizado un análisis comparativo con los componentes volátiles más abundantes, a fin de determinar si las diferencias entre las concentraciones de invierno y primavera son o no significativas. Los resultados de ese análisis se muestran en la Tabla III.1–18.

Tabla III.1–18. Análisis estadístico comparativo invierno/primavera 2004.

Componentes	% ETo			
	80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Mirceno	ND	ND	ND	ND
p-Cimeno	ND	ND	ND	ND
γ-Terpineno	ND	ND	ND	ND
(E)-Hidrato de sabineno	ND	ND	ND	ND
(Z)-Hidrato de sabineno	ND	ND	ND	ND
Linalol	ND	ND	ND	ND
Alcanfor	ND	ND	ND	ND
Borneol	ND	ND	ND	ND
α-Terpineol	ND	ND	ND	ND
Verbenona	ND	ND	ND	ND
Timol	ND	ND	D	ND
Carvacrol	ND	ND	ND	ND

D = Diferencias estadísticamente significativas entre estaciones ($p < 0,05$).
 ND = No existen diferencias.

En la gran mayoría de componentes los resultados son equiparables en las dos recolecciones, y el incremento en la concentración de timol en invierno respecto a primavera es sólo significativo con el aporte hídrico equivalente al 40% de la ETo. Todo ello confirma que, en este tercer año de ensayo, también en primavera es posible dedicar la cosecha a la obtención de un aceite esencial de

excelentes propiedades con un escaso riego, por lo que la segunda cosecha que presenta esta planta en condiciones de cultivo es interesante ya que asegura una producción adicional de aceite y hoja al agricultor.

Como nota de interés, podemos incluir aquí un apunte sobre el comportamiento específico de algunas plantas en lo referente a la síntesis de compuestos al cambiar de estación. En concreto, se ha detectado que el descenso en timol en la segunda recolección es muy acusado en determinados casos, pudiendo reducirse incluso hasta la mitad, y en algún individuo aumenta notablemente la presencia de linalol o borneol en primavera, descendiendo la concentración de timol.

Las condiciones ambientales y el hecho de realizar dos cortes al año afectan, por lo tanto, a la síntesis de componentes volátiles por parte de estas plantas, siendo esto particularmente evidente en algunas de ellas.

C) Evolución de la influencia del riego en la síntesis de fenoles.

Dada la importancia que actualmente tienen los compuestos fenólicos en el mercado de plantas aromáticas, estudiar el grado de incidencia de las siegas periódicas sobre su producción, es un punto necesario para determinar el interés que pueden tener estas plantas para ser consideradas como un cultivo rentable.

Para una correcta visualización de estos datos, se representan gráficamente, en función del aporte hídrico recibido por las plantas, los porcentajes de timol y carvacrol detectados en los diferentes análisis cromatográficos. Se han empleado con este fin aquellos tomillos para los cuales se ha determinado un quimiotipo timol simple, cuyo perfil volátil se muestra en las Tablas III.1–11, III.1–12, III.1–14, III.1–16 y III.1–17.

En la Figura III.1–12 aparece la evolución de estos componentes correspondiente a las recolecciones de invierno de *Th. hyemalis*.

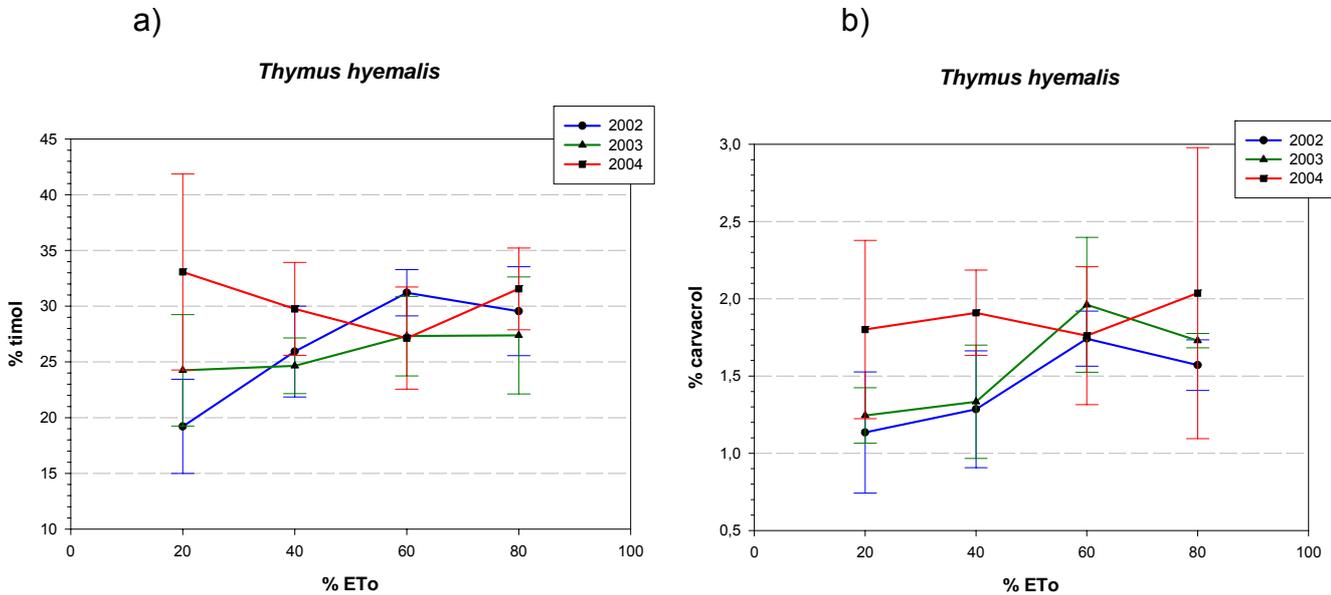


Fig. III.1–12. Evolución de la síntesis de compuestos fenólicos (invierno).

El timol (Figura III.1–12a) eleva en 2004 el promedio alcanzado respecto a 2002 y 2003 con todos los tratamientos, excepto con el 60% de la ET0. La subida es particularmente relevante en el caso del aporte hídrico más bajo, de forma que los porcentajes alcanzados por este fenol en 2004 con el 20% de la ET0 son significativamente superiores a los de los dos años precedentes. Esto es muy importante, ya que confirma que el timol aumenta de forma manifiesta su presencia en el aceite esencial, a medida que pasa el tiempo, cuando a las plantas se les suministra el riego más reducido.

Es interesante destacar que la tendencia observada en la gráfica correspondiente a este componente es prácticamente opuesta en 2002 y 2004, lo que permite apreciar ciertamente la rectificación progresiva de la respuesta de estas plantas ante los distintos suministros de agua.

En el caso del carvacrol (Figura III.1–12b), los riegos equivalentes al 80 y 60% de la ETo tienen un efecto comparable los tres años de estudio, pero los aportes hídricos más bajos afectan a la síntesis de este componente a medida que transcurren las cosechas, ya que los resultados conseguidos en 2004 con el riego necesario para compensar el 40% de la ETo son significativamente superiores a los de 2002 y 2003, en tanto que con el 20%, los porcentajes del último año mejoran significativamente a los del primero.

En *Th. hyemalis*, la trayectoria seguida en cuanto a la producción de timol y carvacrol en función del riego, muestra un cierto paralelismo en 2002 y 2003, con valores que aumentan a medida que se incrementa el riego hasta el 60% de la ETo, y descienden o se mantienen entre el 60 y el 80%. En 2004, sin embargo, la tendencia cambia, invirtiéndose claramente en el caso del timol, en tanto que el carvacrol modifica su respuesta respecto a años anteriores cuando la cantidad de agua se eleva por encima del 40% de la ETo. Esto lleva a pensar que la síntesis de ambos fenoles a partir de p-cimeno acaba viéndose favorecida con suplementos hídricos escasos, ya que los porcentajes determinados en 2004 con niveles bajos de agua mejoran sustancialmente los de años anteriores. Si recordamos que a partir de 2003 ya no hay diferencias significativas entre tratamientos en cuanto a la producción de timol, podemos concluir que en una plantación establecida, un elevado aporte hídrico no mejora la calidad de estos aceites, lo cual se hace patente ya en el segundo año de ensayo.

Por lo que respecta a la primavera, recolección que sólo se considera en 2002 y 2004, la síntesis de timol (Figura III.1–13a) no muestra diferencias al comparar los valores de los dos años cuando a las plantas se les suministran los mayores aportes hídricos, sin embargo, si esos riegos se reducen hasta el 40 y 20% de la ETo, los resultados de 2004 son significativamente superiores a los de 2002.

El carvacrol (Figura III.1–13b) sólo muestra diferencias entre los dos años con el riego equivalente al 40% de la ETo, con el que se obtienen resultados significativamente mejores en 2004. Con el 20%, aunque superiores en promedio en dicho año, los porcentajes no son manifiestamente distintos en las dos recolecciones.

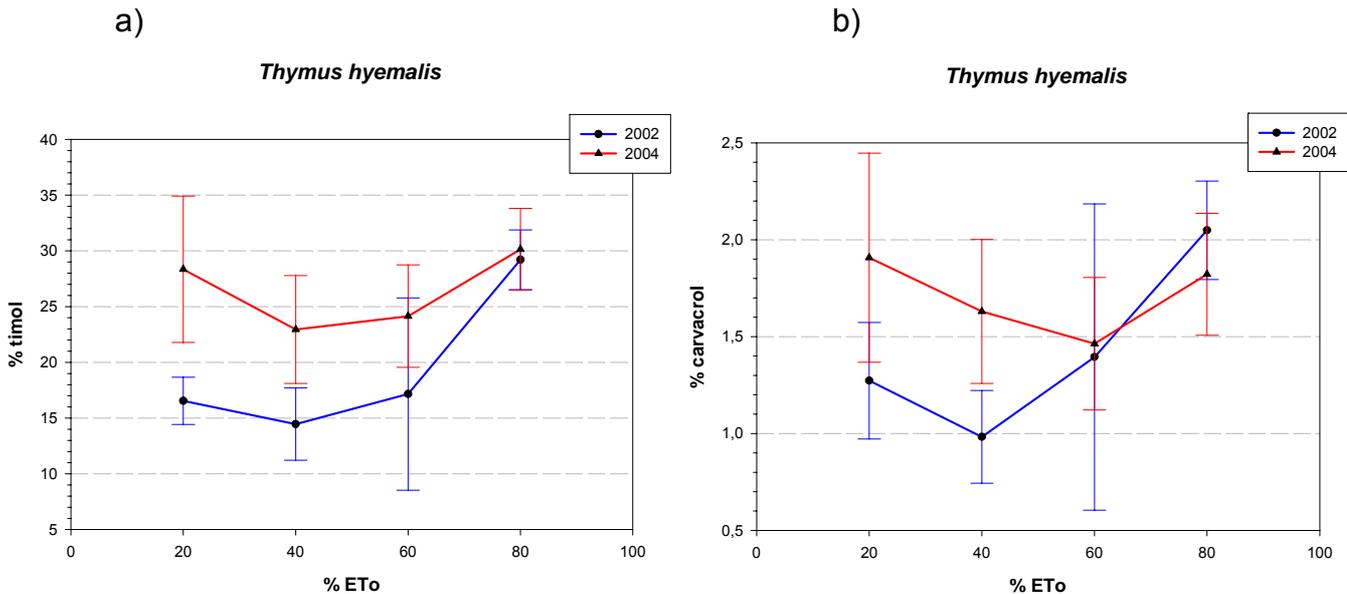


Fig. III.1–13. Evolución de la síntesis de compuestos fenólicos (primavera).

Analizado en detalle el quimiotipo timol, continuamos, de forma más resumida, con la exposición del resto de quimiovariedades encontradas en *Th. hyemalis*.

Quimiotipo fenólico, con timol $\leq 20\%$

El segundo grupo que aparece en la Tabla III.1–15 lo componen individuos con quimiotipo fenólico, pero con una concentración de timol que oscila entre el 12 y el 20%, inferior a la que presentan las plantas del apartado precedente, y un contenido en carvacrol del 0,9 al 5,5%. Estos tomillos suponen el 16,51% de la población, y se caracterizan por mostrar

altas concentraciones de los precursores p-cimeno y γ -terpineno (hasta un 45% con la suma de ambos), características de los quimiotipos fenólicos, pero también muestran porcentajes elevados de otros componentes, como α -pineno (2,2–6,7%), canfeno (1,2–3,5%), 1,8-cineol (2,3–7,4%), (*E*)-hidrato de sabineno (2,3–13,0%), (*Z*)-hidrato de sabineno (2,8–8,1%), linalol (2,3–8,0%), borneol (2,4–11,4%), terpinen-4-ol (2,6–7,0%), y verbenona (2,8–9,0%). La presencia en cantidades relativamente altas de todos estos componentes origina un descenso en el porcentaje de timol detectado por el cromatógrafo, aunque continúa siendo el componente mayoritario.

Quimiotipo fenólico, con timol \leq 20%, y precursores elevados

La tercera categoría está constituida por plantas que manifiestan igualmente quimiotipo fenólico, pero con una presencia dominante de ambos precursores, especialmente p-cimeno. Estas plantas representan un porcentaje del 7,34%, y en ellas el timol se encuentra en una proporción fijada entre el 10 y el 20%. Estos individuos se han considerado en un grupo separado de los anteriores porque en ellos, la suma de p-cimeno y γ -terpineno supera el 50% del porcentaje de área, pudiendo alcanzar casi el 70% en algún caso. El p-cimeno es el constituyente más abundante en estas plantas, mostrando una concentración que se sitúa entre el 30 y el 50%. El γ -terpineno suele estar en menor concentración, oscilando entre 5 y 27%. Ambos terpenos mantienen sus niveles elevados independientemente del estado fenológico de la planta, por lo que parece que se trata de tomillos que no son capaces de sintetizar altas cantidades de timol a partir de sus precursores.

A modo de ejemplo, podemos ver la evolución de una de estas plantas en dos recolecciones diferentes: invierno de 2003 e invierno de 2004.

	<i>Inv 03</i>	<i>Inv 04</i>
Estado fenológico	FL-fr	FL-FR
p-cimeno	57,2%	48,9%
γ-terpineno	4,7%	9,4%
Timol	9,2%	13,8%

FL: floración

FR: fructificación; fr: fructificación apenas iniciada

Como se puede apreciar, el contenido en timol varía levemente de un año a otro, incrementándose su cantidad en 2004, pero sin alcanzar concentraciones elevadas. Es importante recordar que estas plantas se deben recolectar cuando se encuentran en floración-fructificación, ya que este es el estado fenológico más adecuado tanto en lo referente a la producción de biomasa como al rendimiento y calidad del aceite esencial (Sotomayor, 1998; Jordán *et al.*, 2006). Teniendo esto en cuenta, se observa que los porcentajes de p-cimeno y γ-terpineno se muestran diferentes los dos años. Tales diferencias pueden ser debidas a que la planta se encontrase en 2003 en un momento más temprano de su ciclo fenológico, habiendo transcurrido menos tiempo desde el inicio de la fructificación que en 2004 en el momento de su recolección, por lo que en dicho año la ruta que conduce a la síntesis de timol a partir de p-cimeno se ha completado, de ahí el mayor contenido en el fenol, y el porcentaje más bajo de su precursor inmediato, y por otra parte, se está comenzando a sintetizar más γ-terpineno, preparando un nuevo ciclo.

Quimiotipo mixto α-terpineol/timol

Con este quimiotipo encontramos un 6,42% de la población. Estas plantas se caracterizan por presentar un porcentaje elevado de ambos componentes, mostrando un perfil volátil que se puede resumir como se presenta en la Tabla III.1–19, en la que aparecen únicamente aquellos constituyentes que en algún caso alcanzan una concentración superior al

1%, con los valores máximos y mínimos que presentan entre las distintas plantas.

Proporciones relativas de α -terpineol tan elevadas como los que se muestran aquí no han sido detectadas por Sotomayor (1998), ni por Sáez (1996). Este último autor encuentra cantidades relativas de este alcohol que oscilan entre 0 y 16,1%.

Tabla III.1–19. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. hyemalis*, quimiotipo mixto α -terpineol/timol.

Componentes	Concentración (%)
α -Pino	0,28 – 2,07
Mirceno	1,01 – 1,73
α -Terpineno	1,14 – 2,35
p-Cimeno	11,44 – 25,01
Limoneno	0,81 – 1,46
(<i>E</i>)- β -Ocimeno*	0,03 – 2,09
γ -Terpineno	6,25 – 14,65
(<i>E</i>)-Hidrato de sabineno	0,39 – 8,46
(<i>Z</i>)-Hidrato de sabineno*	0,11 – 7,04
Borneol	0,31 – 4,79
Terpinen-4-ol	0,34 – 5,49
α -Terpineol	15,12 – 28,68
Verbenona	1,82 – 3,76
Éter metílico de carvacrol	0,04 – 1,05
Timol	15,19 – 22,65
Carvacrol	0,66 – 1,55

* Identificación tentativa.

Como se puede observar en la tabla precedente, los alcoholes (*E*) y (*Z*)-hidrato de sabineno, borneol y terpinen-4-ol también aparecen en porcentajes relativamente altos en las plantas que poseen este quimiotipo, aunque muestran una notable variación entre los tomillos analizados, oscilando entre cantidades mínimas y concentraciones

importantes. La verbenona, componente característico de esta especie, tiene igualmente una presencia marcada en estos aceites.

Quimiotipo linalol

Se presenta en el 5,50% de los casos, y ha sido determinado también por Sáez (1995b). Muestra como componente mayoritario este alcohol, distinguiéndose entre un quimiotipo linalol puro, con cantidades que pueden alcanzar hasta el 74% para este constituyente, y un quimiotipo mixto linalol/acetato de linalilo. La designación de un quimiotipo u otro depende de las concentraciones relativas de ambos componentes.

El primero es más frecuente, presentándose en cuatro de las seis plantas que se han encontrado con esta variedad química, aunque porcentajes de linalol que alcancen el 74% no son usuales, ya que sólo lo hemos encontrado en una de las muestras analizadas.

Los terpenos α -pineno y mirceno son también abundantes en estas plantas, además de p-cimeno y γ -terpineno, compuestos frecuentes en la naturaleza aunque no se trate de quimiotipos fenólicos.

La cosecha de invierno proporciona el siguiente resultado:

Tabla III.1–20. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. hyemalis*, quimiotipo linalol.

Componentes	Concentración (%)
α -Pineno	0,15 – 2,04
Mirceno	0,37 – 2,29
p-Cimeno	2,67 – 21,71
Limoneno	0,31 – 1,60
1,8-Cineol	0,01 – 2,94
(<i>E</i>)- β -Ocimeno*	0,02 – 1,29
γ -Terpineno	1,22 – 7,19
Linalol	22,89 – 74,27
Borneol	0,44 – 8,73

Tabla III.1–20 (continuación)

Componentes	Concentración (%)
Terpinen-4-ol	0,16 – 1,52
α -Terpineol	0,18 – 6,03
Verbenona	0,70 – 5,44
Éter metílico de carvacrol	0,02 – 1,34
Geraniol + Acetato de linalilo	0,09 – 26,89
Timol	2,21 – 12,06
Carvacrol	0,08 – 1,18
Acetato de geranilo	0,02 – 2,97
(<i>E</i>)-Cariofileno	0,27 – 1,93

* Identificación tentativa.

Los tomillos con este quimiotipo recolectados en primavera ven disminuido su contenido en linalol respecto a invierno.

Quimiotipo carvacrol

Las plantas que presentan este fenol como componente más abundante suponen el 3,67% de las analizadas. Este quimiotipo aparece en plantas aisladas entre aquellas que contiene timol (Sáez, 1995b).

Los fenoles están ampliamente representados en el género *Thymus*, con el timol como componente más importante en la mayoría de plantas, en tanto que el carvacrol aparece como constituyente mayoritario en un número bastante inferior de individuos. Su precursor común p-cimeno conduce a la síntesis de timol o carvacrol, que se suelen encontrar juntos en la mayoría de las ocasiones, generalmente con la dominancia de uno de ellos. El que predomine un componente u otro está controlado genéticamente, dependiendo de la activación o inhibición de determinadas enzimas de la cadena biosintética de la que ambos son productos finales (Stahl-Biskup, 1991).

Los componentes más destacados encontrados entre estas plantas son:

Tabla III.1–21. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. hyemalis*, quimiotipo carvacrol.

Componentes	Concentración (%)
α -Tujeno*	0,85 – 2,14
α -Pino	0,85 – 2,38
Canfeno	0,57 – 1,92
Mirceno	0,94 – 8,94
α -Terpineno	1,23 – 2,23
p-Cimeno	11,67 – 26,45
Limoneno	0,67 – 1,83
1,8-Cineol	0,02 – 2,19
(<i>E</i>)- β -Ocimeno*	0,05 – 2,22
γ -Terpineno	7,63 – 17,99
(<i>E</i>)-Hidrato de sabineno	0,40 – 3,86
(<i>Z</i>)-Hidrato de sabineno*	0,11 – 6,38
Linalol	0,37 – 2,11
Alcanfor	0,63 – 1,26
Borneol	1,83 – 6,43
Terpinen-4-ol	0,36 – 4,46
Verbenona	1,25 – 3,31
Éter metílico de carvacrol	0,22 – 1,42
Timol	0,35 – 4,79
Carvacrol	20,88 – 40,11

* Identificación tentativa.

En la segunda recolección se aprecia en general un descenso en el contenido de ambos fenoles, más señalada en el caso del timol.

Quimiotipo mixto, borneol/timol

Determinado en el 2,75% de las plantas analizadas, este quimiotipo mixto se caracteriza por presentar una alta concentración de ambos

componentes, que en uno de los casos es bastante similar, en tanto que en los otros dos tomillos encontrados con este quimiotipo el borneol es más abundante que el timol.

Los aceites de estas plantas muestran un perfil volátil que se resume en la Tabla II.1–22.

La presencia del precursor p-cimeno en estos aceites supera a la del timol, y en una de las muestras, el linalol alcanza un porcentaje muy similar al del fenol.

Tabla III.1–22. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. hyemalis*, quimiotipo mixto borneol/timol.

Componentes	Concentración (%)
α -Pino	0,62 – 3,66
Canfeno	4,33 – 5,54
Mirceno	0,55 – 1,04
α -Terpineno	0,49 – 1,94
p-Cimeno	10,00 – 24,58
Limoneno	0,89 – 1,93
(<i>E</i>)- β -Ocimeno*	0,01 – 1,93
γ -Terpineno	3,49 – 11,44
(<i>E</i>)-Hidrato de sabineno	0,54 – 6,49
Linalol	0,82 – 11,23
Alcanfor	1,69 – 2,94
Borneol	14,72 – 17,84
Terpinen-4-ol	0,83 – 4,46
α -Terpineol	0,23 – 4,70
Verbenona	3,09 – 4,99
Éter metílico de timol	0,14 – 1,30
Timol	9,79 – 17,27
Carvacrol	0,98 – 5,44

* Identificación tentativa.

Sáez (1996), también encuentra niveles elevados de borneol (hasta 18,1%) en individuos con altas concentraciones de timol y, especialmente, de ambos precursores fenólicos. Por su parte, Jiménez *et al.* (1989)

apuntan a la existencia de una ruta biosintética preferente, cuyo producto final serían los fenoles, y una segunda vía que conduce a la formación de borneol.

Es interesante mencionar que en estas plantas, la relación borneol/timol varía en primavera respecto a invierno, desplazándose en la segunda recolección hacia un mayor contenido en timol. Es posible, a falta de más ensayos, que en estos tomillos se active en primavera la síntesis de timol en respuesta a la temperatura más elevada de esta estación. Por eso pasaría de tener un quimiotipo mixto en invierno a un quimiotipo simple en primavera, con el fenol como componente destacado. En las plantas cuyo perfil se muestra en las Tablas III.1–16 y III.1–17, que presentan en invierno y en primavera el timol como constituyente mayoritario, éste disminuye su concentración en la segunda recolección, lo cual contradice lo anterior. Sin embargo, se debe considerar que en primavera las plantas disponen de menos tiempo para completar su ciclo fenológico, y la etapa de floración-fructificación, en la que se suele encontrar el máximo contenido en timol, es más corta, acelerándose la entrada en plena fructificación, por lo que la síntesis de timol no puede alcanzar los porcentajes de invierno. Las plantas con quimiotipo mixto, cuyo porcentaje de timol no es tan elevado en invierno, sí podrían alcanzar concentraciones más altas de este componente en primavera.

Quimiotipo mixto, linalol/timol

Estos tomillos representan el 1,83% de la población analizada. En ellos, también α -pineno, 1,8-cineol y borneol alcanzan valores elevados, así como terpenos menos volátiles, como (*E*)-cariofileno y valenceno.

En la Tabla III.1–23, en la que se muestra el perfil volátil de las dos plantas estudiadas, es posible observar que los porcentajes de linalol y timol son bastante parecidos en los tomillos que manifiestan este quimiotipo.

Tabla III.1–23. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. hyemalis*, quimiotipo mixto linalol/timol.

Componentes	Concentración (%)	
	Muestra 1	Muestra 2
α-Pineno	2,18	2,67
Canfeno	1,44	1,23
Mirceno	0,86	1,41
α-Terpineno	0,57	1,05
p-Cimeno	13,87	16,38
Limoneno	0,84	1,56
1,8-Cineol	12,58	5,38
(<i>E</i>)-β-Ocimeno*	0,05	1,47
γ-Terpineno	4,52	9,78
Linalol	18,56	16,62
Alcanfor	1,36	1,06
Borneol	6,17	4,67
α-Terpineol	1,44	0,98
Verbenona	4,09	4,75
Éter metílico de carvacrol	1,16	1,20
Timol	15,02	16,50
Carvacrol	0,45	0,29
(<i>E</i>)-Cariofileno	0,95	2,07
Valenceno	1,03	0,65

* Identificación tentativa.

En primavera se pudo analizar de nuevo una de estas plantas (muestra 2), advirtiéndose un marcado descenso en su contenido en linalol (5,89%). También baja, aunque de forma más ligera, el porcentaje de timol (13,60%). El 1,8-cineol reduce igualmente de forma notable su presencia en el aceite en primavera (0,02%), en tanto que se elevan las concentraciones de (*E*)-hidrato de sabineno (de 0,40 a 1,56%), (*Z*)-hidrato de sabineno (de 0,10 a 2,24%) y terpinen-4-ol (de 0,43 a 3,52%).

Quimiotipo α -terpineol

Esta variedad química se presenta en un porcentaje de plantas idéntico al anterior, 1,83%. En este quimiotipo, a diferencia del mixto α -terpineol/timol, la concentración del alcohol es claramente superior a la del fenol.

La presencia de precursores fenólicos también destaca en estos aceites esenciales, junto al linalol y 1,8-cineol, que pueden alcanzar una proporción superior al 4%. En la siguiente tabla se representa la concentración relativa de los principales constituyentes de las dos muestras recolectadas.

Tabla III.1–24. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. hyemalis*, quimiotipo α -terpineol.

Componentes	Concentración (%)	
	Muestra 1	Muestra 2
α -Pino	1,14	0,21
Mirceno	1,87	1,60
p-Cimeno	22,39	8,00
Limoneno	1,58	0,59
1,8-Cineol	4,06	1,95
(<i>E</i>)- β -Ocimeno*	1,60	3,11
γ -Terpineno	7,34	7,85
Linalol	3,98	4,06
Borneol	2,34	2,67
α -Terpineol	30,95	48,73
Verbenona	3,77	0,72
Timol	5,38	11,36
Carvacrol	0,42	0,20

* Identificación tentativa.

Plantas con este quimiotipo no pudieron ser recolectadas en primavera.

Quimiotipos cuyo porcentaje no supera el 0,92%

Los cuatro últimos grupos de la Tabla III.1–15 se van a considerar en el mismo apartado, ya que su baja presencia en la población puede indicar que no se trata de variedades químicas, sino de hibridaciones puntuales con otras especies de tomillo.

- El quimiotipo *1,8-cineol* ha sido encontrado en *Th. hyemalis* por otros autores, como Cabo *et al.* (1986) y Cabo *et al.* (1987), que definen este componente como el más importante en plantas recolectadas en Almería y Granada, con un porcentaje que oscila entre 13,3 y 26,8%, en función de la zona y la época de recolección. Parece, por lo tanto, que se trata realmente de una variedad química definida, aunque no muy frecuente en la zona del Campo de Cartagena, de donde proceden las semillas empleadas en el presente estudio.

En los trabajos previos citados aparecen, además, cantidades elevadas de mirceno (hasta 31,3%), linalol (hasta 7,3%) y alcanfor (hasta 20,9%). Esos mismos componentes no alcanzan concentraciones tan elevadas en la muestra recolectada en nuestra parcela, detectándose porcentajes de 1,27%, 0,56%, y 0,62%, respectivamente, para cada uno de ellos.

En nuestro caso, el aceite esencial analizado se caracteriza por una presencia importante de eucaliptol, además de α -pineno, α -terpineol y timol, como puede verse en la tabla que se incluye en este apartado.

La distribución de los componentes más abundantes quedaría de la siguiente forma:

Tabla III.1–25. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. hyemalis*, quimiotipo 1,8-cineol.

Componentes	Concentración (%)
α -Pinoeno	5,79
β -Pinoeno	2,17
Mirceno	1,27
p-Cimeno	19,53
1,8-Cineol	29,57
γ -Terpineno	7,10
Borneol	2,58
α -Terpineol	8,60
Verbenona	1,41
Timol	8,80
Carvacrol	0,96

• El quimiotipo mixto binario *carvacrol/(E)-hidrato de sabineno* encontrado podría deberse a la introgresión con *Th. baeticus*, especie que convive con *Th. hyemalis*. La planta en la que se determina este perfil volátil se recolectó tanto en invierno como en primavera (Tabla III.1–26).

La cantidad de carvacrol y sus precursores es semejante en las dos recolecciones, con variaciones apenas reseñables.

Tabla III.1–26. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. hyemalis*, quimiotipo mixto carvacrol/(E)-hidrato de sabineno.

Componentes	Concentración (%)	
	Inv.	Prim.
α -Pinoeno	5,32	5,84
α -Terpineno	2,62	3,56
p-Cimeno	14,46	13,10
Limoneno	2,88	3,30
γ -Terpineno	15,48	17,04
(E)-Hidrato de sabineno	10,09	4,69
Linalol	4,36	4,25
Borneol	3,62	2,59
Terpinen-4-ol	6,52	10,83

Tabla III.1–26 (continuación)

Componentes	Concentración (%)	
	Inv.	Prim.
Verbenona	6,14	4,69
Timol	0,19	0,15
Carvacrol	8,86	10,01

Por otra parte, esta planta ilustra la correlación existente entre (*E*)-hidrato de sabineno y terpinen-4-ol, con porcentajes que pasan de 10,1 y 6,5%, respectivamente, en invierno, a 4,7 y 10,8% en primavera, es decir, cuando uno de estos compuestos incrementa su presencia en el aceite, el otro la reduce, por lo que parece confirmarse que terpinen-4-ol es precursor de (*E*)-hidrato de sabineno (Sotomayor, 1998).

- Otro quimiotipo mixto, *linalol/α-terpineol*, se detecta también en una sola planta, aunque los quimiotipos simples determinados por los dos alcoholes por separado son más abundantes. Los componentes más importantes en este tomillo son los que aparecen en la Tabla III.1–27.

Tabla III.1–27. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. hyemalis*, quimiotipo mixto linalol/α-terpineol.

Componentes	Concentración (%)
α-Pineno	2,13
p-Cimeno	9,62
γ-Terpineno	6,42
(<i>E</i>)-Hidrato de sabineno	2,82
Linalol	19,08
Terpinen-4-ol	4,16
α-Terpineol	19,93
Verbenona	6,25
Timol	6,79
Carvacrol	0,44

- Por último, el quimiotipo mixto *mircenol/hidrato de sabineno* presenta una concentración destacada del terpeno, así como de (*E*) y (*Z*)-hidrato de sabineno. Como se ha comentado anteriormente, concentraciones tan altas de mircenol se han encontrado antes en *Th. hyemalis*, por parte de Cabo *et al.* (1986) y Cabo *et al.* (1987), en plantas ricas en 1,8-cineol.

Tabla III.1–28. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. hyemalis*, quimiotipo mixto linalol/hidrato de sabineno.

Componentes	Concentración (%)
α -Tujeno*	3,21
α -Pino	6,64
Mirceno	20,76
p-Cimeno	5,78
Limoneno	2,83
1,8-Cineol	3,27
γ -Terpineno	4,31
(<i>E</i>)-Hidrato de sabineno	7,69
(<i>Z</i>)-Hidrato de sabineno*	13,25
Terpinen-4-ol	5,68
Verbenona	4,65
Timol	3,33
Carvacrol	0,23

* Identificación tentativa.

Esta riqueza en quimiotipos justifica la importancia comercial de este tomillo, ya que su variabilidad, asociada a una elevada actividad antioxidante y antimicrobiana, le permite ofrecer numerosas opciones a las diferentes industrias, que pueden seleccionar aquellas plantas que respondan mejor a sus intereses.

En este sentido, se ha realizado un estudio de las propiedades antioxidantes de los aceites esenciales de esta especie, empleando para ello muestras pertenecientes a la recolección de 2004. Los resultados

obtenidos varían en base al perfil volátil de cada muestra (Lax *et al.*, 2007).

Por lo que respecta al quimiotipo timol, se seleccionan los aceites de tres plantas, en los cuales se observan porcentajes de este fenol del 46, 36 y 25%, determinándose para tales aceites una actividad antirradicalaria (AA) del 60, 69 y 75% respectivamente, medida en base a su capacidad de captación del radical DPPH* (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo). Como se puede ver, el poder antioxidante de estas sustancias no se relaciona directamente con un alto contenido en timol, ya que la muestra más efectiva de las tres ensayadas es la que presenta una distribución más homogénea de sus constituyentes, especialmente en lo que se refiere al timol y su precursor p-cimeno.

Por otra parte, Rota *et al.* (2008) estudian las propiedades antibacterianas de diferentes aceites esenciales, constando que el procedente de *Th. hyemalis*, con un contenido en timol del 43%, resulta ser el más activo frente a bacterias que se transmiten a través de los alimentos.

Las cualidades de estas sustancias como agentes antimicrobianos o antioxidantes se asocian generalmente a su contenido fenólico, quedando de manifiesto que lograr el óptimo de eficacia requiere concentraciones relativas de timol más o menos elevadas en función de la actividad realizada por dichas sustancias.

En el trabajo de Lax *et al.* (2007) aparecen reflejados también los resultados obtenidos con otros quimiotipos descritos en *Th. hyemalis*.

El aceite esencial rico en carvacrol, con un contenido en dicho componente del 21%, demuestra ser un excelente agente antioxidante, ya que la AA medida en este caso es del 69%, lo que parece indicar que se precisa un menor porcentaje de carvacrol que de timol, en los aceites con quimiotipo fenólico, para conseguir un resultado equiparable. Sin embargo, analizando la efectividad de ambos componentes en solitario, el timol parece ser mejor antioxidante que el carvacrol (Yanishlieva *et al.*, 1999; Youdim *et al.*, 2002). Esto confirma la existencia de relaciones

sinérgicas entre los constituyentes mayoritarios de estas sustancias y aquellos que se encuentran en menor proporción, favoreciendo estas interacciones la eficacia de los aceites ricos en carvacrol.

Para el quimiotipo mixto borneol/timol, con porcentajes del 18% para el alcohol y 12% para el fenol, se señala igualmente una capacidad de captación del DPPH• del 69%. La planta estudiada revela además un alto contenido en linalol (11%).

Con relación a este alcohol, corresponde mencionar que la AA es también elevada en aceites con quimiotipo mixto linalol/timol, estimándose un valor de la misma del 67% en la muestra analizada. En dicha muestra se detectan concentraciones relativas de linalol y timol del 19 y 15% respectivamente, presentando también una cantidad de 1,8-cineol del 13%.

La efectividad disminuye en los tomillos con quimiotipo linalol puro. Un porcentaje de este alcohol del 74%, con una proporción de timol del 4%, manifiesta un poder de captación del radical DPPH• del 41%. El menor contenido fenólico es el principal responsable de este descenso.

Lo mismo ocurre con el α -terpineol, ya que aceites con un porcentaje mayoritario de este alcohol (cercano al 49%) no son tan buenos agentes antioxidantes como aquellos caracterizados con un quimiotipo mixto α -terpineol/timol, con una cantidad relativa del 15% para ambos componentes, y una AA del 58%, frente al 49% del quimiotipo puro.

Para terminar, con los datos reflejados en este trabajo ha quedado de manifiesto la necesidad de realizar una selección de estos tomillos previa a la plantación, tanto para generar plantas resistentes a las siegas como para asegurar la calidad del aceite esencial y ofrecer un contenido en timol, componente más apreciado, adecuado a las exigencias del mercado.

III. 1. *THYMUS HYEMALIS*.

A pesar del importante contenido fenólico que puede presentar su aceite esencial, *Th. hyemalis* no se cultiva habitualmente con fines comerciales, siendo su recolección en el monte la principal fuente de este tomillo en el mercado de las plantas aromáticas, lo que supone una dificultad a la hora de asegurar la calidad del producto presentado, debido a la gran variabilidad que presenta esta especie. Dado su potencial interés económico, se han establecido cultivos experimentales previos de esta labiada por parte de Sánchez Gómez *et al.* (1989) y Sotomayor (1998), ambos en condiciones de secano; y Sotomayor *et al.* (2001), en regadío.

En el presente ensayo hemos comprobado que esta especie produce dos cosechas anuales cuando se cultiva con regadío, ya que tras realizar una primera siega en invierno, su momento natural de floración, se origina un nuevo ciclo de desarrollo de la planta que culmina en primavera. Esto también puede ocurrir en plantas que crecen en estado silvestre, aunque únicamente cuando se dan inviernos suaves y primaveras lluviosas.

En general, las recolecciones de primavera generan menor cantidad de biomasa y aceite esencial, siendo este aceite además, en promedio, menos rico en compuestos fenólicos.

III. 1. 1. EFECTO DE LAS SIEGAS SOBRE LA SUPERVIVENCIA DE LAS PLANTAS.

En primer lugar, analizamos las marras ocasionadas con los distintos tratamientos hídricos a lo largo de los tres años que comprende el ensayo (Tabla III.1-1). En esta tabla queda de manifiesto que suministrar un escaso riego a esta especie favorece su asentamiento en el terreno, dado que el porcentaje de marras observado el tercer año de

ensayo, con una cantidad de agua equivalente al 20% de la ETo, es inferior al que nos encontramos en 2002, con menos cortes, en los otros tres tratamientos.

Tabla III.1-1. Porcentaje de marras ocasionadas a lo largo de los tres años de cultivo.

	% ETo			
	80	60	40	20
	% marras			
2002	58	55	46	19
2003	66	62	54	29
2004	71	65	64	42

Estos mismos resultados se pueden apreciar gráficamente en la Figura III.1-1, donde están representadas las plantas de *Th. hyemalis* que han persistido por tratamientos y años.

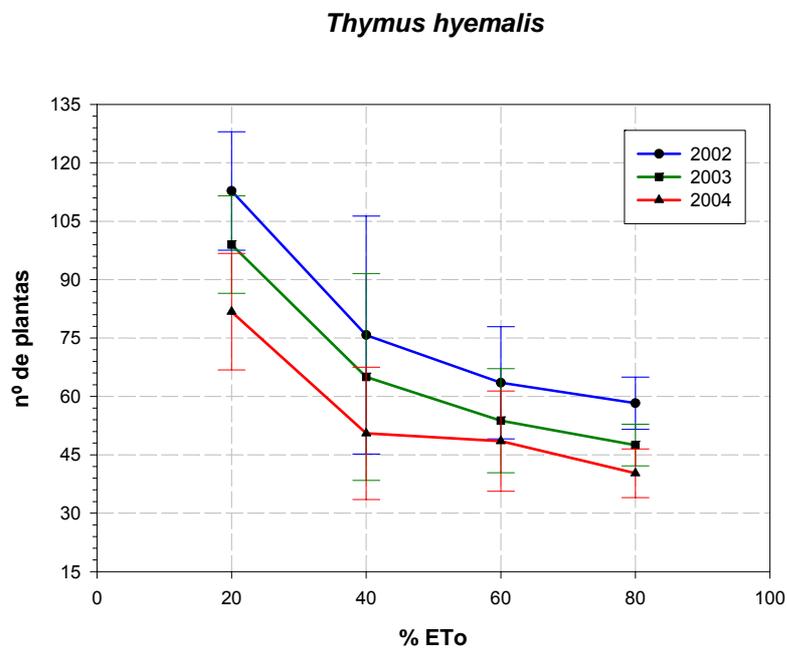


Fig. III.1-1. Número de plantas vivas, en función de la ETo, encontradas en los tres años de estudio.

Estas plantas han sido contadas siempre en los meses de verano, tras la segunda recolección. Se debe recordar que el número inicial de plantas es de 140 por subparcela.

Como se puede distinguir en la figura anterior, tras cada recolección hay un determinado número de plantas que no consigue rebrotar, siendo además evidente en cada año que el número de plantas vivas disminuye a medida que aumenta la cantidad de agua aportada a la plantación.

III. 1. 2. PRODUCCIÓN DE BIOMASA.

Los datos de producción reflejados en este apartado se refieren especialmente a los Kg de material vegetal desecado obtenido a partir del producto fresco recolectado en la parcela.

En primer lugar se exponen los resultados correspondientes a las recolecciones de invierno de los tres años que comprende el estudio, para detallar a continuación los rendimientos cosechados en primavera.

Los valores que se presentan entre paréntesis, tras cada porcentaje de la ETo, corresponden a las cantidades reales de agua que reciben las plantas, ligeramente diferentes de los valores propuestos, como ha sido detallado en la sección Material y Métodos.

III. 1. 2. 1. Invierno.

La Tabla III.1–2 muestra los rendimientos obtenidos en el invierno de 2002, cuando han transcurrido casi dos años desde el momento de la plantación. Es importante recordar que esta es la cuarta recolección efectuada a estas plantas, tras un primer corte realizado en diciembre de

2000, a los siete meses de iniciarse el cultivo, y las siegas de invierno y primavera de 2001. Los tratamientos de riego diferenciado comienzan a aplicarse en julio de ese mismo año.

Tabla III.1–2. Valores de producción, en función de la ETo, correspondientes a invierno de 2002.

	% ETo			
	80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Kg MF/ha	7.518,8 ± 2.060,95	6.974,4 ± 2.043,33	6.596,9 ± 946,51	5.751,6 ± 449,72
% MS	34,85	31,83	34,17	34,46
Kg MS/ha	2.620,3 ± 718,24	2.219,9 ± 650,39	2.254,2 ± 323,42	1.982,0 ± 154,97
% HS/MS	66,67	69,56	68,83	69,23
Kg HS/ha	1.747,0 ± 478,85	1.544,2 ± 452,41	1.551,5 ± 222,61	1.372,1 ± 107,29

± Desviación estándar.

Tras ocho meses en los que las plantas han estado recibiendo diferentes aportes de agua, no existen diferencias estadísticamente significativas entre los distintos niveles de riego en la producción de fitomasa, siendo también similares los porcentajes de materia y hoja secas obtenidos con los cuatro tratamientos hídricos. Sólo el porcentaje de materia seca correspondiente al 60% de la ETo es ligeramente inferior al resto.

En esta primera recolección efectuada tras el inicio del riego diferenciado se observa, no obstante, que estas plantas tienden a elevar su producción de material en fresco a medida que aumenta la cantidad de agua que reciben, pudiéndose superar los 7.500 Kg/ha cuando se riega con el agua necesaria para compensar el 80% de la ETo. Sin el factor limitante de la disponibilidad de agua, las plantas se pueden desarrollar más y mejor, compensando así el menor número de las mismas encontrado respecto a riegos más reducidos.

En un trabajo experimental previo, desarrollado en secano, Sánchez Gómez *et al.* (1989) obtienen para *Th. hyemalis* una producción en fresco de 3.178 Kg/ha transcurrido un año desde la implantación del cultivo, y 3.376 Kg/ha en el segundo año, resultados que corresponden a una densidad de 25.000 plantas/ha.

Centrándonos en los kilos de hoja seca por hectárea, parámetro más importante desde el punto de vista comercial de los contemplados en este apartado, los más de 1.500 Kg obtenidos, 1.300 en el caso del menor aporte hídrico, son significativamente superiores a los alcanzadas por Sotomayor (1998), con un rendimiento máximo, obtenido en el tercer año de cultivo en secano, de 808 Kg/ha para esta especie, con 25.000 plantas/ha.

Sotomayor *et al.* (2001), detallan en una publicación los resultados alcanzados tras la primera recolección efectuada a las plantas objeto de esta Tesis, con un período de cultivo de tan solo siete meses. En dicha recolección aún no ha comenzado a aplicarse el riego diferenciado, recibiendo todas las plantas la cantidad de agua necesaria para compensar el 60% de la ETo. El material en fresco obtenido para *Th. hyemalis* en estas condiciones alcanza los 7.059 Kg/ha, con un rendimiento en hoja seca de 1.200 Kg/ha. A pesar del temprano estado de desarrollo de los tomillos en esta primera cosecha, el producto fresco alcanza un valor similar al conseguido en 2002 con los riegos más abundantes. Sin embargo, el rendimiento en hoja seca en 2002 es superior al citado en la mencionada publicación, incluso con un menor suministro de agua. Esto puede ser debido a que las plantas jóvenes presentan tallos más herbáceos y un menor desarrollo de la estructura foliar.

En la recolección de invierno de 2003 (Tabla III.1–3) continúan sin advertirse diferencias significativas en ningún caso, aunque se puede constatar un cambio de tendencia en la producción de fitomasa de esta

especie, ya que el mejor resultado, en promedio, obtenido tanto para el material en fresco como para la hoja seca por hectárea corresponde al menor aporte hídrico, contrariamente a lo ocurrido en 2002.

Tabla III.1–3. Valores de producción, en función de la ETo, correspondientes a invierno de 2003.

	% ETo			
	80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Kg MF/ha	6.671,3 ± 1.238,17	6.906,0 ± 3.657,28	6.772,3 ± 2.122,81	7.213,7 ± 1.607,58
% MS	38,45	39,13	36,89	33,51
Kg MS/ha	2.565,1 ± 476,08	2.702,3 ± 1.431,09	2.498,3 ± 783,10	2.417,3 ± 538,70
% HS/MS	47,99	51,11	57,03	61,56
Kg HS/ha	1.231,0 ± 228,47	1.381,2 ± 731,43	1.424,8 ± 446,60	1.488,1 ± 331,62

± Desviación estándar.

En 2003 también se aprecian mayores diferencias entre los porcentajes de materia seca relativos a los cuatro tratamientos de riego, con valores más bajos en los tratamientos que conllevan menor humedad, contrariamente a lo que cabría esperar. Este comportamiento se explica considerando que *Th. hyemalis* es un tomillo que se hace más leñoso a medida que transcurren las recolecciones, pero este efecto no es perceptible con los suplementos hídricos más escasos dado el menor tamaño que generalmente alcanzan las plantas que disponen de poca agua para su crecimiento. Sin embargo, el porcentaje de hoja seca aumenta a medida que descende la cantidad de agua que reciben las plantas. En este año, por lo tanto, con un bajo nivel de riego obtenemos menor rendimiento en materia seca, pero un mayor porcentaje de la misma corresponde a hoja.

La tendencia que empezaba a sugerirse en 2003 se hace patente en 2004 (Tabla III.1–4), cuarto año de cultivo, en el cual la producción obtenida con el aporte hídrico más bajo, tanto de material en fresco como

desecado, es significativamente superior a la perteneciente a los tratamientos de más agua. El marcado incremento en la mortalidad de estos tomillos que acompaña a los riegos elevados, acaba influyendo decisivamente en la productividad del cultivo.

Tabla III.1–4. Valores de producción, en función de la ETo, correspondientes a invierno de 2004.

	% ETo			
	80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Kg MF/ha	4.956,9 ± 722,77 ^a	6.245,6 ± 986,27 ^a	7.164,8 ± 1.606,54 ^{ab}	8.899,0 ± 2.282,08 ^b
% MS	38,28	38,27	39,26	39,71
Kg MS/ha	1.897,5 ± 276,68 ^a	2.390,2 ± 377,45 ^a	2.812,9 ± 630,73 ^{ab}	3.533,8 ± 906,21 ^b
% HS/MS	62,10	61,52	64,39	63,87
Kg HS/ha	1.178,3 ± 171,82 ^a	1.470,4 ± 232,20 ^{ab}	1.811,2 ± 406,13 ^{bc}	2.257,0 ± 578,80 ^c

^{a, b, c} Valores con distinto superíndice en la misma línea presentan diferencias estadísticamente significativas, de acuerdo con el test de la Menor Diferencia Significativa de Fisher ($P < 0,05$).
± Desviación estándar.

Los porcentajes de materia seca obtenidos con el 40 y, especialmente, el 20% de la ETo, se elevan respecto al año anterior, por lo que la estructura leñosa de *Th. hyemalis* se acentúa también con el paso del tiempo en condiciones de riego escaso.

Respecto a la hoja seca, se puede observar que los porcentajes determinados en 2004 superan también a los de 2003 con todos los tratamientos hídricos. En el último año de ensayo, suministrar a las plantas una cantidad de agua que compense el 20 ó el 40% de la ETo mejora significativamente el rendimiento en esta materia prima respecto al resultado alcanzado con el 80%.

Si bien no se encuentran diferencias en ningún caso entre administrar un riego equivalente al 40 ó al 20% de la ETo, es con este último tratamiento con el que se alcanzan los mejores promedios de

producción en esta recolección. Esta cantidad de agua, que en la práctica ha supuesto el 30% de la ETo, equivale a 370 mm anuales, sólo ligeramente superior a la pluviometría media de la zona en la que se han cultivado las plantas, que es de 308,3 mm/año.

Dado que la Región de Murcia es una zona con una manifiesta escasez de agua, estos resultados son bastante positivos desde el punto de vista del establecimiento de cultivos de esta especie de tomillo, ya que queda demostrado que estas plantas pueden ofrecer un rendimiento importante con unos requerimientos hídricos mínimos.

Los resultados de 2003 y 2004 corresponden al tercer y cuarto año de cultivo, con una plantación completamente establecida y madura, por lo que parece que son estas las máximas producciones que se pueden conseguir con las condiciones de cultivo descritas.

III. 1. 2. 2. Primavera.

El comportamiento de las plantas en la segunda recolección anual es distinto al encontrado en invierno, tanto en 2002 como en 2004.

En 2003 la parcela sufrió unas condiciones climáticas inusuales, con temperaturas muy elevadas en mayo y junio, originando una floración precipitada en plantas con escasa masa vegetativa, por lo que se ha decidido no incluir en esta memoria los resultados correspondientes a la primavera de este año.

Este tomillo ofrece un rendimiento sensiblemente inferior en la cosecha de primavera, lo que se justifica fácilmente teniendo en cuenta que, tras dicha recolección, las plantas disponen de varios meses hasta la siguiente cosecha, en invierno, para completar su ciclo vegetativo.

Cuando se procede a la siega de invierno, la nueva floración se produce tan solo tres meses después, por lo que los tomillos tienen poco

tiempo desde el corte anterior para desarrollarse. De ahí que, con frecuencia, su aspecto morfológico sea distinto al que presentan en invierno, momento óptimo para la recolección de esta planta. En primavera las plantas son en general más pequeñas, y con pocos tallos que diferencian inflorescencias.

En los datos de producción de la primavera de 2002 (Tabla III.1–5), no se aprecian diferencias significativas entre tratamientos, siendo por lo tanto aparentemente indistinto regar con más o menos agua. Sin embargo, en esta segunda recolección de 2002 se manifiesta una mayor retención de agua por parte de las plantas cuando reciben un riego abundante, por lo que, aunque no es posible distinguir una tendencia clara en cuanto al rendimiento en materia fresca, el porcentaje de materia seca obtenido a partir de la misma es mayor en los tratamientos que implican un menor aporte hídrico, especialmente en el equivalente al 20% de la ETo. Esto conduce a la obtención de valores medios más elevados de producto desecado al aplicar dicho riego.

Tabla III.1–5. Valores de producción, en función de la ETo, correspondientes a primavera de 2002.

	% ETo			
	80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Kg MF/ha	4.242,8 ± 865,90	4.244,4 ± 306,79	4.087,4 ± 1.115,95	4.274,6 ± 724,24
% MS	34,72	35,88	38,91	43,95
Kg MS/ha	1.473,1 ± 300,64	1.522,9 ± 110,07	1.590,4 ± 434,22	1.878,7 ± 318,31
% HS/MS	53,96	54,44	55,02	53,55
Kg HS/ha	794,9 ± 162,23	829,1 ± 59,92	875,0 ± 238,91	1.006,0 ± 170,45

± Desviación estándar.

En 2004 tampoco se encuentran diferencias con significación estadística (Tabla III.1–6), pero los resultados de este año permiten advertir una cierta disposición en las plantas, ya que los mejores promedios se obtienen con los riegos equivalentes al 60 y 40% de la ETo,

siendo bastante señalada esta tendencia en lo referente a la producción de hoja seca.

Tabla III.1–6. Valores de producción, en función de la ETo, correspondientes a primavera de 2004.

	% ETo			
	80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Kg MF/ha	3.397,2 ± 876,97	4.341,7 ± 1.200,88	4.160,7 ± 2.215,46	3.012,6 ± 1.029,99
% MS	38,90	38,25	40,08	40,33
Kg MS/ha	1.321,5 ± 341,14	1.660,7 ± 459,34	1.667,6 ± 887,96	1.215,0 ± 415,39
% HS/MS	43,79	48,80	51,16	53,72
Kg HS/ha	578,7 ± 149,39	810,4 ± 224,16	853,1 ± 454,28	652,7 ± 223,15

± Desviación estándar.

Es interesante advertir que el porcentaje de hoja seca disminuye de 2002 a 2004 con todos los tratamientos, salvo con el correspondiente al 20% de la ETo, al contrario de lo que ocurre con el porcentaje de materia seca, que aumenta de un año a otro exceptuado dicho tratamiento. Es decir, en 2004, de la producción en fresco se obtiene un mayor rendimiento en materia seca, sin embargo, la cantidad de hoja obtenida a partir de la planta desecada es inferior a la alcanzada el primer año de ensayo, excepto en el caso del menor aporte de agua.

De los datos de la segunda recolección de esta planta resulta más difícil extraer conclusiones, ya que en 2002 el efecto de los cuatro tratamientos es muy semejante, y es en 2004 cuando aparece la tendencia a mejorar la producción con los suplementos hídricos intermedios, lo cual se puede deber a diferencias en la climatología de ambos años, o puede ser efectivamente resultado de la adaptación de las plantas a las condiciones de cultivo. No disponer de los datos de 2003 imposibilita verificar dicha tendencia.

No obstante, en términos generales, podemos concluir que en primavera la cantidad de agua que reciben las plantas no afecta a la

producción de biomasa, aunque los resultados sugieren que en esta segunda siega *Th. hyemalis* acaba respondiendo mejor con un suministro de agua mayor del que requiere en invierno para alcanzar el óptimo de producción, muy probablemente para compensar la mayor temperatura a la que están expuestas las plantas en los meses primaverales. Este mayor aporte hídrico sería el equivalente al 40 ó 60% de la ETo, pero ya que los riegos elevados incrementan la mortalidad de estas plantas, el 40% se revela como el tratamiento más adecuado.

III. 1. 2. 3. Comparativa invierno/primavera.

Una vez constatado el rendimiento en biomasa sensiblemente inferior que ofrece esta planta en la segunda recolección, en este apartado determinaremos si tal descenso es o no significativo.

Tras comparar los datos de producción mediante un ANOVA, se comprueba que los resultados de invierno son, en efecto, significativamente superiores a los de primavera en la mayoría de los casos, como se aprecia en la Tabla III.1–7. Aplicar un tratamiento hídrico u otro no compensa la menor productividad de las plantas en primavera, especialmente en cuanto a la obtención de hoja seca, parámetro que siempre es significativamente inferior en esta estación.

Resulta interesante que, en 2004, con el riego equivalente al 40% de la ETo, las diferencias en producción de materia fresca y seca entre invierno y primavera no son significativas. Esto puede explicarse por la elevada desviación estándar que presenta este tratamiento en la segunda recolección (Tabla III.1–6), lo que implica puntos de solapamiento con la producción de invierno.

Tabla III.1-7. Análisis estadístico de las recolecciones de invierno y primavera.

		Kg MF/ha		Kg MS/ha		Kg HS/ha	
		2002	2004	2002	2004	2002	2004
% ETO	80 (81)	D	D	D	D	D	D
	60 (63)	D	D	ND	D	D	D
	40 (44)	D	ND	D	ND	D	D
	20 (30)	D	D	ND	D	D	D

D = Diferencias estadísticamente significativas entre estaciones ($P < 0,05$).

ND = No existen diferencias.

III. 1. 3. RENDIMIENTO EN ACEITE ESENCIAL.

Esta sección se refiere tanto al aceite esencial obtenido por destilación individual, en un sistema Clevenger, de las partes aéreas de las plantas recolectadas para su análisis, como a la producción por hectárea de esta sustancia. En ambos casos, el rendimiento en aceite se presenta respecto al peso seco, calculándose en base a los mililitros de aceite obtenidos por gramos de planta seca destilados, y en litros por hectárea al considerar la producción de toda la parcela.

Al igual que en el apartado anterior, los primeros datos analizados corresponden a las recolecciones de invierno, presentándose posteriormente los resultados de primavera.

III. 1. 3. 1. Invierno.

Con la recolección de invierno, época natural de floración de esta labiada, se obtienen en general los mejores rendimientos en aceite esencial, tanto considerando las plantas individuales como la producción por hectárea.

A) Destilación de plantas individuales.

El aceite esencial de *Th. hyemalis*, de un característico color amarillo, puede alcanzar rendimientos de más del 4% en algunas plantas, habiendo encontrado individuos que superan el 5%. Siendo esta sustancia el producto más valorado de los obtenidos del tomillo, este elevado rendimiento sitúa a esta especie entre las más interesantes desde el punto de vista comercial, especialmente teniendo en cuenta que su fenología invernal convierte a esta planta en fuente única de materias primas, en una época en la que aún no han comenzado a florecer la mayoría de los tomillos.

Otras especies de este género, como *Th. mastichina* (Salgueiro *et al.*, 1997a), *Th. pectinatus* (Vardar-Ünlü *et al.*, 2003) o *Th. lotocephalus* (Salgueiro *et al.*, 2000a) presentan rendimientos medios sensiblemente inferiores, alcanzando el 2,1, 1,8 y 1,1% (volumen/peso) respectivamente.

La elevada variabilidad intraespecífica encontrada en esta labiada afecta notablemente a su rendimiento en aceite, por lo que el porcentaje alcanzado varía mucho de unas plantas a otras, lo cual dificulta determinar si el hecho de aplicar distintos tratamientos de riego influye significativamente en la producción de aceite esencial.

La presencia o ausencia de diferencias significativas se determina mediante el análisis de la varianza, comparando los valores medios obtenidos para las 12 plantas recolectadas en función de cada aporte hídrico.

Con tales datos se elaboran las gráficas que se presentan a continuación, correspondiendo los intervalos a la menor diferencia significativa de Fisher, con un nivel de significación del 5%.

En la Figura III.1–2 quedan reflejados los resultados que proporciona *Th. hyemalis* en invierno de 2002, recolección en la que recibir distintas cantidades de agua no parece afectar a la síntesis de aceite esencial por parte de las plantas.

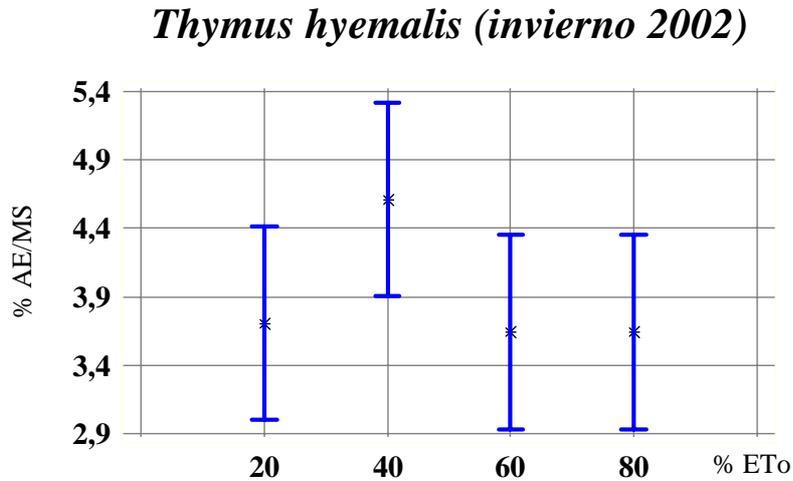


Fig. III.1-2. Rendimiento en aceite esencial, en función del riego, en invierno de 2002.

Los rendimientos obtenidos oscilan entre $3,6 \pm 0,43\%$ y $4,6 \pm 1,15\%$. Se puede advertir que con el riego equivalente al 40% de la ETo se consigue un resultado ligeramente superior, proporcionando el resto de tratamientos unos valores muy homogéneos.

En 2003 sin embargo, tras dos años de aplicación del riego diferenciado, el efecto del mismo sobre este parámetro se hace evidente (Figura III.1-3), encontrando que los tratamientos correspondientes al 60 y 40% de la ETo mejoran significativamente los resultados obtenidos con el 80%, y que con el aporte de agua equivalente al 20% ETo se alcanza un rendimiento superior a todos los demás.

En esta cosecha, los resultados se sitúan entre el $4,1 \pm 1,18\%$ del menor aporte hídrico y el $2,1 \pm 0,50\%$ correspondiente al 80% de la ETo.

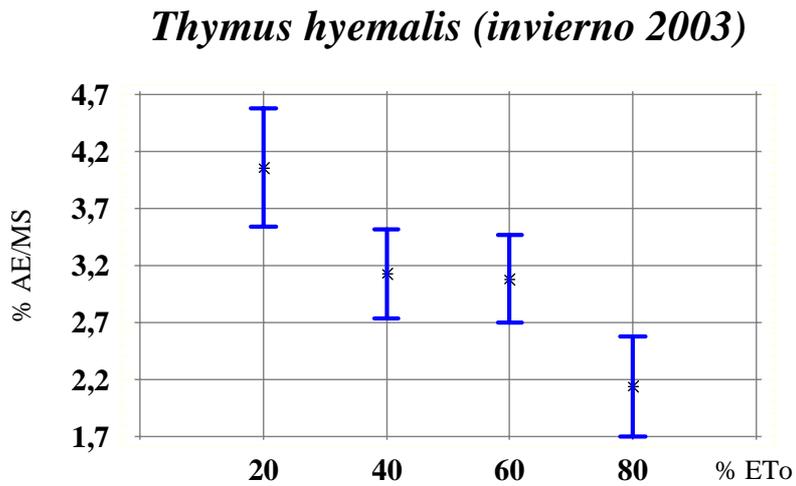


Fig. III.1–3. Rendimiento en aceite esencial, en función del riego, en invierno de 2003.

La recolección del invierno de 2004 (Figura III.1–4) es distinta a los dos años anteriores, ya que con el fin de realizar un estudio de la variabilidad encontrada en la composición química de estas sustancias, se elevó el número de muestras analizadas respecto a 2002 y 2003, recolectándose seis plantas por tratamiento en cada una de las cuatro repeticiones.

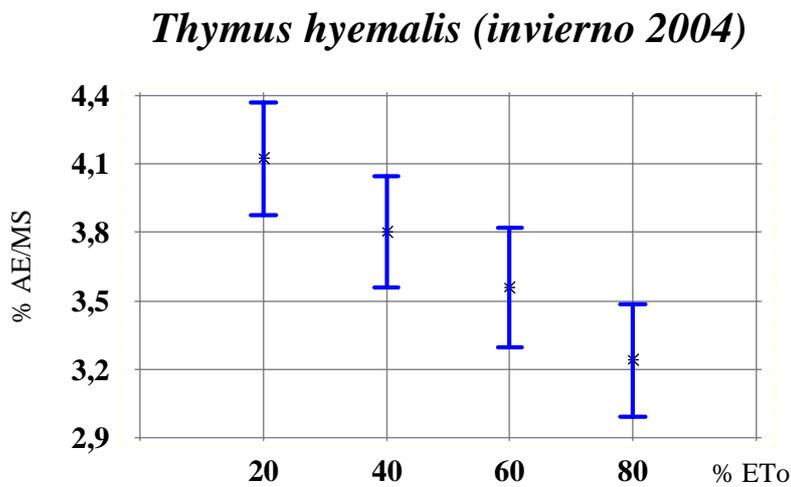


Fig. III.1–4. Rendimiento en aceite esencial, en función del riego, en invierno de 2004.

En la figura precedente es posible apreciar que también en 2004 aparecen diferencias significativas entre tratamientos, obteniéndose con el riego equivalente al 40% de la ETo un rendimiento en aceite significativamente mejor al alcanzado con el 80%, en tanto que el 20% de la ETo proporciona un resultado manifiestamente superior al 60 y al 80%. Tales valores oscilan entre $4,1 \pm 1,06\%$ y $3,2 \pm 0,85\%$, logrados con el menor y el mayor aporte hídrico respectivamente.

La diferencia con el año anterior radica en que en 2004 resulta indiferente regar con el 40 o el 20% de la ETo, mientras en 2003 el 20% es significativamente mejor que el 40%. Esto puede ser atribuido al aumento en el rendimiento determinado con este último tratamiento en 2004 respecto al alcanzado en 2003, aunque en promedio, un riego mínimo resulta más beneficioso para la producción de aceite también en 2004.

Observando las sucesivas recolecciones, los datos indican que someter a estas plantas a un riego diferenciado influye en su producción de aceite esencial, aumentando significativamente la síntesis de esta sustancia a medida que disminuye el agua que reciben las plantas. Esto verifica que una de las razones que induce a la elaboración de aceites por parte de los tomillos es la defensa frente a la desecación (Morales, 1989).

B) Producción por hectárea.

Conocidos los rendimientos en aceite esencial alcanzados con las plantas destiladas, se puede determinar la producción por hectárea de esta materia prima, aplicando los correspondientes porcentajes a los kilos de materia seca obtenidos con los diferentes riegos.

Los resultados se presentan en la Tabla III.1–8, en la que figuran los litros de aceite esencial obtenidos en las recolecciones de invierno de los tres años de ensayo.

Tabla III.1–8. Valores de producción de aceite esencial, en función de la ETo, correspondientes a las recolecciones de invierno.

		% ETo			
		80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
L AE/ha	2002	95,4 ± 26,14	80,8 ± 23,67	103,9 ± 14,91	73,4 ± 5,74
	2003	54,9 ± 10,19	83,2 ± 44,08	78,2 ± 24,51	98,1 ± 21,87
	2004	61,5 ± 8,96 ^a	85,1 ± 13,44 ^{ab}	106,9 ± 23,97 ^b	145,6 ± 37,34 ^c

^{a, b, c} Valores con distinto superíndice en la misma línea presentan diferencias estadísticamente significativas, de acuerdo con el test de la Menor Diferencia Significativa de Fisher ($P < 0,05$). ± Desviación estándar.

En invierno de 2002 no se presentan diferencias significativas entre los distintos niveles de agua, obteniéndose el mejor promedio de producción con el riego equivalente al 40% de la ETo.

En el trabajo que Sotomayor *et al.* (2001) publican acerca de los resultados que proporcionan, tras sólo siete meses de cultivo, las plantas empleadas en esta Memoria, la cantidad alcanzada con esta especie es de 68,5 L/ha, con un riego equivalente al 60% de la ETo. Este valor es inferior a los obtenidos en la primera recolección del presente ensayo con cualquiera de los tratamientos hídricos aplicados, por lo que parece que a medida que las plantas maduran, se optimiza su rendimiento en aceite esencial.

En 2003 tampoco se aprecian diferencias significativas, aunque en esta cosecha se advierte una tendencia a aumentar los valores medios de producción con el menor riego, debido al elevado contenido en aceite esencial de las plantas a las que se suministra dicho tratamiento en este año ($4,1 \pm 1,18\%$). El peor resultado corresponde al 80% de la ETo.

Esta tendencia señalada en 2003 se evidencia en 2004, cosecha en la que ya aparecen diferencias con significación estadística que determinan que un riego elevado (80 y 60% de la ETo) conlleva una

menor producción de aceite esencial por hectárea, e incluso el rendimiento obtenido con el 40% es significativamente inferior al que se alcanza aplicando el aporte hídrico más bajo, a pesar de que no existieran diferencias significativas entre estos dos tratamientos en cuanto a la cantidad de aceite que se extrae de las plantas destiladas, como se aprecia en la Figura III.1–4.

Estos resultados confirman que la obtención de aceite esencial se ve claramente favorecida aportando una cantidad de agua mínima al cultivo.

III. 1. 3. 2. Primavera.

En este apartado, las gráficas y tablas que presentan los resultados se han realizado siguiendo los criterios descritos anteriormente.

A) Destilación de plantas individuales.

Los rendimientos que se obtienen tras la destilación en esta segunda recolección anual se sitúan alrededor del 3%, superándose raramente el 4%.

En primavera de 2002 (Figura III.1–5), la prueba ANOVA no aprecia diferencias significativas entre tratamientos, obteniéndose los mejores resultados con los riegos necesarios para compensar el 20 ($3,4 \pm 0,10\%$) y el 40% de la ETo ($3,6 \pm 0,60\%$). Este último tratamiento proporciona igualmente el mejor rendimiento en la recolección de invierno de este año (Figura III.1–2).

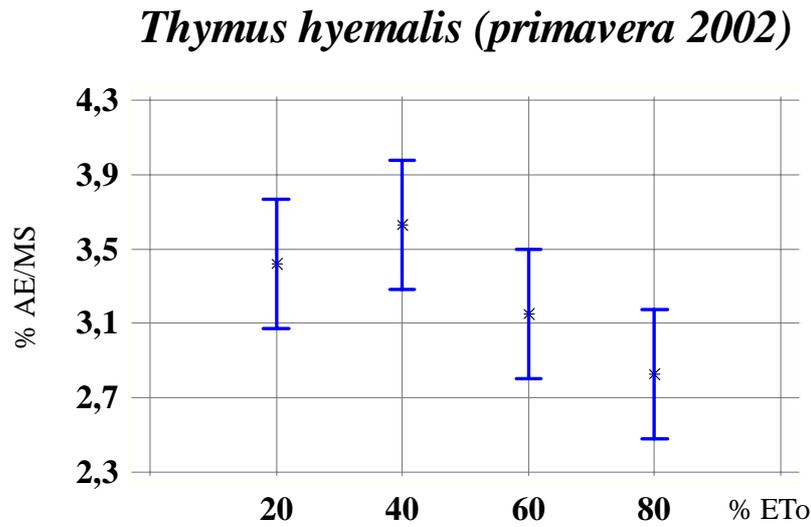


Fig. III.1–5. Rendimiento en aceite esencial, en función del riego, en primavera de 2002.

Los resultados correspondientes a 2004, a pesar del aumento en el número de plantas muestreadas, tampoco presentan diferencias significativas (Figura III.1–6), contrariamente a lo que ocurría en la cosecha de invierno. Se debe aclarar que en primavera se pretendía recolectar para su análisis las mismas plantas tomadas en invierno, sin embargo, el número de muestras resultó ser finalmente ligeramente inferior, dado que algunos de los tomillos estudiados en marzo no rebrotaron en junio.

Asimismo, en la segunda cosecha de 2004, no es posible distinguir una tendencia concreta en cuanto al efecto que el riego diferenciado pueda tener en la producción de aceite esencial, lo que, junto a los menores porcentajes alcanzados, constituye la principal diferencia con los resultados de invierno de este último año, en los cuales sí se observa una manifiesta trayectoria descendente en rendimiento a medida que aumenta la cantidad de agua que reciben las plantas. La explicación se encuentra en el efecto de la variabilidad intraespecífica, que se evidencia más en primavera debido al menor número de plantas recolectadas respecto a invierno.

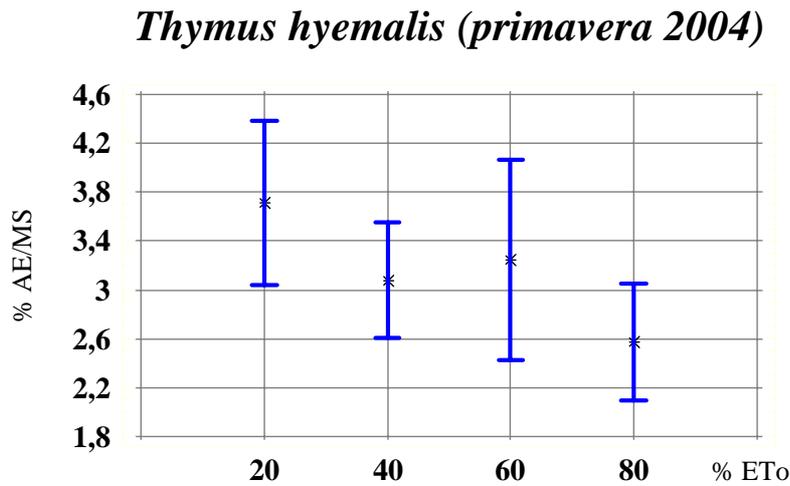


Fig. III.1-6. Rendimiento en aceite esencial, en función del riego, en primavera de 2004.

Sin embargo, al igual que ocurre en la primera cosecha anual, el tratamiento que proporciona el mejor promedio en junio es el equivalente al 20% de la ETo, con un rendimiento de $3,7 \pm 1,23\%$. Y del mismo modo, el peor resultado se obtiene con el riego ajustado para compensar el 80% de la ETo.

De los datos expuestos se puede deducir que la síntesis de aceite esencial por parte de *Th. hyemalis* acaba viéndose favorecida por un escaso aporte hídrico también en su segunda cosecha anual, aunque la elevada variabilidad intraespecífica presente en estas labiadas dificulta apreciar con claridad este efecto, determinando la ausencia de diferencias significativas entre tratamientos en primavera.

B) Producción por hectárea.

Los litros de aceite esencial conseguidos con las recolecciones de primavera, al igual que ocurre con la producción de biomasa, son inferiores a los que se pueden alcanzar en invierno.

La Tabla III.1–9 muestra los resultados de las recolecciones de primavera, apreciándose en 2002 diferencias significativas entre los tratamientos correspondientes al 80 y 20% de la ETo, mejorando la producción con este último.

Regar con el agua necesaria para compensar el 80% de la ETo produce también una cantidad de materia seca ligeramente inferior, en promedio, al resto de tratamientos en la primavera del primer año de estudio (Tabla III.1–5), y, asimismo, el rendimiento en aceite esencial obtenido por destilación es también inferior con dicho aporte hídrico (Figura III.1–5), lo que explicaría las diferencias apreciadas con el 20% de la ETo, riego que resulta ser el más adecuado, dados los promedios alcanzados, en esta cosecha.

Tabla III.1–9. Valores de producción de aceite esencial, en función de la ETo, correspondientes a las recolecciones de primavera.

		% ETo			
		80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
L AE/ha	2002	41,7 ± 8,50 ^a	48,0 ± 3,47 ^{ab}	57,8 ± 15,78 ^{ab}	64,2 ± 10,88 ^b
	2004	34,0 ± 8,77	53,8 ± 14,88	51,4 ± 27,35	45,2 ± 15,45

^{a,b} Valores con distinto superíndice en la misma línea presentan diferencias estadísticamente significativas, de acuerdo con el test de la Menor Diferencia Significativa de Fisher ($P < 0,05$).
± Desviación estándar.

En 2004, sin embargo, no hay diferencias significativas entre los distintos niveles de agua, pero se aprecia la misma tendencia encontrada en la producción de fitomasa de este año (Tabla III.1–6), ya que los mejores promedios de producción se alcanzan con los riegos equivalentes al 40 y 60% de la ETo. Esto es lo que cabría esperar, teniendo en cuenta que los litros de aceite esencial por hectárea se calculan en base a la producción de materia seca y al porcentaje de dicho aceite obtenido tras la destilación. Este porcentaje, algo más elevado en las plantas que han

recibido el aporte hídrico equivalente al 20% de la ETo (Figura III.1–6), determina un mejor promedio de producción por hectárea para este tratamiento respecto al correspondiente al 80%.

Así pues, la producción de aceite esencial en primavera tiende a ser más elevada con los tratamientos hídricos intermedios al hablar de rendimiento por hectárea, dado que tal parámetro va a depender de la generación de biomasa, que es mayor con dichos tratamientos. El mejor resultado que proporciona el 20% de la ETo, tras la destilación individual de estos tomillos, no compensa la mayor producción de materia seca que se logra con el 40 y 60%.

III. 1. 3. 3. Comparativa invierno/primavera.

Comparando los resultados de producción de aceite esencial de invierno y primavera (Tabla III.1–10), observamos que las diferencias entre ambas estaciones no siempre presentan significación estadística.

Tabla III.1–10. Análisis estadístico de las recolecciones de invierno y primavera.

		% AE/MS		L AE/ha	
		2002	2004	2002	2004
% ETo	80 (81)	D	D	D	D
	60 (63)	ND	ND	D	D
	40 (44)	ND	D	D	D
	20 (30)	ND	ND	ND	D

D = Diferencias estadísticamente significativas entre estaciones ($P < 0,05$).

ND = No existen diferencias.

En 2002, las diferencias en cuanto al contenido en aceite esencial de estas plantas, determinado por destilación, sólo son significativas con

el tratamiento hídrico correspondiente al 80% de la ETo. Los litros por hectárea, sin embargo, resultan significativamente superiores en invierno con los aportes de agua necesarios para compensar el 80, 60 y 40% de la ETo.

El mejor rendimiento en materia seca del 20% en primavera (Tabla III.1–5), unido al descenso en producción de la misma en invierno con este tratamiento (Tabla III.1–2), justifican la no existencia de diferencias significativas al comparar los litros de aceite esencial por hectárea obtenidos en ambas estaciones con el menor aporte hídrico.

Respecto a 2004, los resultados de invierno son en general significativamente superiores a los de primavera, salvo en los porcentajes de aceite obtenidos de las plantas individuales con el 60 y 20% de la ETo, tratamientos con los que se alcanza el mejor rendimiento, en promedio, en la recolección de primavera de dicho año, presentando además unos intervalos de confianza bastante amplios, por lo que los valores alcanzados se pueden solapar en ambas estaciones.

III. 1. 4. EFECTO DEL RIEGO SOBRE LA EVOLUCIÓN DEL CULTIVO.

Examinar el efecto de las sucesivas siegas sobre cada uno de los aspectos que determinan el interés económico de este género, es un factor obligado porque aporta información necesaria sobre la adaptación de estas plantas al cultivo. Por lo que respecta a la biomasa, el aspecto más interesante a examinar es la producción de material vegetal desecado, en tanto que el aceite esencial representa la materia prima más importante de las obtenidas de estas labiadas desde el punto de vista comercial. Estudiar las tendencias de producción a lo largo de los tres años de ensayo es fundamental como referencia para considerar el interés de cada especie para ser cultivada.

Para facilitar la interpretación de la repercusión que las recolecciones tienen sobre la síntesis de estos productos, se ha considerado interesante realizar una representación gráfica de los datos que aparecen en las Tablas III.1–2 a III.1–6, así como III.1–8 y III.1–9, además de las Figuras III.1–2 a III.1–6, con el fin de obtener una mejor visualización de la evolución de la plantación, y efectuar un análisis de la influencia de cada uno de los cuatro tratamientos de riego, de forma independiente, sobre la producción de fitomasa y aceite esencial a lo largo del tiempo. Con ello se pretende confirmar la idoneidad de determinados tratamientos sobre otros.

Se debe señalar que en los resultados de cada año, además del número de cortes que puedan haber sufrido las plantas, influye de manera importante la climatología. Sin embargo, es posible determinar tendencias, bastante claras en algunos casos, que pueden aportar una información básica sobre la evolución de la plantación en función del aporte hídrico recibido.

III. 1. 4. 1. Invierno.

Observando la gráfica correspondiente al material desecado (Figura III.1–7a) se puede determinar el claro comportamiento que presenta *Th. hyemalis* ante el efecto combinado del aporte hídrico y las repetidas siegas: a medida que se suceden las recolecciones, y a pesar del descenso en el número de plantas viables, se origina un aumento en los promedios de producción de materia seca de 2002 a 2004 en los tratamientos correspondientes al 20 y 40% de la ETo, ocurriendo lo contrario con los de mayor aporte hídrico.

La prueba ANOVA aplicada a cada tratamiento por separado concluye que las diferencias entre los tres años no son significativas con los riegos equivalentes al 80, 60 y 40% de la ETo, pero sí son sustancialmente diferentes los resultados obtenidos con el 20%, ya que el

análisis estadístico interpreta la producción del año 2004 con este aporte de agua como significativamente superior a las de 2002 y 2003, que formarían un grupo homogéneo.

Centrándonos en el 40 y especialmente en el 20% de la ETo, el aumento en la producción que se observa con el tiempo se debe a que, si bien el número de plantas vivas por subparcela desciende a lo largo de los tres años de estudio, cabe pensar que las plantas supervivientes se adaptan bien a este bajo aporte hídrico y, al tener menos competencia por los recursos, pueden alcanzar mayor tamaño respecto a años anteriores, por lo que se produciría ese aumento de fitomasa.

Respecto a la producción de hoja seca por hectárea (Figura III.1–7b), los análisis estadísticos determinan los mismos resultados anteriores: no hay diferencias con el 80, 60 ni 40% de la ETo entre los tres años, pero sí las hay con el 20%, tratamiento que, según el test de Fisher, presenta un rendimiento en hoja significativamente superior en 2004.

Acerca del cambio de tendencia advertido entre 2002 y 2003 respecto a la figura que refleja la evolución del material desecado, se debe considerar que el porcentaje de hoja seca alcanzado en el segundo año de ensayo, como se aprecia en la Tabla III.1–3, es más bajo que el conseguido en 2002 y 2004 (Tablas III.1–2 y III.1–4) con todos los tratamientos hídricos. Esto justifica la producción más baja de esta materia prima en 2003, si la comparamos con el rendimiento en materia seca.

Para estudiar el aceite esencial, analizaremos en primer lugar el rendimiento en aceite obtenido por destilación, directamente de las plantas recolectadas (Figura III.1–7c).

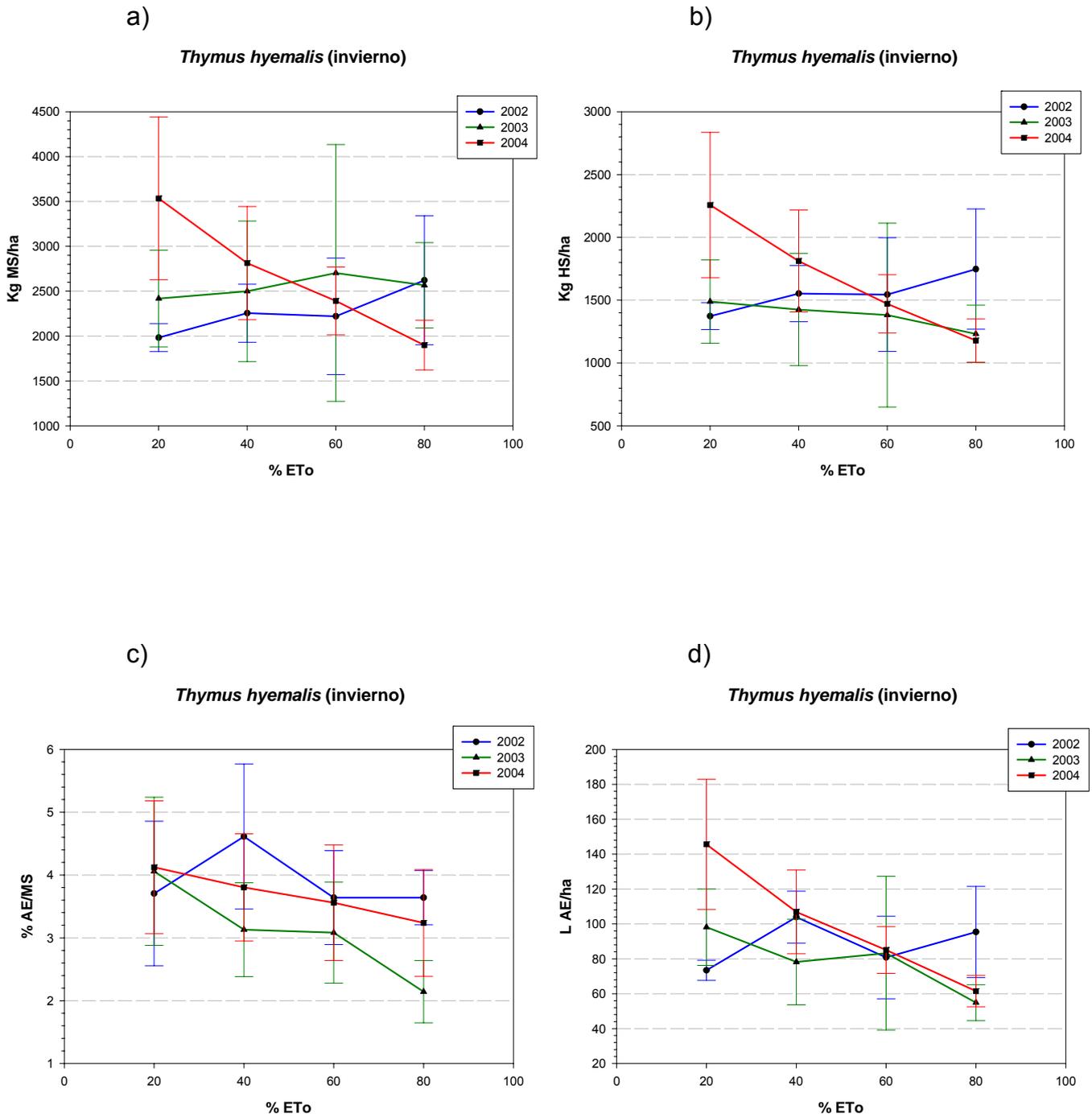


Fig. III.1-7. Evolución de la producción de materias primas, en la recolección de invierno, durante los tres años de ensayo.

Realizada la prueba ANOVA a los datos de cada tratamiento por separado, se determina que no existen diferencias significativas entre los tres años con los riegos equivalentes al 60 y al 20% de la ETo, con un nivel de significación del 5%. Sí las hay, sin embargo, cuando se analizan los valores alcanzados con el 80 y 40%. Con ambos aportes hídricos, los resultados de 2003 son significativamente inferiores a los de 2002 y 2004, que no presentan diferencias entre sí.

Por otra parte, si nos centramos en el aporte hídrico más bajo (20%), se observa que el rendimiento obtenido es bastante similar en los tres años, con un ligero aumento del promedio de 2002 a 2004 aunque, como se ha dicho, sin significación estadística. En el resto de tratamientos, los promedios de 2002 son mejores que los de los años siguientes, siendo más parecidos a los de 2004, probablemente por las condiciones climáticas un tanto atípicas de 2003.

Al contemplar la evolución de los litros de aceite producidos por hectárea (Figura III.1–7d), es posible advertir que, al igual que ocurría con el rendimiento de las plantas individuales, en el caso del riego equivalente al 20% de la ETo la producción aumenta de un año a otro, revelando además el análisis estadístico de los datos que con este mínimo aporte hídrico existen diferencias significativas entre los tres años, ya que la productividad alcanzada en 2004 es significativamente superior a las de 2002 y 2003, análogamente a lo que sucede con la generación de materia seca. Por el contrario, con el 80% de la ETo la cantidad de aceite conseguida en 2002 es significativamente más elevada que las de 2003 y 2004, debido a que en dicho tratamiento se suman la menor producción de materia seca de 2004 respecto a los otros dos años, y el bajo rendimiento obtenido por destilación en 2003 (2,1% en promedio frente a 3,6% de 2002 y 3,2% de 2004), determinando ambos factores el descenso en cuanto a litros de aceite por hectárea alcanzados los dos últimos años.

Los tratamientos intermedios tendrían un efecto similar a lo largo de las tres recolecciones.

Analizando todo lo expuesto, es un hecho que, con el transcurso del tiempo, *Th. hyemalis* se adapta mejor a condiciones de cultivo que impliquen un escaso aporte de agua, siendo perjudicial para la planta someterla a un riego abundante. Esta tendencia es especialmente perceptible en 2004.

Por otra parte, a la vista de estos resultados, cabe plantearse la modificación del marco inicial de plantación, ya que tanto en lo referente a producción en fresco como en seco, los mejores rendimientos se consiguen con el riego equivalente al 20% de la ETo en 2004, superando a los de años anteriores, con mayor número de plantas. Considerando que el número inicial de plantas es de 140 por subparcela, y que las marras correspondientes a dicho tratamiento en ese año alcanzan el 42%, los individuos que han persistido en las correspondientes subparcelas rondarían un promedio de 82, cantidad que sería suficiente para un buen rendimiento de la plantación, y que, extrapolarlo a hectáreas, proporciona una densidad de plantas de aproximadamente 53.000/ha, sensiblemente inferior a las 89.400 propuestas originalmente en el ensayo. Esto es muy importante, ya que con un número inferior de plantas, disminuyen los costes iniciales del cultivo, y se facilitan las labores agrícolas, sin que exista, como se ha comprobado, ninguna merma en la producción. Pero es también importante señalar que esto sólo sería posible partiendo de plantas seleccionadas, resistentes a las siegas, como las que subsisten en 2004.

III. 1. 4. 2. Primavera.

La evolución que presentan estas plantas en los tres años de estudio en lo referente a las recolecciones de primavera ofrece unos resultados distintos a los encontrados en invierno (Figura III.1–8).

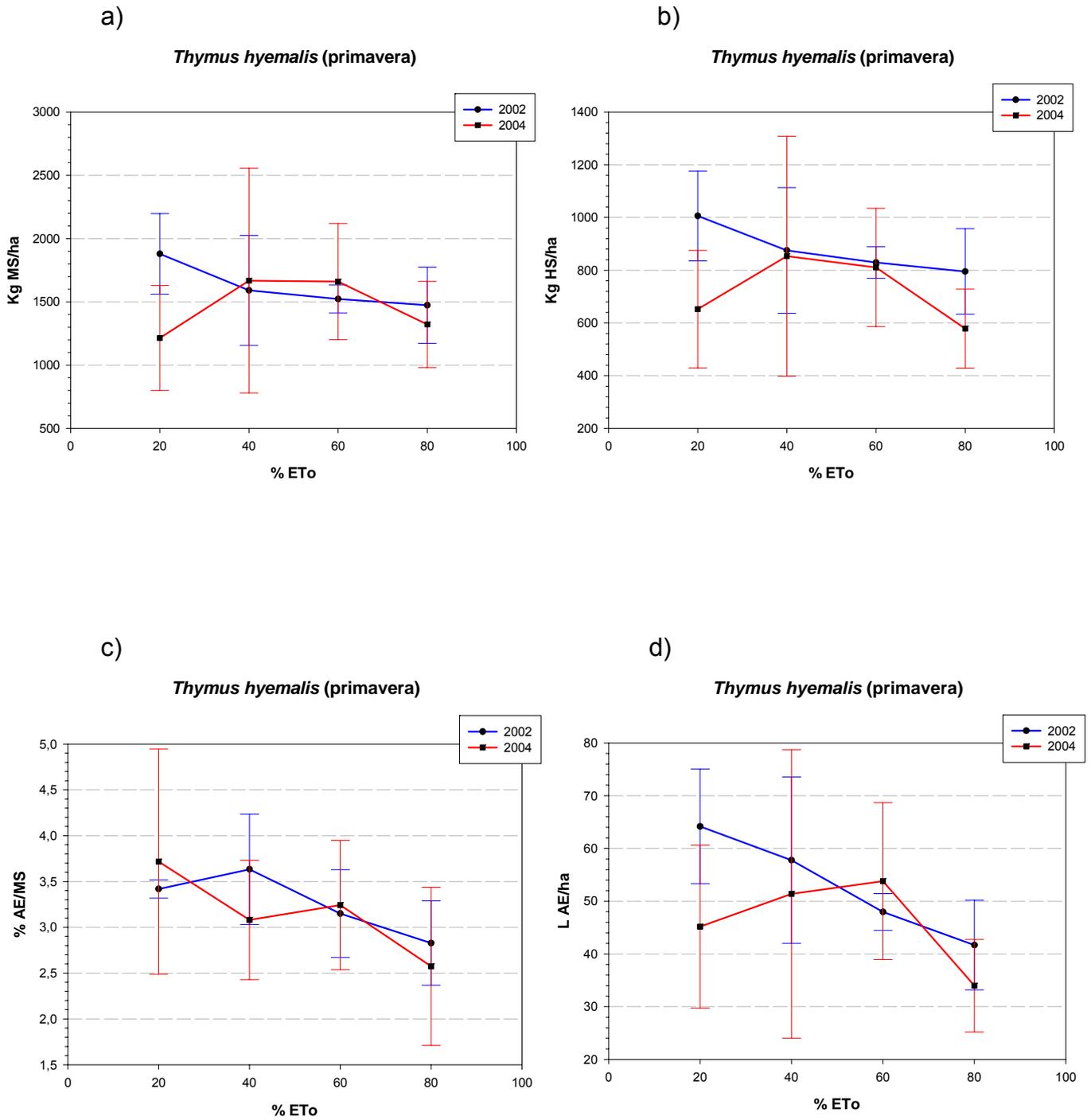


Fig. III.1–8. Evolución de la producción de materias primas, en la recolección de primavera, durante los dos años considerados.

Acerca de la producción de materia seca (Figura III.1–8a), la prueba ANOVA detecta diferencias con el aporte hídrico más bajo (20% ETo), significativamente superior en 2002 respecto a 2004, al contrario de lo que ocurre en la primera recolección anual. El resto de tratamientos afecta de la misma forma los dos años también en primavera.

Las diferencias encontradas en el caso del riego más escaso se pueden explicar, por una parte, por el menor porcentaje de materia seca obtenido a partir del tomillo fresco en 2004 respecto a 2002, en tanto que con el resto de tratamientos aumenta dicho porcentaje. Pero, por otra parte, es igualmente posible que en primavera la productividad se vea afectada por el descenso en el número de plantas viables que se aprecia año tras año, las cuales, con el 20% de la ETo, pasan de un promedio de 113 en 2002 a 82 en 2004 y, al no alcanzar las plantas un gran tamaño en la segunda recolección anual, no es posible compensar la producción como ocurre en invierno.

Por lo que respecta a la hoja seca (Figura III.1–8b), los rendimientos conseguidos en 2002 y 2004 también difieren de forma significativa únicamente con el 20% de la ETo.

En cuanto al aceite esencial, el análisis estadístico del contenido en esta sustancia entre las plantas recolectadas en primavera (Figura III.1–8c), no aprecia diferencias significativas al comparar los valores obtenidos con cada tratamiento en 2002 y 2004.

Finalmente, extrapolando a litros de aceite esencial por hectárea (Figura III.1–8d), tampoco se aprecian diferencias al comparar los datos de los dos años en ningún caso. La tendencia de ambos años es similar a la encontrada en la producción de materia seca, aunque se observa que con el 40% de la ETo los litros de aceite esencial alcanzados, en promedio, son ligeramente inferiores en 2004 respecto a 2002, al contrario de lo que sucedía con el producto desecado. Esto se debe a que, en la primavera de 2004, el contenido medio en aceite esencial de

las plantas regadas con este tratamiento es de los más bajos (Figura III.1–6), y al aplicar ese porcentaje a los kilos de materia seca, se reduce ligeramente la producción por hectárea de estos aceites respecto al primer año de ensayo.

También se puede comentar la evolución advertida con el 20% ETo, riego con el que el rendimiento conseguido al destilar, el más elevado en promedio en la segunda cosecha de 2004, atenúa las diferencias que encontrábamos entre los dos años con el mencionado tratamiento al analizar la producción de material desecado, de forma que en lo referente a litros de aceite por hectárea, tales diferencias no son significativas.

A la vista de estos datos, aunque con las oportunas reservas, dado que faltan los datos de 2003, podemos confirmar que a medida que se suceden las cosechas, la segunda recolección de *Th. hyemalis* se ve favorecida si el riego aportado al cultivo se eleva respecto al invierno, siendo el 40% de la ETo el suplemento hídrico más aconsejable. Los extremos, tanto por defecto como por exceso de agua, perjudican a la producción de esta planta en primavera.

III. 1. 5. PERFIL CROMATOGRÁFICO DEL ACEITE ESENCIAL.

Las propiedades beneficiosas que muestran estos aceites se fundamentan en su composición química, siendo por lo tanto este dato el más importante a la hora de valorar económicamente estas sustancias.

Actualmente, de los distintos constituyentes presentes en los aceites esenciales, son los compuestos fenólicos los más cotizados por las diferentes industrias que utilizan estas sustancias como materia prima, especialmente timol y carvacrol, ya que tales constituyentes han demostrado ser los más activos en la mayor parte de los ensayos realizados.

Es precisamente en la composición de estos aceites donde se hace más patente la gran variabilidad intraespecífica que presentan estas labiadas. La constatación de este hecho en las recolecciones de 2002 y 2003 nos llevó a duplicar el número de muestras analizadas en 2004, con el fin de plantear un estudio en profundidad de los distintos perfiles volátiles que se pueden encontrar en estas plantas. Se debe señalar que estas variaciones son siempre cuantitativas, ya que en general, los aceites esenciales de las plantas de este género son cualitativamente muy semejantes, siendo las cantidades relativas de los constituyentes lo que determina su calidad.

De esta forma, este apartado se va a abordar considerando por una parte las recolecciones de 2002 y 2003, con cuyos datos se analiza el efecto de las distintas condiciones hídricas sobre la calidad de los aceites; y por otra parte se exponen resultados de 2004, recolección en la que se estudia la variación en las proporciones relativas de los componentes del aceite entre las distintas plantas.

Las muestras de aceite esencial extraído de las plantas recolectadas son analizadas mediante Cromatografía de Gases y Espectrometría de Masas, proporcionando los datos que se exponen en las diferentes tablas presentadas en este apartado. Tales tablas se realizan comparando, con la prueba ANOVA, los resultados obtenidos con los cuatro tratamientos hídricos. Si con dicha prueba se concluye que recibir más o menos cantidad de agua afecta al perfil volátil de estos aceites, se realiza el Test de Fisher para determinar, en cada caso, aquellos tratamientos que resultan significativamente diferentes de los demás.

III. 1. 5. 1. Efecto del riego sobre la composición química del aceite esencial.

En *Th. hyemalis*, arbusto endémico del Sudeste Ibérico, la variabilidad intraespecífica es particularmente notoria, ya que esta planta

ha resultado ser la más compleja desde el punto de vista químico de las incluidas en esta Memoria. Esta variación comporta la existencia de diferentes quimiotipos dentro de la especie. Es oportuno recordar aquí el concepto de quimotaxonomía, clasificación de las plantas en función de la composición química de sus aceites esenciales, de forma que los componentes más abundantes de cada aceite determinan los distintos taxones químicos o quimiotipos.

Por lo que se refiere al presente ensayo, los análisis cromatográficos realizados al aceite esencial de *Th. hyemalis* han establecido un quimiotipo fenólico, con el timol como principal componente, para una proporción mayoritaria de las plantas analizadas.

Esto coincide con lo encontrado por Sáez (1995b) en su publicación sobre esta especie, en la cual afirma que el quimiotipo timol es el más representado en las formaciones vegetales en las que *Th. hyemalis* es predominante, y no existen interacciones con otras especies. Igualmente, Jiménez *et al.* (1989) determinan el carácter claramente fenólico de esta planta en un estudio llevado a cabo en cinco localizaciones de la provincia de Almería. Por su parte, Stahl-Biskup (1991), en su revisión sobre la composición química de los aceites esenciales en el género *Thymus*, incluye también a esta especie entre aquellas que contienen fenoles. Sin embargo, Cabo *et al.* (1987), encuentran 1,8-cineol como componente más importante en plantas recolectadas en la Sierra de Alfacar (Granada), apareciendo los fenoles en concentraciones inferiores al 3% en la mayoría de los análisis practicados, por lo que en este trabajo se clasifica a *Th. hyemalis* como tomillo “no fenólico”.

Dada la presencia dominante de timol en esta labiada, el estudio de la repercusión de los distintos niveles de riego sobre la composición química de su aceite esencial se lleva a cabo únicamente sobre este quimiotipo, descartándose para la realización de las correspondientes

tablas, tanto en 2002 como en 2003, aquellas plantas cuyo análisis cromatográfico determina un quimiotipo distinto.

El examen del perfil volátil de esta especie ha permitido la identificación de un total de 105 componentes, incluyendo 31 hidrocarburos terpénicos, 25 alcoholes, 14 aldehídos, 13 cetonas, 12 ésteres, seis fenoles, tres epóxidos y un éter, los cuales suponen aproximadamente el 97,3% de los constituyentes detectados por el cromatógrafo.

De ellos, 64 son descritos por primera vez en esta variedad de tomillo, incluyendo:

- *Hidrocarburos terpénicos*: m-xileno, triciclono, verbeneno, α -copaeno, α -gurjeneno, calereno, α -humuleno, elemeno, β -selineno, valenceno, α -muuroleno, γ -cadineno, δ -cadineno.
- *Alcoholes*: butanol, 3-metil-3-buten-1-ol, 3-penten-2-ol, 3-metil-2-buten-1-ol, (*Z*)-3-hexen-1-ol, (*E*)-2-hexen-1-ol, hexanol, 1-octen-3-ol, 3-octanol, (*Z*)-hidrato de sabineno, (*E*)-pinocarveol, (*E*)-verbenol, isoborneol, p-cimen-8-ol, carveol, nerol.
- *Aldehídos*: (*E*)-2-butenal, pentanal, hexanal, furfural, (*E*)-2-hexenal, heptanal, benzaldehído, nonanal, decanal, perialdehído.
- *Cetonas*: 3-hexanona, 3-heptanona, 3-octanona, β -tujona, pinocarvona, dihidrocarvona, carvona, timoquinona, (*Z*)-jasmona, α -ionona, β -ionona.
- *Ésteres*: acetato de etilo, butirato de metilo, butirato de etilo, acetato de bencilo, caprilato de etilo, acetato de timilo, acetato de nerilo, caprilato de butilo.
- *Fenoles*: éter metílico de timol, éter metílico de carvacrol, eugenol, (*E*)-isoeugenol.
- *Epóxidos*: (*Z*)-óxido de linalol, (*E*)-óxido de linalol.

Muchos de estos compuestos han sido identificados en otras especies del género *Thymus*, como *Th. vulgaris*, *Th. zygis*, *Th. pulegioides*, *Th. serpyllum*, *Th. satureioides*, *Th. praecox*, *Th. broussonetii*, *Th. maroccanus*, *Th. pallidus*, *Th. granatensis*, *Th. orospedanus*, *Th. chamaedris*, *Th. carnosus*, *Th. serpyllum*, *Th. quinquecostatus*, *Th. funkii*, *Th. aestivus*, *Th. baeticus*, *Th. camphoratus*, y *Th. sibthorpii* (Nijssen *et al.*, 1996).

Para presentar los resultados obtenidos con los diferentes suplementos hídricos, expondremos en primer lugar los resultados de los análisis efectuados a las plantas recolectadas en invierno de 2002 (primer año de ensayo); posteriormente, los datos de primavera de ese mismo año; y por último, la composición obtenida en 2003.

III. 1. 5. 1. 1. Invierno 2002.

Al examinar los datos debe tenerse en cuenta la gran variabilidad química presente en estas plantas, capaz de enmascarar en muchos casos el efecto que el riego diferenciado pueda tener sobre las concentraciones relativas de los constituyentes del aceite.

La Tabla III.1–11 muestra el perfil volátil de las plantas analizadas en invierno de 2002. Los componentes en los que los análisis estadísticos han detectado diferencias significativas en sus concentraciones relativas en función del riego recibido son: α -tujeno, mirceno, α -felandreno, Δ_3 -careno, γ -terpineno, α -gurjeneno, aloaromadendreno, elemeno, valenceno, α -muuroleno, γ -cadineno, δ -cadineno, butanol, hexanol, m-xileno, linalol, isoborneol, p-cimen-8-ol, α -terpineol, carveol, nerol, citronelol, geraniol, acetato de linalilo, espatulenol, (*E*)-2-hexenal, heptanal, nonanal, mirtenal, dihidrocarvona, decanal, cuminaldehído, neral, carvona, 3-octanona, alcanfor, pinocarvona, verbenona, (*Z*)-jasmona, β -ionona, acetato de bencilo, caprilato de etilo, acetato de terpenilo, acetato de timilo, timol, carvacrol y (*Z*)-óxido de linalol.

El componente mayoritario es timol, con altos niveles de los precursores p-cimeno y γ -terpineno. Recordemos que la secuencia que acaba en la síntesis de timol o su isómero carvacrol es:



Las concentraciones de ambos terpenos no cambian de acuerdo con las variaciones de sus correspondientes productos fenólicos, lo cual puede ser atribuido a la mencionada variabilidad intraespecífica (Sáez, 1995b). Según este autor, la presencia en cantidades importantes de componentes como cineol, borneol o α -pineno se debe a interacciones con otras especies de tomillo, como *Th. vulgaris* o *Th. baeticus*.

Con relación a los hidrocarburos terpénicos, los que se han identificado en mayor concentración, además de p-cimeno y γ -terpineno, son α -tujeno, α -pineno, canfeno, α -terpineno, limoneno, (*E*)-cariofileno, mirceno y valenceno.

El comportamiento de los terpenos en base al aporte hídrico no es igual en todos los casos. La síntesis de algunos de ellos parece verse perjudicada con un riego mínimo, como ocurre con Δ_3 -careno, que presenta un porcentaje significativamente inferior cuando la planta recibe el agua equivalente al 20% de la ETo, afectándole por igual el resto de tratamientos. Otro componente, el α -tujeno, muestra diferencias significativas entre el aporte hídrico más alto y el más bajo, alcanzando su máximo porcentaje con el 80% de la ETo. En el caso de mirceno y α -felandreno, tanto el riego más elevado como el más escaso originan un descenso en su concentración relativa, viéndose ésta favorecida con los aportes intermedios (60 y 40% de la ETo). El precursor γ -terpineno ofrece su mejor resultado con el 20% de la ETo, significativamente superior a los restantes suplementos hídricos. El p-cimeno, sin embargo, no presenta diferencias significativas en sus porcentajes, aunque el peor resultado, en promedio, se obtiene con el riego correspondiente al 20% de la ETo.

Tabla III.1–11. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. hyemalis*, en función del aporte hídrico (Invierno 2002).

COMPONENTES	I. R.	% ETo			
		80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Hidrocarburos terpénicos					
Triciclono*	931	0,03 ± 0,03	0,01 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,04
α-Tujeno*	940	1,34 ± 0,58 ^a	0,95 ± 0,06 ^{ab}	0,96 ± 0,13 ^{ab}	0,58 ± 0,06 ^b
α-Pineno	949	0,58 ± 0,37	0,84 ± 0,96	1,32 ± 0,70	1,68 ± 1,53
Canfeno	969	1,11 ± 1,08	0,44 ± 0,17	0,50 ± 0,66	1,26 ± 1,34
Verbeneno*	976	0,05 ± 0,00	0,04 ± 0,01	0,06 ± 0,02	0,06 ± 0,02
Sabineno	1001	0,22 ± 0,21	0,18 ± 0,14	0,23 ± 0,24	0,30 ± 0,29
β-Pineno	1007	0,24 ± 0,22	0,30 ± 0,15	0,16 ± 0,11	0,22 ± 0,23
Mirceno	1026	0,75 ± 0,30 ^a	0,90 ± 0,05 ^{ab}	0,95 ± 0,16 ^b	0,74 ± 0,07 ^a
α-Felandreno	1042	0,15 ± 0,01 ^a	0,19 ± 0,02 ^b	0,19 ± 0,03 ^b	0,15 ± 0,03 ^a
Δ ₃ -Careno	1048	0,06 ± 0,01 ^a	0,07 ± 0,01 ^a	0,06 ± 0,00 ^a	0,05 ± 0,01 ^b
α-Terpineno	1058	1,28 ± 0,01	1,83 ± 0,49	2,00 ± 0,69	1,55 ± 0,65
p-Cimeno	1068	26,67 ± 11,20	24,29 ± 2,76	25,41 ± 5,06	22,28 ± 6,40
Limoneno	1073	0,87 ± 0,10	0,85 ± 0,29	1,35 ± 0,42	1,28 ± 0,69
(Z)-β-Ocimeno	1086	0,02 ± 0,02	0,01 ± 0,00	0,03 ± 0,05	0,02 ± 0,02
(E)-β-Ocimeno*	1097	0,21 ± 0,22	0,04 ± 0,03	0,44 ± 0,73	0,06 ± 0,03
γ-Terpineno	1109	10,81 ± 1,78 ^a	13,38 ± 2,32 ^a	12,85 ± 3,87 ^a	17,58 ± 4,59 ^b
Terpinoleno + (E)-Óxido de linalol	1141	0,21 ± 0,01	0,29 ± 0,21	0,25 ± 0,19	0,35 ± 0,25
α-Copaeno	1378	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,00
α-Gurjeneno*	1408	0,02 ± 0,01 ^a	0,01 ± 0,00 ^a	0,01 ± 0,00 ^a	0,03 ± 0,01 ^b
(E)-Cariofileno	1419	0,80 ± 0,23	1,23 ± 0,45	1,08 ± 0,74	1,00 ± 0,51
Calereno	1432	tr	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01
Aromadendreno	1440	0,06 ± 0,05	0,06 ± 0,02	0,05 ± 0,03	0,05 ± 0,06
α-Humuleno	1457	0,05 ± 0,02	0,08 ± 0,05	0,06 ± 0,02	0,13 ± 0,14
Aloaromadendreno	1465	0,09 ± 0,01 ^a	0,08 ± 0,03 ^a	0,08 ± 0,04 ^a	0,19 ± 0,08 ^b
Elemeno*	1481	0,01 ± 0,00 ^a	0,01 ± 0,00 ^a	0,01 ± 0,00 ^a	0,02 ± 0,01 ^b
β-Selineno*	1485	0,01 ± 0,00	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,02 ± 0,01
Valenceno	1510	0,37 ± 0,03 ^a	0,27 ± 0,14 ^a	0,44 ± 0,15 ^a	0,76 ± 0,43 ^b
α-Muuroleno*	1516	0,02 ± 0,01 ^a	0,02 ± 0,01 ^a	0,02 ± 0,01 ^a	0,05 ± 0,03 ^b
γ-Cadineno*	1537	0,04 ± 0,02 ^a	0,05 ± 0,04 ^a	0,07 ± 0,02 ^{ab}	0,09 ± 0,04 ^b
δ-Cadineno	1553	0,09 ± 0,04 ^a	0,08 ± 0,05 ^a	0,13 ± 0,04 ^{ab}	0,20 ± 0,10 ^b
Alcoholes					
Butanol	742	0,01 ± 0,01 ^a	tr ^{ab}	0,01 ± 0,00 ^{ab}	tr ^b
3-Metil-3-buten-1-ol	766	tr	tr	tr	tr
3-penten-2-ol*	784	tr	tr	tr	tr
3-metil-2-buten-1-ol*	789	tr	tr	tr	tr
(Z)-3-Hexen-1-ol	852	tr	tr	tr	tr
(E)-2-Hexen-1-ol	865	tr	tr	tr	tr
Hexanol + m-Xileno	867	0,02 ± 0,01 ^a	0,03 ± 0,02 ^a	0,01 ± 0,00 ^b	0,01 ± 0,00 ^b
1-Octen-3-ol	1009	0,26 ± 0,05	0,18 ± 0,13	0,27 ± 0,16	0,18 ± 0,07
3-Octanol	1031	0,11 ± 0,06	0,07 ± 0,06	0,04 ± 0,03	0,18 ± 0,18

Tabla III.1-11 (continuación)

COMPONENTES	I. R.	% ETo			
		80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Alcoholes (continuación)					
(E)-Hidrato de sabineno	1116	0,62 ± 0,15	1,39 ± 1,28	2,00 ± 2,83	1,78 ± 2,43
(Z)-Hidrato de sabineno*	1151	0,17 ± 0,05	1,74 ± 2,48	0,29 ± 0,22	0,48 ± 0,58
Linalol	1152	2,19 ± 0,04 ^a	1,54 ± 1,16 ^a	0,89 ± 0,56 ^a	8,63 ± 8,22 ^b
(E)-Pinocarveol	1186	0,16 ± 0,05	0,20 ± 0,02	0,18 ± 0,05	0,20 ± 0,07
(Z)-Verbenol	1189	0,29 ± 0,02	0,38 ± 0,22	0,56 ± 0,15	0,38 ± 0,24
(E)-Verbenol*	1197	0,04 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,04 ± 0,02	0,05 ± 0,02
Isoborneol	1203	0,01 ± 0,00 ^a	tr ^a	0,01 ± 0,00 ^a	0,02 ± 0,00 ^b
Borneol	1211	3,35 ± 2,95	0,38 ± 0,38	1,46 ± 2,21	4,17 ± 3,67
Terpinen-4-ol	1220	0,47 ± 0,15	1,48 ± 1,59	1,52 ± 1,75	2,31 ± 3,49
p-Cimen-8-ol	1227	0,15 ± 0,02 ^a	0,29 ± 0,06 ^b	0,22 ± 0,06 ^c	0,24 ± 0,05 ^{bc}
α-Terpineol	1231	4,71 ± 5,18 ^a	0,57 ± 0,26 ^b	0,59 ± 0,35 ^b	0,69 ± 0,52 ^b
Carveol	1252	tr ^a	0,01 ± 0,01 ^a	0,04 ± 0,03 ^b	0,06 ± 0,01 ^b
Nerol + Citronelol	1260	0,02 ± 0,00 ^a	0,02 ± 0,01 ^a	0,02 ± 0,00 ^a	0,04 ± 0,01 ^b
Geraniol + Acetato de linalilo	1281	tr ^a	0,02 ± 0,01 ^a	0,01 ± 0,01 ^a	0,05 ± 0,02 ^b
Espatulenol	1640	0,24 ± 0,09 ^a	0,28 ± 0,07 ^a	0,32 ± 0,10 ^a	0,46 ± 0,12 ^b
Aldehídos					
(E)-2-Butenal*	735	tr	tr	tr	tr
Pentanal	754	tr	tr	tr	tr
Hexanal + Butirato de etilo	802	0,01 ± 0,00	tr	tr	tr
Furfural	832	tr	tr	tr	tr
(E)-2-Hexenal	849	0,01 ± 0,00 ^{ab}	0,01 ± 0,00 ^{ab}	0,01 ± 0,00 ^a	0,02 ± 0,01 ^b
Heptanal	904	tr ^{ab}	0,01 ± 0,01 ^a	tr ^b	tr ^b
Benzaldehído	987	0,01 ± 0,00	tr	tr	tr
Nonanal	1157	0,03 ± 0,00 ^a	0,04 ± 0,02 ^{ab}	0,08 ± 0,04 ^{bc}	0,09 ± 0,04 ^c
Mirtenal + Dihidrocarvona	1235	0,09 ± 0,05 ^a	0,10 ± 0,05 ^a	0,13 ± 0,02 ^a	0,21 ± 0,10 ^b
Decanal	1243	0,04 ± 0,02 ^a	0,04 ± 0,02 ^a	0,14 ± 0,08 ^b	0,16 ± 0,06 ^b
Cuminaldehído	1268	0,04 ± 0,01 ^a	0,02 ± 0,01 ^a	0,04 ± 0,02 ^a	0,13 ± 0,09 ^b
Neral + Carvona	1270	tr ^a	0,02 ± 0,01 ^a	0,15 ± 0,13 ^b	0,04 ± 0,02 ^a
Geranial + Perialdehído	1292	0,05 ± 0,03	0,07 ± 0,06	0,15 ± 0,14	0,08 ± 0,02
Cetonas					
3-Hexanona	795	tr	tr	tr	tr
3-Heptanona*	888	tr	tr	tr	tr
3-Octanona	1019	0,19 ± 0,02 ^a	0,03 ± 0,03 ^b	0,09 ± 0,03 ^c	0,08 ± 0,02 ^c
β-Tujona	1158	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,02	0,01 ± 0,00	0,03 ± 0,02
Alcanfor	1193	0,59 ± 0,29 ^a	0,81 ± 0,24 ^{ab}	0,92 ± 0,19 ^{bc}	1,18 ± 0,29 ^c
Pinocarvona*	1208	0,02 ± 0,02 ^{ab}	0,02 ± 0,01 ^a	0,02 ± 0,01 ^a	0,05 ± 0,03 ^b
Verbenona	1245	2,22 ± 0,56 ^{ab}	1,52 ± 1,01 ^a	4,01 ± 1,83 ^c	3,13 ± 1,22 ^{bc}
Timoquinona	1276	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,03	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,02
(Z)-Jasmona	1399	tr ^a	tr ^a	0,01 ± 0,00 ^{ab}	0,01 ± 0,00 ^b
α-Ionona	1428	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01
β-Ionona	1497	0,01 ± 0,00 ^a	tr ^a	tr ^a	0,03 ± 0,02 ^b

Tabla III.1–11 (continuación)

COMPONENTES	I. R.	% ETo			
		80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Ésteres					
Acetato de etilo	732	tr	tr	tr	tr
Butirato de metilo	763	tr	tr	tr	tr
Acetato de bencilo	1214	0,15 ± 0,05 ^a	0,05 ± 0,01 ^b	0,05 ± 0,01 ^b	0,04 ± 0,01 ^b
Caprilato de etilo	1239	0,03 ± 0,00 ^a	0,03 ± 0,01 ^a	0,05 ± 0,01 ^b	0,04 ± 0,02 ^{ab}
Acetato de bornilo	1302	0,15 ± 0,08	0,13 ± 0,08	0,09 ± 0,05	0,65 ± 0,85
Acetato de terpenilo	1353	tr ^a	tr ^a	0,03 ± 0,03 ^b	tr ^a
Acetato de timilo*	1356	0,19 ± 0,20 ^a	0,04 ± 0,04 ^{bc}	0,03 ± 0,02 ^b	0,14 ± 0,10 ^{ac}
Acetato de nerilo	1366	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01
Acetato de geranilo	1385	0,02 ± 0,02	0,07 ± 0,10	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,00
Caprilato de butilo	1388	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01
Fenoles					
Éter metílico de timol	1265	0,06 ± 0,00	0,38 ± 0,43	0,13 ± 0,15	0,87 ± 1,58
Éter metílico de carvacrol	1272	0,70 ± 0,01	0,07 ± 0,08	0,44 ± 0,57	0,30 ± 0,41
Timol	1308	29,55 ± 3,99 ^a	31,20 ± 2,08 ^a	25,92 ± 4,07 ^a	19,21 ± 4,23 ^b
Carvacrol	1314	1,57 ± 0,16 ^{ab}	1,74 ± 0,18 ^a	1,29 ± 0,38 ^{ab}	1,13 ± 0,39 ^b
Eugenol	1358	0,02 ± 0,00	0,04 ± 0,04	0,08 ± 0,12	0,01 ± 0,00
(E)-Isoeugenol	1453	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,02
Epóxidos					
(Z)-Óxido de linalol	1123	0,02 ± 0,01 ^{ab}	0,01 ± 0,01 ^a	0,01 ± 0,00 ^a	0,04 ± 0,03 ^b
Óxido de cariofileno	1650	0,19 ± 0,01	0,23 ± 0,06	0,24 ± 0,14	0,34 ± 0,16
Éter					
1,8-Cineol	1076	2,32 ± 2,64	3,30 ± 2,86	1,26 ± 2,29	1,89 ± 3,46

^{a,b,c} Valores con distinto superíndice en la misma línea presentan diferencias estadísticamente significativas, de acuerdo con el test de la Menor Diferencia Significativa de Fisher ($P < 0,05$).

± Desviación estándar.

* Identificación tentativa.

I. R. Índices de Kovats (HP-5).

tr = trazas ($< 0,01\%$).

El m-xileno, que eluye con el hexanol, muestra su mejor rendimiento con las cantidades más altas de agua. El resto de hidrocarburos terpénicos cuya síntesis se ve afectada por el riego en esta recolección (α -gurjeneno, aloaromadendreno, elemeno, valenceno, α -muuroleno, γ -cadineno y δ -cadineno), alcanzan sus máximas concentraciones con el aporte hídrico más bajo.

En cuanto a los alcoholes, los más abundantes en esta especie de tomillo son (*E*) y (*Z*)-hidrato de sabineno, linalol, borneol, terpinen-4-ol y α -terpineol. En este grupo químico, 11 componentes se ven afectados por el riego diferenciado (butanol, hexanol, linalol, isoborneol, *p*-cimen-8-ol, α -terpineol, carveol, nerol, citronelol, geraniol y espatulenol). El butanol se encuentra en baja concentración, y alcanza sus mejores porcentajes con el tratamiento correspondiente al 80% de la ETo, significativamente superior al obtenido con el 20%. El α -terpineol, al igual que el hexanol, se ven favorecidos con el máximo aporte hídrico, aunque este último no parece distinguir entre el 80 y el 60% de la ETo. Por el contrario, linalol, isoborneol, carveol, nerol, citronelol, geraniol (integrado junto al acetato de linalilo) y espatulenol mejoran significativamente sus porcentajes con una cantidad de agua mínima. En los aceites esenciales ricos en linalol, uno de los componentes que se determina con mayor intensidad en las pruebas olfatométricas realizadas al aceite extraído de *Th. hyemalis* (Goodner *et al.*, 2006), se ha medido también una importante actividad antirradicalaria (Lax *et al.*, 2007). Por último, *p*-cimen-8-ol presenta su concentración más baja con el agua equivalente al 80% de la ETo, significativamente inferior al resto de tratamientos.

Los aldehídos, por su parte, no son especialmente abundantes en *Th. hyemalis*, encontrándose diferencias significativas en siete casos. Mirtenal y cuminaldehído ven significativamente aumentadas sus proporciones relativas cuando reciben el menor riego, en tanto que nonanal y decanal responden por igual al 40 y 20% de la ETo, con concentraciones significativamente superiores a las obtenidas cuando se les suministra más agua. El heptanal alcanza su mejor porcentaje con el 60% ETo, en tanto que el neral presenta un resultado significativamente superior con el 40%. (*E*)-2-hexenal no muestra diferencias entre 80, 60 y 20% de la ETo, siendo el porcentaje obtenido con el 40% significativamente inferior al alcanzado con el 20%. Todo esto nos lleva a pensar que en la presente recolección, la síntesis de estos compuestos se ve favorecida, en general, por bajos aportes hídricos.

Debe tenerse en cuenta que tanto mirtenal como neral se integran junto a dihidrocarvona y carvona respectivamente, y al igual que ocurre con los casos anteriormente mencionados en los que dos componentes distintos comparten el mismo pico cromatográfico, resulta difícil determinar si su comportamiento está motivado por su carácter aldehídico o cetónico.

Respecto a las cetonas, además de en las mencionadas dihidrocarvona y carvona, el análisis estadístico detecta diferencias significativas en seis casos más. Verbenona y alcanfor son los compuestos de este tipo más abundantes en *Th. hyemalis*. El alto contenido en verbenona es característico de esta especie, alcanzando su máxima proporción relativa con el aporte hídrico equivalente al 40% de la ETo, que resulta ser significativamente superior a la conseguida con el 80 y 60%. El 20% parece tener el mismo efecto que el 40 en este caso, al igual que ocurre con el alcanfor, cuyo mejor porcentaje se obtiene con estos dos tratamientos, en tanto que el alcanzado con el 80% de la ETo es significativamente más bajo. El riego equivalente al 60% de la ETo es el menos adecuado en el caso de 3-octanona, componente que mejora su rendimiento con el aporte hídrico más alto. Por el contrario, β -ionona, (Z)-jasmona y pinocarvona incrementan significativamente sus concentraciones relativas con la menor cantidad de agua. La β -ionona, a pesar de encontrarse en baja concentración, presenta una elevada intensidad de aroma (Goodner *et al.*, 2006).

Los ésteres que se presentan en mayor proporción en esta labiada son acetato de bornilo, acetato de timilo y acetato de bencilo. Los distintos niveles de riego producen cambios significativos en cinco de estos componentes. El acetato de linalilo muestra un porcentaje significativamente superior al resto de tratamientos con el aporte hídrico más bajo. Por el contrario, el acetato de bencilo alcanza su mayor concentración con el 80% de la ETo, al igual que el acetato de timilo, aunque este último no presenta diferencias significativas entre el 80 y el

20%, debido probablemente a la elevada desviación estándar detectada en ambos tratamientos. Por último, caprilato de etilo, y especialmente acetato de terpenilo, mejoran significativamente sus porcentajes si se riegan con el agua necesaria para compensar el 40% de la ETo, efecto que en el caso del caprilato de etilo es equiparable al conseguido con el 20%.

El apartado dedicado a los compuestos fenólicos es especialmente importante, teniendo en cuenta que el timol está considerado como el componente definitorio de calidad en estos aceites. Este fenol alcanza su máxima concentración relativa con el 60% de la ETo ($31,2 \pm 2,08\%$), no apreciándose diferencias significativas entre este tratamiento y los correspondientes al 80 y 40%. El aporte hídrico más bajo resulta ser el menos adecuado para la síntesis de este constituyente en invierno de 2002, con un porcentaje de $19,2 \pm 4,23\%$, significativamente inferior al resto. El carvacrol presenta unas proporciones relativas que varían con el riego de forma semejante a lo mencionado con el timol, aunque en este caso las únicas diferencias con significación estadística las encontramos entre el 60 y el 20% de la ETo. Ambos constituyentes muestran propiedades similares, pero el carvacrol suele aparecer en menor proporción en la mayoría de las plantas de esta especie, como quedará de manifiesto en el capítulo dedicado a la variabilidad intraespecífica.

Finalmente, sólo en un epóxido, (*Z*)-óxido de linalol, se aprecian diferencias significativas entre tratamientos, consiguiéndose el mejor resultado con el riego equivalente al 20% de la ETo, al igual que ocurría con el linalol, aunque tal resultado, en el caso del epóxido, no es significativamente superior al conseguido con el 80%.

Mencionar que el único éter identificado en esta labiada, 1,8-cineol, si bien no presenta diferencias significativas entre tratamientos, muestra sus mejores porcentajes con los aportes hídricos más altos, aunque la

variabilidad determina una desviación estándar muy elevada en todos los casos.

En resumen, considerando especialmente la tendencia observada en el timol, y que otros componentes responden igualmente bien con una cantidad de agua no demasiado alta, además del hecho de que numerosos constituyentes no parecen verse afectados por el riego diferenciado, podemos afirmar que en esta recolección un suplemento de agua que compense el 40% de la ETo es suficiente para asegurar una buena calidad en el aceite esencial.

III. 1. 5. 1. 2. Primavera 2002.

El análisis cromatográfico del aceite esencial extraído a las plantas de *Th. hyemalis* recolectadas en primavera (Tabla III.1–12), muestra variaciones con respecto a la recolección de invierno, que en algunos casos son bastante marcadas, no sólo por la presencia de diferencias significativas donde antes no las había y viceversa, sino también por las distintas concentraciones relativas de los componentes en ambas recolecciones.

Los hidrocarburos terpénicos que en primavera muestran diferencias significativas (triciclono, α -pineno, canfeno, verbeneno, sabineno, Δ_3 -careno, terpinoleno, aromadendreno, aloaromadendreno, elemeno, β -selineno, δ -cadineno y m-xileno) no coinciden con los de invierno en muchos casos. Triciclono, canfeno, verbeneno, sabineno y terpinoleno responden mejor en primavera con niveles bajos de agua (40 ó 20% de la ETo), en tanto que en invierno no se muestran sensibles a los diferentes riegos. Otro compuesto, el α -pineno, presenta en la segunda recolección un porcentaje significativamente más bajo cuando a las plantas se les aplica el riego equivalente al 80% de la ETo. No hay diferencias para este terpeno entre el 60, 40 y 20%, tratamientos con los

que eleva sus promedios respecto a invierno. El aromadendreno, por el contrario, disminuye su concentración con todos los tratamientos al cambiar la estación, y el rendimiento alcanzado con el suplemento hídrico más elevado es significativamente superior a los obtenidos con el 40 y 20% de la ETo en primavera. El β -selineno no varía apenas sus porcentajes respecto a invierno, aunque en primavera responde significativamente mejor con el 60% de la ETo, al igual que δ -cadineno, que reduce la cantidad detectada respecto a invierno con los suplementos hídricos más bajos. El elemeno presenta en primavera diferencias al comparar el 80 con el 40 y 20% de la ETo, resultando los menores aportes hídricos significativamente más eficaces. La presencia de Δ_3 -careno en la segunda cosecha se incrementa significativamente con el 80%, en tanto que en invierno le sucede lo propio con el 20%. El m-xileno, en la recolección de mayo, únicamente muestra diferencias significativas entre el 60 y 20% de la ETo, siendo más adecuado el primero; por su parte, el aloaromadendreno aumenta significativamente sus proporciones relativas con el 80%, pero no se aprecian diferencias entre dicho tratamiento y el equivalente al 20% de la ETo, con el que en invierno alcanza su mejor resultado.

De los alcoholes que demuestran distinguir entre riegos en la primavera de 2002, sólo hexanol, isoborneol, p-cimen-8-ol, α -terpineol y espatulenol lo hacen también en invierno. El hexanol, con diferencias significativas entre el 60 y 20% de la ETo en primavera, eleva su concentración con el 40 y 20% respecto a invierno. El isoborneol consigue sus mejores resultados con el 60 y 40% de la ETo, aunque sin diferencias significativas con el 20%. El α -terpineol incrementa significativamente su porcentaje con el 60% de la ETo en la segunda recolección, aunque registra una elevada desviación estándar en muchos casos, lo que demuestra de nuevo la variabilidad presente entre estas plantas. En primavera, espatulenol y p-cimen-8-ol necesitan poca cantidad de agua (20 ó 40% de la ETo) para alcanzar concentraciones óptimas, al igual que en invierno.

Tabla III.1–12. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. hyemalis*, en función del aporte hídrico (Primavera 2002).

COMPONENTES	I. R.	% ETO			
		80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Hidrocarburos terpénicos					
Triciclono*	931	0,01 ± 0,01 ^a	0,01 ± 0,00 ^a	0,03 ± 0,02 ^b	0,01 ± 0,00 ^{ab}
α-Tujeno*	940	1,04 ± 0,22	1,18 ± 0,81	1,30 ± 0,41	0,63 ± 0,04
α-Pineno	949	0,34 ± 0,06 ^a	2,47 ± 2,19 ^b	1,46 ± 0,82 ^{ab}	2,24 ± 1,77 ^b
Canfeno	969	0,35 ± 0,16 ^a	0,29 ± 0,10 ^a	1,06 ± 0,95 ^b	0,35 ± 0,03 ^a
Verbeneno*	976	0,05 ± 0,04 ^{ab}	0,03 ± 0,02 ^a	0,09 ± 0,05 ^b	0,05 ± 0,02 ^{ab}
Sabineno	1001	0,14 ± 0,10 ^a	0,40 ± 0,15 ^b	0,50 ± 0,32 ^b	0,83 ± 0,04 ^c
β-Pineno	1007	0,27 ± 0,15	0,20 ± 0,06	0,30 ± 0,21	0,16 ± 0,02
Mirceno	1026	0,90 ± 0,33	1,27 ± 0,74	1,07 ± 0,37	0,79 ± 0,05
α-Felandreno	1042	0,18 ± 0,03	0,18 ± 0,06	0,17 ± 0,04	0,16 ± 0,01
Δ ₃ -Careno	1048	0,07 ± 0,01 ^a	0,05 ± 0,02 ^b	0,06 ± 0,01 ^b	0,04 ± 0,00 ^b
α-Terpineno	1058	1,33 ± 0,51	1,26 ± 0,47	1,51 ± 0,47	1,70 ± 0,06
p-Cimeno	1068	27,29 ± 7,87	27,62 ± 9,50	28,94 ± 6,35	22,49 ± 0,72
Limoneno	1073	1,61 ± 0,64	1,34 ± 0,46	1,79 ± 0,79	2,18 ± 0,52
(Z)-β-Ocimeno	1086	0,04 ± 0,04	0,11 ± 0,18	0,06 ± 0,07	0,04 ± 0,04
(E)-β-Ocimeno*	1097	0,17 ± 0,21	0,52 ± 0,85	0,38 ± 0,46	0,18 ± 0,17
γ-Terpineno	1109	9,42 ± 4,25	9,24 ± 2,45	10,99 ± 3,89	9,07 ± 0,82
Terpinoleno + (E)-Óxido de linalol	1141	0,20 ± 0,03 ^a	0,35 ± 0,18 ^b	0,38 ± 0,17 ^b	0,54 ± 0,03 ^c
α-Copaeno	1378	tr	0,01 ± 0,00	tr	tr
α-Gurjeneno*	1408	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,02 ± 0,01
(E)-Cariofileno	1419	0,72 ± 0,23	0,76 ± 0,61	0,88 ± 0,35	0,31 ± 0,10
Calereno	1432	0,01 ± 0,02	tr	0,01 ± 0,01	tr
Aromadendreno	1440	0,04 ± 0,02 ^a	0,03 ± 0,02 ^{ab}	0,02 ± 0,01 ^b	0,01 ± 0,01 ^b
α-Humuleno	1457	0,03 ± 0,01	0,07 ± 0,09	0,05 ± 0,02	0,01 ± 0,00
Aloaromadendreno	1465	0,13 ± 0,05 ^a	0,07 ± 0,02 ^b	0,07 ± 0,01 ^b	0,12 ± 0,03 ^a
Elemeno*	1481	0,01 ± 0,00 ^a	0,01 ± 0,00 ^{ab}	0,01 ± 0,00 ^b	0,02 ± 0,00 ^b
β-Selineno*	1485	0,01 ± 0,00 ^a	0,02 ± 0,01 ^b	0,01 ± 0,00 ^a	0,01 ± 0,00 ^a
Valenceno	1510	0,27 ± 0,08	0,32 ± 0,17	0,32 ± 0,04	0,41 ± 0,04
α-Muuroleno*	1516	0,02 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,03 ± 0,02	0,02 ± 0,01
γ-Cadineno*	1537	0,05 ± 0,02	0,09 ± 0,03	0,06 ± 0,05	0,05 ± 0,02
δ-Cadineno	1553	0,10 ± 0,02 ^a	0,13 ± 0,02 ^b	0,08 ± 0,04 ^a	0,09 ± 0,03 ^a
Alcoholes					
Butanol	742	tr	tr	tr	tr
3-Metil-3-buten-1-ol	766	tr	tr	tr	tr
3-penten-2-ol*	784	tr	tr	tr	tr
3-metil-2-buten-1-ol*	789	tr	tr	tr	tr
(Z)-3-Hexen-1-ol	852	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
(E)-2-Hexen-1-ol	865	tr	tr	tr	tr
Hexanol + m-Xileno	867	0,02 ± 0,01 ^{ab}	0,03 ± 0,01 ^a	0,03 ± 0,00 ^{ab}	0,02 ± 0,00 ^b
1-Octen-3-ol	1009	0,13 ± 0,12	0,20 ± 0,14	0,13 ± 0,07	0,15 ± 0,05
3-Octanol	1031	0,02 ± 0,02 ^a	0,03 ± 0,03 ^a	0,01 ± 0,00 ^a	0,09 ± 0,10 ^b

Tabla III.1–12 (continuación)

COMPONENTES	I. R.	% ETo			
		80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Alcoholes (continuación)					
(E)-Hidrato de sabineno	1116	0,67 ± 0,24 ^a	2,76 ± 2,37 ^{ab}	3,32 ± 3,22 ^b	15,42 ± 0,28 ^c
(Z)-Hidrato de sabineno*	1151	0,17 ± 0,06	4,04 ± 4,24	3,19 ± 4,51	1,05 ± 0,19
Linalol	1152	3,18 ± 2,43	1,87 ± 1,53	1,58 ± 1,28	1,54 ± 0,04
(E)-Pinocarveol	1186	0,25 ± 0,28	0,22 ± 0,02	0,23 ± 0,11	0,20 ± 0,03
(Z)-Verbenol	1189	0,38 ± 0,13 ^a	0,86 ± 0,52 ^b	0,83 ± 0,40 ^b	0,86 ± 0,08 ^b
(E)-Verbenol*	1197	0,04 ± 0,01 ^a	0,03 ± 0,01 ^a	0,02 ± 0,00 ^a	0,06 ± 0,03 ^b
Isoborneol	1203	tr ^a	0,01 ± 0,00 ^b	0,01 ± 0,00 ^b	tr ^{ab}
Borneol	1211	1,09 ± 0,35 ^a	1,23 ± 0,50 ^a	3,84 ± 3,64 ^b	1,33 ± 0,00 ^{ab}
Terpinen-4-ol	1220	0,51 ± 0,14 ^a	1,34 ± 1,04 ^a	3,05 ± 2,67 ^b	4,14 ± 0,18 ^b
p-Cimen-8-ol	1227	0,18 ± 0,04 ^{ab}	0,14 ± 0,11 ^a	0,25 ± 0,04 ^c	0,24 ± 0,05 ^{bc}
α-Terpineol	1231	0,62 ± 0,26 ^a	12,83 ± 13,70 ^b	1,98 ± 2,37 ^a	1,54 ± 0,05 ^a
Carveol	1252	0,04 ± 0,02	0,02 ± 0,01	0,04 ± 0,03	0,05 ± 0,02
Nerol + Citronelol	1260	0,04 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,02
Geraniol + Acetato de linalilo	1281	0,06 ± 0,05	0,04 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01
Espatulanol	1640	0,34 ± 0,06 ^a	0,29 ± 0,11 ^a	0,37 ± 0,09 ^{ab}	0,46 ± 0,08 ^b
Aldehídos					
(E)-2-Butenal*	735	tr	tr	tr	tr
Pentanal	754	tr	tr	tr	tr
Hexanal + Butirato de etilo	802	tr	tr	tr	tr
Furfural	832	tr	tr	tr	tr
(E)-2-Hexenal	849	tr	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
Heptanal	904	tr	tr	tr	tr
Benzaldehído	987	tr	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01
Nonanal	1157	0,04 ± 0,06	0,04 ± 0,02	0,08 ± 0,07	0,11 ± 0,01
Mirtenal + Dihidrocarvona	1235	0,13 ± 0,08	0,12 ± 0,05	0,16 ± 0,09	0,22 ± 0,05
Decanal	1243	0,06 ± 0,04 ^a	0,13 ± 0,17 ^{ab}	0,22 ± 0,15 ^b	0,23 ± 0,06 ^b
Cuminaldehído	1268	0,03 ± 0,02	0,07 ± 0,04	0,05 ± 0,02	0,06 ± 0,02
Neral + Carvona	1270	0,02 ± 0,02	0,03 ± 0,01	0,02 ± 0,02	0,03 ± 0,03
Geranial + Perialdehído	1292	0,19 ± 0,07	0,21 ± 0,02	0,23 ± 0,10	0,13 ± 0,03
Cetonas					
3-Hexanona	795	tr	tr	tr	tr
3-Heptanona*	888	tr	tr	tr	tr
3-Octanona	1019	0,07 ± 0,04	0,04 ± 0,02	0,06 ± 0,06	0,03 ± 0,00
β-Tujona	1158	0,02 ± 0,02	0,03 ± 0,02	0,03 ± 0,04	0,03 ± 0,00
Alcanfor	1193	0,96 ± 0,48 ^a	0,64 ± 0,16 ^a	1,04 ± 0,26 ^{ab}	1,50 ± 0,71 ^b
Pinocarvona*	1208	0,01 ± 0,00	0,03 ± 0,02	0,03 ± 0,03	0,02 ± 0,00
Verbenona	1245	4,33 ± 2,52	2,01 ± 1,37	4,10 ± 2,84	4,45 ± 1,20
Timoquinona	1276	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,03	0,03 ± 0,03	0,04 ± 0,03
(Z)-Jasmona	1399	tr ^a	0,01 ± 0,00 ^{ab}	0,01 ± 0,01 ^b	tr ^a
α-Ionona	1428	0,01 ± 0,00 ^a	0,01 ± 0,00 ^a	0,01 ± 0,00 ^a	tr ^b
β-Ionona	1497	0,02 ± 0,01 ^a	0,02 ± 0,01 ^a	0,01 ± 0,01 ^{ab}	tr ^b

Tabla III.1–12 (continuación)

COMPONENTES	I. R.	% ETo			
		80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Ésteres					
Acetato de etilo	732	tr	tr	tr	tr
Butirato de metilo	763	tr	tr	tr	tr
Acetato de bencilo	1214	0,14 ± 0,14	0,10 ± 0,03	0,08 ± 0,02	0,07 ± 0,00
Caprilato de etilo	1239	0,07 ± 0,04	0,04 ± 0,01	0,07 ± 0,04	0,08 ± 0,00
Acetato de bornilo	1302	0,09 ± 0,02	0,10 ± 0,04	0,11 ± 0,01	0,08 ± 0,02
Acetato de terpenilo	1353	tr	0,04 ± 0,05	0,02 ± 0,02	tr
Acetato de timilo*	1356	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01
Acetato de nerilo	1366	0,03 ± 0,02	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,02	tr
Acetato de geranilo	1385	0,03 ± 0,05	0,02 ± 0,02	0,01 ± 0,01	tr
Caprilato de butilo	1388	0,01 ± 0,01 ^{ab}	0,02 ± 0,01 ^a	0,01 ± 0,01 ^{bc}	tr ^c
Fenoles					
Éter metílico de timol	1265	0,53 ± 0,55	0,18 ± 0,31	0,13 ± 0,09	0,48 ± 0,55
Éter metílico de carvacrol	1272	0,28 ± 0,30	0,43 ± 0,35	0,70 ± 0,59	0,07 ± 0,04
Timol	1308	29,20 ± 2,68 ^a	17,15 ± 8,62 ^b	14,46 ± 3,24 ^b	16,55 ± 2,12 ^b
Carvacrol	1314	2,05 ± 0,25 ^a	1,39 ± 0,79 ^b	0,98 ± 0,24 ^b	1,27 ± 0,30 ^b
Eugenol	1358	0,08 ± 0,02	0,12 ± 0,03	0,07 ± 0,06	0,08 ± 0,02
(<i>E</i>)-Isoeugenol	1453	0,03 ± 0,01 ^a	0,01 ± 0,01 ^b	0,02 ± 0,01 ^b	0,02 ± 0,00 ^b
Epóxidos					
(<i>Z</i>)-Óxido de linalol	1123	0,02 ± 0,01 ^a	0,02 ± 0,01 ^a	0,01 ± 0,01 ^{ab}	tr ^b
Óxido de cariofileno	1650	0,25 ± 0,07	0,27 ± 0,12	0,33 ± 0,08	0,19 ± 0,07
Éter					
1,8-Cineol	1076	2,06 ± 2,21	1,41 ± 1,55	1,69 ± 2,04	0,61 ± 0,68

^{a,b,c} Valores con distinto superíndice en la misma línea presentan diferencias estadísticamente significativas, de acuerdo con el test de la Menor Diferencia Significativa de Fisher ($P < 0,05$).

± Desviación estándar.

* Identificación tentativa.

I. R. Índices de Kovats (HP-5).

tr = trazas (< 0,01%).

Por otra parte, alcoholes como 3-octanol, (*E*)-hidrato de sabineno, (*Z*) y (*E*)-verbenol, borneol y terpinen-4-ol, presentan diferencias con significación estadística que no aparecen en invierno. Los dos primeros aumentan significativamente sus proporciones relativas con el nivel de agua más bajo, siendo esto especialmente relevante en el caso del (*E*)-hidrato de sabineno, que incrementa su concentración 23 veces al comparar con el 80% de la ETo; (*Z*)-verbenol muestra su peor porcentaje

con el 80% de la ETo, significativamente inferior al resto, elevando sus promedios respecto a invierno. Y (*E*)-verbenol presenta una concentración significativamente superior con el 20% en primavera, con unos valores medios similares a los de invierno. Por último, terpinen-4-ol y borneol mejoran significativamente su respuesta en la cosecha de mayo con los dos niveles de agua más bajos.

Cabe destacar el comportamiento del linalol, que en invierno alcanza valores significativamente más altos con el menor aporte hídrico, y en primavera no se muestra sensible a los distintos niveles de agua.

Sólo un aldehído, el decanal, presenta diferencias significativas en primavera. En esta estación, al igual que en invierno, los mejores resultados se consiguen con el 40 y 20% de la ETo, con la diferencia de que en la segunda recolección, el valor alcanzado con el 60% no es significativamente distinto de los demás.

Alcanfor, (*Z*)-jasmona, α y β -ionona, son las cetonas cuyos porcentajes presentan diferencias en función de agua recibida por las plantas en mayo. El alcanfor, que incrementa su presencia en el aceite esencial respecto a invierno con casi todos los tratamientos, mejora significativamente su concentración en primavera con el 40 y, especialmente, el 20% de la ETo. La (*Z*)-jasmona coincide en responder igualmente bien con el 40%, pero dicho tratamiento no es diferente del 60%. Otra cetona, α -ionona, cuya síntesis no se ve afectada en invierno por ningún riego, reduce significativamente su concentración en primavera con el 20% de la ETo, y β -ionona, por su parte, también obtiene en la recolección de mayo su peor resultado con el nivel de agua más bajo, pero en este caso sin mostrar diferencias con el 40% de la ETo.

Respecto a los ésteres, el caprilato de butilo es el único que distingue entre riegos en la segunda recolección, alcanzando con el 60% de la ETo un porcentaje significativamente superior al conseguido con el

40 y el 20%. Este componente no muestra diferencias entre tratamientos en invierno.

Timol y carvacrol manifiestan también en primavera diferencias en sus concentraciones en función del riego. El primero presenta un porcentaje significativamente superior con el aporte hídrico más elevado, que además es el único tratamiento con el que se mantiene una proporción relativa similar a la de invierno, ya que con el resto, este fenol reduce su presencia en el aceite esencial. El carvacrol adopta un comportamiento similar, con una concentración significativamente más alta con el 80% de la ETo, pero en este caso se incrementa el porcentaje alcanzado respecto a invierno tanto con dicho tratamiento como con el 20%, en tanto que disminuye con el 60 y 40%. Otro fenol, (*E*)-isoeugenol, que en invierno no muestra diferencias significativas, presenta en mayo una proporción significativamente mejor con el 80% de la ETo.

Finalmente, el (*Z*)-óxido de linalol alcanza con el 20% de la ETo una cantidad relativa significativamente inferior a las mostradas con el 80 y 60%, en tanto que en invierno exhibe un comportamiento opuesto, ya que obtiene su mejor porcentaje con el aporte hídrico más bajo.

A la vista de estos resultados, se puede concluir que la segunda recolección de *Th. hyemalis* requiere un aporte hídrico superior al de invierno para garantizar la calidad del aceite esencial, ya que parece que en primavera, los fenoles cuya síntesis se ve favorecida por un determinado nivel de riego mejoran sus porcentajes con la cantidad de agua más elevada de todas las ensayadas, aunque otros componentes de estas sustancias, entre los que se incluyen algunos terpenos y alcoholes con concentración relativa importante, no manifiestan este comportamiento, ya que incrementan su presencia en el aceite con suplementos hídricos bajos.

III. 1. 5. 1. 3. Comparativa invierno/primavera 2002.

Resulta interesante analizar si el perfil volátil del aceite esencial varía significativamente con el cambio de estación. Por ello, se ha realizado un estudio estadístico en el cual se determina, con los principales constituyentes de estos aceites, la presencia o ausencia de diferencias entre invierno y primavera en todos los tratamientos de riego (Tabla III.1–13).

Mirceno y p-cimeno, a pesar de elevar sus concentraciones en primavera con todos los tratamientos, no presentan diferencias significativas respecto a invierno. El γ -terpineno, sin embargo, muestra mayores porcentajes en la primera recolección, los cuales son incluso significativamente más altos con el 60 y 20% de la ETo.

Tabla III.1–13. Análisis estadístico comparativo invierno/primavera 2002.

Componentes	% ETo			
	80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Mirceno	ND	ND	ND	ND
p-Cimeno	ND	ND	ND	ND
γ -Terpineno	ND	D	ND	D
(E)-Hidrato de sabineno	ND	ND	ND	D
(Z)-Hidrato de sabineno	ND	ND	ND	ND
Linalol	ND	ND	ND	ND
Alcanfor	ND	ND	ND	ND
Borneol	D	D	ND	ND
α -Terpineol	D	ND	ND	D
Verbenona	ND	ND	ND	ND
Timol	ND	D	D	ND
Carvacrol	D	ND	ND	ND

D = Diferencias estadísticamente significativas entre estaciones ($P < 0,05$).
 ND = No existen diferencias.

Los alcoholes (*E*) y (*Z*)-hidrato de sabineno también incrementan su presencia en el aceite en mayo, especialmente el primero, que con el aporte hídrico equivalente al 20% de la ETo multiplica casi por nueve por su concentración respecto a invierno, lo que explica las diferencias significativas detectadas en ese tratamiento. Con el linalol se obtienen mejores resultados en primavera, al comparar con la primera recolección, con el 80, 60 y 40% de la ETo, pero no con el 20%, aunque este tratamiento, en invierno, si bien proporciona una concentración bastante alta en promedio, muestra una desviación estándar igualmente elevada, lo cual explica la ausencia de diferencias significativas. El borneol, por su parte, presenta en invierno porcentajes superiores en los tratamientos que implican el mayor y menor aporte hídrico, bajando su concentración con los tratamientos intermedios respecto a primavera, aunque las diferencias entre estaciones sólo son significativas con el 80 y 40% de la ETo. En cuanto al α -terpineol, su concentración de mayo se ve incrementada respecto a febrero con todos los tratamientos, excepto el 80% de la ETo, y se detectan diferencias significativas entre las dos estaciones con el 80 y 20%, a pesar del contraste en cuanto a presencia de este componente que encontramos en estas plantas.

La verbenona, cuya presencia en concentraciones relativamente altas caracteriza a *Th. hyemalis*, muestra en general un porcentaje superior en primavera, pero sin diferenciarse significativamente de invierno; en tanto que el aumento que presenta el alcanfor en su concentración en la segunda recolección con todos los tratamientos, salvo el correspondiente al 60% de la ETo, no resulta ser significativo.

Analizando el comportamiento del timol, vemos que la reducción de los porcentajes de este fenol en primavera respecto a invierno es significativa con el 60 y 40% de la ETo, ya que con ambos tratamientos el descenso en el contenido de timol es bastante notable, mientras el valor alcanzado con el 80% es muy semejante en ambas estaciones. El aporte hídrico más bajo no resulta adecuado para la producción de timol en el

primer año de aplicación del riego diferenciado en ninguna estación, ya que el valor alcanzado con dicho riego es relativamente bajo en ambos casos. El carvacrol, por su parte, sólo muestra diferencias significativas entre estaciones con el 80% de la ETo, con una concentración superior en primavera.

Basándonos en los datos comentados hasta ahora, es posible afirmar, a modo de resumen, que un porcentaje importante de componentes se ven favorecidos por los aportes hídricos más bajos (20 ó 40% de la ETo) en ambas estaciones, encontrándose entre éstos, en la recolección de invierno, γ -terpineno, aloaromadendreno, elemeno, valenceno, α -muuroleno, linalol, isoborneol, carveol, nerol, citronelol, geraniol, espatulenol, mirtenal, decanal, cuminaldehído, neral, alcanfor, dihidrocarvona, verbenona, carvona, β -ionona, caprilato de etilo, acetato de linalilo, acetato de terpenilo y (*Z*)-óxido de linalol; en primavera, los componentes que destacan con estos tratamientos son triciclono, canfeno, verbeneno, sabineno, terpinoleno, 3-octanol, (*E*)-hidrato de sabineno, (*E*)-verbenol, borneol, terpinen-4-ol, *p*-cimen-8-ol, espatulenol, decanal y alcanfor.

Los riegos más abundantes, por el contrario, benefician en invierno a *m*-xileno, hexanol, α -terpineol, heptanal, 3-octanona y acetato de bencilo; y en primavera, los componentes que se destacan con el 80 ó 60% de la ETo son Δ_3 -careno, aromadendreno, β -selineno, δ -cadineno, α -terpineol, caprilato de butilo, timol, carvacrol y (*E*)-isoeugenol.

El resto de componentes no muestran diferencias o bien no manifiestan una afinidad claramente definida hacia una cantidad escasa o elevada de agua, ya que pueden reaccionar igualmente bien con aportes hídricos muy diferentes.

Teniendo todo esto en cuenta, regar con el agua equivalente al 40% de la ETo es lo más indicado en la recolección de invierno correspondiente al primer año de ensayo, ya que la calidad del aceite esencial no mejora significativamente aplicando mayores cantidades de

agua. Por el contrario, en primavera de este mismo año, primero con riego diferenciado, se necesita más agua, hasta el 80% de la ETo, para conseguir una calidad óptima en el aceite.

Puede ser beneficioso, por lo tanto, establecer cultivos de *Th. hyemalis*, ya que su primera cosecha anual, con un escaso riego, puede proporcionar un aceite de calidad, adelantándose a la producción de otras especies de tomillo. La siega de primavera, ya que en nuestra región no resulta rentable aumentar el suplemento hídrico hasta el 80%, se podría dedicar a la obtención de hoja para ser empleada como condimento alimentario, puesto que en lo referente a la producción de biomasa, la segunda recolección de 2002 no se ve mermada por aplicar un escaso aporte de agua, que podría ser el equivalente al 40% de la ETo.

III. 1. 5. 1. 4. Invierno 2003.

En esta recolección (Tabla III.1–14), el efecto que los distintos tratamientos de riego pueden tener sobre el perfil volátil de estos aceites parece haberse atenuado, si lo comparamos con el invierno anterior, ya que únicamente se aprecian diferencias con significación estadística en seis componentes: linalol, benzaldehído, 3-hexanona, caprilato de butilo, carvacrol y (Z)-óxido de linalol.

Si nos detenemos en los terpenos, observamos que en esta recolección no se aprecian diferencias significativas entre tratamientos en ningún caso, a diferencia de lo ocurrido en 2002. De hecho, en algunos componentes, como α -tujeno y mirceno, el resultado es completamente distinto en los dos años, ya que en 2003 aparecen los promedios más elevados en los tratamientos que en 2002 proporcionaban los peores rendimientos. Continuando con el seguimiento a los constituyentes que en invierno de 2002 mostraban diferencias significativas, el α -felandreno presenta en 2003 el mejor resultado con el aporte hídrico más bajo, a

diferencia de 2002, recolección en la que se necesita aumentar el riego hasta el 40 o 60% de la ETo para aumentar la concentración relativa de este compuesto. El m-xileno mejora sus porcentajes en 2003 respecto a 2002 con aportes de agua bajos. Por el contrario, aloaromadendreno, elemeno, valenceno, α -muuroleno y γ y δ -cadineno necesitan en 2003 más agua que en 2002 para alcanzar sus mejores promedios. Por su parte, la tendencia de Δ_3 -careno y α -gurjeneno en 2003 es igual a la de 2002, ya que el primero disminuye su concentración relativa con el suplemento de agua más bajo, y el segundo la aumenta. El precursor fenólico γ -terpineno ve mejorado su porcentaje en 2003 a medida que disminuye el agua que reciben las plantas.

Es importante recordar que, por lo que respecta a los terpenos, en 2003 sólo podemos señalar tendencias, ya que el diferente aporte de agua no afecta significativamente a su presencia en el aceite esencial de la planta.

En cuanto a los alcoholes, sólo el linalol se muestra sensible a los distintos tratamientos hídricos en esta recolección, alcanzando cantidades relativas significativamente más elevadas con los riegos abundantes, equivalentes al 80 y 60% de la ETo. El porcentaje más bajo aparece con el 20%, tratamiento con el que en 2002 se consigue el mejor resultado. El resto de alcoholes que anteriormente mostraban diferencias entre riegos varían ligeramente su respuesta en 2003. Algunos de ellos, como hexanol, no necesitan en 2003 un suplemento hídrico elevado para obtener un buen resultado, en tanto que nerol y citronelol mejoran el porcentaje logrado con el 80, 60 y 40% respecto al año anterior, al igual que carveol y espatulenol. El butanol aumenta la concentración alcanzada con el 40% de la ETo con relación a 2002, al igual que el isoborneol, que además muestra un descenso con el 20% respecto al primer año de ensayo. El p-cimen-8-ol y el α -terpineol presentan en 2003 sus promedios más elevados con el 80%, y el geraniol pasa, con dicho tratamiento, de aparecer en trazas en 2002 a tener un promedio relativamente alto en 2003, pero con una desviación estándar muy elevada.

Tabla III.1–14. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. hyemalis*, en función del aporte hídrico (Invierno 2003).

COMPONENTES	I. R.	% ETo			
		80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Hidrocarburos terpénicos					
Triciclono*	931	0,02 ± 0,02	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,02	0,03 ± 0,02
α-Tujeno*	940	0,83 ± 0,12	1,05 ± 0,32	0,96 ± 0,39	1,16 ± 0,84
α-Pineno	949	1,19 ± 1,09	1,10 ± 0,48	0,98 ± 0,26	2,72 ± 2,77
Canfeno	969	0,99 ± 1,01	0,69 ± 0,36	0,92 ± 0,62	1,10 ± 0,63
Verbeneno*	976	0,09 ± 0,03	0,08 ± 0,02	0,06 ± 0,03	0,10 ± 0,07
Sabineno	1001	0,12 ± 0,11	0,17 ± 0,16	0,20 ± 0,25	0,27 ± 0,30
β-Pineno	1007	0,22 ± 0,17	0,18 ± 0,13	0,11 ± 0,01	0,29 ± 0,21
Mirceno	1026	0,86 ± 0,63	0,63 ± 0,16	0,69 ± 0,24	0,85 ± 0,23
α-Felandreno	1042	0,12 ± 0,03	0,15 ± 0,02	0,15 ± 0,01	0,16 ± 0,03
Δ ₃ -Careno	1048	0,06 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,05 ± 0,01
α-Terpineno	1058	0,97 ± 0,41	1,29 ± 0,32	1,39 ± 0,39	1,51 ± 0,67
p-Cimeno	1068	32,36 ± 2,73	30,73 ± 5,55	31,42 ± 10,16	26,68 ± 7,43
Limoneno	1073	0,97 ± 0,36	1,14 ± 0,29	1,24 ± 0,16	1,38 ± 0,34
(Z)-β-Ocimeno	1086	0,03 ± 0,03	tr	0,05 ± 0,06	0,01 ± 0,00
(E)-β-Ocimeno*	1097	0,07 ± 0,08	0,03 ± 0,01	0,34 ± 0,45	0,05 ± 0,02
γ-Terpineno	1109	6,23 ± 3,57	9,31 ± 4,07	10,28 ± 2,47	11,50 ± 3,76
Terpinoleno + (E)-Óxido de linalol	1141	0,24 ± 0,06	0,23 ± 0,12	0,23 ± 0,10	0,28 ± 0,27
α-Copaeno	1378	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
α-Gurjeneno*	1408	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,06 ± 0,05
(E)-Cariofileno	1419	0,78 ± 0,25	1,23 ± 0,59	0,82 ± 0,22	0,51 ± 0,25
Calereno	1432	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
Aromadendreno	1440	0,05 ± 0,04	0,11 ± 0,06	0,06 ± 0,07	0,05 ± 0,03
α-Humuleno	1457	0,06 ± 0,02	0,07 ± 0,07	0,04 ± 0,02	0,03 ± 0,02
Aloaromadendreno	1465	0,06 ± 0,02	0,07 ± 0,07	0,11 ± 0,06	0,03 ± 0,02
Elemeno*	1481	0,01 ± 0,00	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01
β-Selineno*	1485	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,01
Valenceno	1510	0,24 ± 0,07	0,48 ± 0,37	0,39 ± 0,27	0,34 ± 0,16
α-Muuroleno*	1516	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,00	0,02 ± 0,01
γ-Cadineno*	1537	0,04 ± 0,02	0,09 ± 0,06	0,09 ± 0,03	0,07 ± 0,01
δ-Cadineno	1553	0,08 ± 0,02	0,12 ± 0,06	0,15 ± 0,04	0,11 ± 0,02
Alcoholes					
Butanol	742	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01	tr
3-Metil-3-buten-1-ol	766	tr	tr	tr	tr
3-penten-2-ol*	784	tr	tr	tr	tr
3-metil-2-buten-1-ol*	789	0,01 ± 0,00	tr	tr	tr
(Z)-3-Hexen-1-ol	852	tr	tr	tr	tr
(E)-2-Hexen-1-ol	865	tr	tr	tr	tr
Hexanol + m-Xileno	867	0,03 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,02	0,02 ± 0,01
1-Octen-3-ol	1009	0,19 ± 0,07	0,18 ± 0,13	0,18 ± 0,04	0,17 ± 0,09
3-Octanol	1031	0,04 ± 0,02	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,06 ± 0,05

Tabla III.1-14 (continuación)

COMPONENTES	I. R.	% ETo			
		80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Alcoholes (continuación)					
(<i>E</i>)-Hidrato de sabineno	1116	0,75 ± 0,35	1,24 ± 1,35	3,44 ± 4,76	1,33 ± 1,38
(<i>Z</i>)-Hidrato de sabineno*	1151	0,46 ± 0,57	0,84 ± 1,50	0,35 ± 0,27	1,65 ± 2,90
Linalol	1152	2,21 ± 0,54 ^a	1,78 ± 0,63 ^a	0,90 ± 0,32 ^b	0,45 ± 0,25 ^b
(<i>E</i>)-Pinocarveol	1186	0,23 ± 0,12	0,22 ± 0,08	0,20 ± 0,01	0,33 ± 0,15
(<i>Z</i>)-Verbenol	1189	0,50 ± 0,24	0,78 ± 0,45	0,52 ± 0,20	0,69 ± 0,26
(<i>E</i>)-Verbenol*	1197	0,07 ± 0,04	0,06 ± 0,01	0,07 ± 0,02	0,07 ± 0,02
Isoborneol	1203	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
Borneol	1211	3,63 ± 3,51	2,51 ± 1,17	3,51 ± 2,17	3,52 ± 1,34
Terpinen-4-ol	1220	0,77 ± 0,35	1,00 ± 1,26	1,09 ± 1,16	1,76 ± 2,65
p-Cimen-8-ol	1227	0,38 ± 0,08	0,27 ± 0,05	0,29 ± 0,05	0,29 ± 0,09
α-Terpineol	1231	1,55 ± 2,35	0,45 ± 0,15	0,50 ± 0,33	0,63 ± 0,28
Carveol	1252	0,05 ± 0,02	0,05 ± 0,02	0,06 ± 0,01	0,06 ± 0,04
Nerol + Citronelol	1260	0,03 ± 0,02	0,05 ± 0,02	0,05 ± 0,03	0,05 ± 0,02
Geraniol + Acetato de linalilo	1281	0,13 ± 0,19	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,02 ± 0,01
Espatulanol	1640	0,41 ± 0,10	0,38 ± 0,22	0,35 ± 0,24	0,33 ± 0,18
Aldehídos					
(<i>E</i>)-2-Butenal*	735	tr	tr	tr	tr
Pentanal	754	tr	tr	tr	tr
Hexanal + Butirato de etilo	802	0,01 ± 0,00	tr	tr	tr
Furfural	832	0,01 ± 0,00	tr	tr	tr
(<i>E</i>)-2-Hexenal	849	0,01 ± 0,00	tr	tr	tr
Heptanal	904	tr	0,01 ± 0,00	tr	tr
Benzaldehído	987	0,01 ± 0,00 ^a	tr ^b	tr ^b	tr ^b
Nonanal	1157	0,06 ± 0,03	0,06 ± 0,03	0,06 ± 0,02	0,08 ± 0,03
Mirtenal + Dihidrocarvona	1235	0,15 ± 0,08	0,12 ± 0,07	0,13 ± 0,01	0,22 ± 0,09
Decanal	1243	0,17 ± 0,12	0,21 ± 0,11	0,21 ± 0,09	0,20 ± 0,09
Cuminaldehído	1268	0,07 ± 0,04	0,05 ± 0,02	0,07 ± 0,03	0,06 ± 0,02
Neral + Carvona	1270	0,03 ± 0,04	0,10 ± 0,08	0,17 ± 0,21	0,11 ± 0,08
Geranial + Perialdehído	1292	0,13 ± 0,05	0,21 ± 0,15	0,21 ± 0,25	0,16 ± 0,11
Cetonas					
3-Hexanona	795	tr ^a	0,01 ± 0,01 ^b	tr ^a	tr ^a
3-Heptanona*	888	tr	0,01 ± 0,01	tr	tr
3-Octanona	1019	0,13 ± 0,10	0,10 ± 0,05	0,12 ± 0,03	0,11 ± 0,09
β-Tujona	1158	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,04 ± 0,02
Alcanfor	1193	0,90 ± 0,41	1,06 ± 0,32	1,06 ± 0,20	1,36 ± 0,45
Pinocarvona*	1208	0,04 ± 0,02	0,02 ± 0,02	0,03 ± 0,01	0,05 ± 0,03
Verbenona	1245	3,12 ± 1,99	4,38 ± 1,69	4,13 ± 0,81	4,28 ± 1,17
Timoquinona	1276	0,06 ± 0,04	0,03 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,01
(<i>Z</i>)-Jasmona	1399	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	tr	0,01 ± 0,00
α-Ionona	1428	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
β-Ionona	1497	0,01 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01

Tabla III.1–14 (continuación)

COMPONENTES	I. R.	% ETo			
		80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Ésteres					
Acetato de etilo	732	tr	tr	tr	tr
Butirato de metilo	763	tr	tr	tr	tr
Acetato de bencilo	1214	0,04 ± 0,02	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,03 ± 0,03
Caprilato de etilo	1239	0,06 ± 0,01	0,07 ± 0,03	0,06 ± 0,02	0,07 ± 0,03
Acetato de bornilo	1302	0,09 ± 0,04	0,15 ± 0,12	0,09 ± 0,02	0,13 ± 0,09
Acetato de terpenilo	1353	tr	tr	tr	tr
Acetato de timilo*	1356	0,04 ± 0,05	0,04 ± 0,02	0,02 ± 0,01	0,05 ± 0,05
Acetato de nerilo	1366	0,03 ± 0,01	0,02 ± 0,02	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
Acetato de geranilo	1385	0,01 ± 0,01	0,07 ± 0,15	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01
Caprilato de butilo	1388	tr ^a	0,02 ± 0,01 ^b	tr ^a	tr ^a
Fenoles					
Éter metílico de timol	1265	0,92 ± 1,04	0,33 ± 0,43	0,41 ± 0,66	0,19 ± 0,16
Éter metílico de carvacrol	1272	0,35 ± 0,34	0,21 ± 0,26	0,43 ± 0,62	0,49 ± 0,49
Timol	1308	27,38 ± 5,25	27,31 ± 3,57	24,65 ± 2,51	24,24 ± 5,00
Carvacrol	1314	1,73 ± 0,05 ^{ab}	1,96 ± 0,44 ^a	1,33 ± 0,37 ^{bc}	1,24 ± 0,18 ^c
Eugenol	1358	0,03 ± 0,01	0,02 ± 0,02	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01
(E)-Isoeugenol	1453	0,03 ± 0,03	0,03 ± 0,02	0,02 ± 0,00	0,01 ± 0,00
Epóxidos					
(Z)-Óxido de linalol	1123	0,03 ± 0,01 ^a	0,01 ± 0,01 ^b	0,02 ± 0,01 ^b	0,01 ± 0,00 ^b
Óxido de cariofileno	1650	0,37 ± 0,14	0,34 ± 0,11	0,24 ± 0,08	0,21 ± 0,10
Éter					
1,8-Cineol	1076	2,80 ± 3,27	1,32 ± 2,72	0,11 ± 0,15	2,14 ± 2,97

^{a,b,c} Valores con distinto superíndice en la misma línea presentan diferencias estadísticamente significativas, de acuerdo con el test de la Menor Diferencia Significativa de Fisher ($P < 0,05$).

± Desviación estándar.

* Identificación tentativa.

I. R. Índices de Kovats (HP-5).

tr = trazas (< 0,01%).

Los aldehídos también modifican su comportamiento respecto al primer año de estudio, encontrando en 2003 que únicamente uno de estos compuestos, el benzaldehído, distingue entre tratamientos, con un porcentaje alcanzado con el 80% de la ETo significativamente superior al resto. Este componente, en 2002, no presenta diferencias entre los distintos riegos, aunque el resultado sea aparentemente el mismo, al contrario que el heptanal, que en 2003 no muestra diferencias

significativas que sí se detectan en 2002. El decanal experimenta un aumento en sus concentraciones relativas en todos los tratamientos en 2003, lo cual atenúa las diferencias mostradas en 2002, mientras el (*E*)-2-hexenal sufre el efecto contrario, mostrando valores más bajos con el 60, 40 y 20% de la ETo en 2003. El nonanal también disminuye las diferencias entre tratamientos en 2003 respecto a 2002, ya que eleva los porcentajes alcanzados con el 80 y 60%, y los baja ligeramente con el 40 y 20% de la ETo, en tanto que el cuminaldehído muestra igualmente un peor resultado con el 20%, pero mejora con el resto de aportes hídricos. Mirtenal y neral mantienen su mejor respuesta al mismo tratamiento, 20 y 40% respectivamente, en ambas recolecciones, pero en 2003 los promedios conseguidos con todos los riegos están más equilibrados, aunque en el caso del neral con una desviación estándar muy elevada.

El caso de las cetonas es semejante, con 3-hexanona mostrando diferencias significativas que no aparecen en 2002; en 2003, el suplemento hídrico equivalente al 60% de la ETo es significativamente mejor que el resto. No se detectan más diferencias en la respuesta al riego entre estos compuestos en 2003, pero comparando con el año anterior, vemos que en la mayor parte de los casos las concentraciones relativas determinadas en 2003 para las cetonas experimentan un aumento respecto a 2002. Esto sucede en todos los tratamientos en el caso de alcanfor, mientras otros constituyentes del aceite, como pinocarvona, o verbenona mantienen el mismo porcentaje alcanzado en 2002 con algunos tratamientos, y lo mejoran en otros. La 3-octanona, que en 2002 presenta su mejor resultado con el 80% de la ETo, disminuye este porcentaje en 2003, en tanto que eleva los promedios conseguidos con el 60, 40 y 20%. La (*Z*)-jasmona incrementa sus concentraciones con los tratamientos hídricos más abundantes en el segundo año de ensayo, y la β -ionona, por su parte, reduce ligeramente en 2003 la proporción alcanzada con el 20%, mejorando visiblemente con el 60 y 40% de la ETo. Todo esto contribuye a atenuar las diferencias entre riegos encontradas en 2002.

El caprilato de butilo es el único éster cuya producción se ve favorecida por un suplemento de agua específico en 2003.

Concretamente, el porcentaje alcanzado con el 60% de la ETo es significativamente superior a los demás tratamientos. Este compuesto experimenta un descenso en sus concentraciones respecto a 2002 en todos los casos, salvo en el mencionado tratamiento, lo que explica las diferencias encontradas en el segundo año de ensayo, las cuales no aparecen en el primero. Continuando con estos compuestos, el acetato de bencilo ve disminuidos sus porcentajes con el 80% en 2003, y para el acetato de timilo el descenso se produce tanto con el 80 como con el 20%. El acetato de terpenilo reduce su presencia a trazas con todos los tratamientos en la recolección de 2003. Otro éster, el caprilato de etilo, incrementa de forma general sus concentraciones relativas respecto al año anterior, y el acetato de linalilo, como ya se ha comentado en el caso del geraniol, junto al que se integra, aumenta su porcentaje con el 80%.

Por lo que se refiere a los fenoles, es importante mencionar que para el timol, en 2003 el análisis estadístico no aprecia diferencias significativas entre los porcentajes alcanzados con los cuatro aportes hídricos, aunque los promedios más elevados corresponden al 80 y 60% de la ETo. El carvacrol, sin embargo, presenta diferencias entre riegos en 2003, al igual que en 2002, siendo el porcentaje conseguido con el 60% significativamente superior a los alcanzados con el 40 y 20%.

En cuanto a los epóxidos, únicamente el (Z)-óxido de linalol muestra diferencias significativas en 2003, paralelamente a lo ocurrido en 2002. Tales diferencias aparecen con el tratamiento equivalente al 80% de la ETo, significativamente superior a los demás. El porcentaje alcanzado con el 20% disminuye respecto al año anterior.

Una vez más, en el 1,8-cineol no se detectan diferencias entre tratamientos, debido a la gran diversidad cuantitativa que presenta este componente en estas plantas.

Se debe comentar que al analizar conjuntamente las recolecciones de 2002 y 2003 es necesario considerar dos factores: la variabilidad intraespecífica y la diferente climatología de ambos años. Todo ello afecta al perfil volátil de estas labiadas, haciendo difícil establecer paralelismos entre dos cosechas distintas. Si nos restringimos a 2003, teniendo en cuenta las pocas diferencias significativas que se detectan, y que en concreto el timol, aunque alcanza mejores promedios con los aportes hídricos más elevados, no muestra tales diferencias, se puede pensar que un riego equivalente al 20% de la ETo es suficiente para conseguir un buen aceite esencial en este segundo año de aplicación del riego diferenciado, al igual que ocurre con la producción de biomasa y el rendimiento en dicho aceite.

III. 1. 5. 2. Estudio de la variabilidad intraespecífica.

Los componentes volátiles presentes en el aceite esencial de *Th. hyemalis* presentan variaciones cuantitativas importantes entre las distintas plantas, como hemos podido comprobar en los análisis cromatográficos efectuados a las muestras recolectadas en 2002 y 2003.

Esta evidencia es la base del estudio de variabilidad intraespecífica que se lleva a cabo en 2004, el cual se expone en este apartado. El estudio, en el caso de esta especie, se lleva a cabo sobre un número de individuos superior al propuesto inicialmente para este fin, ya que en lugar de 96 plantas se recolectan 109, seleccionadas entre los distintos tratamientos de riego. Tales plantas no muestran diferencias morfológicas reseñables, por lo que la diversidad se presenta en los aceites esenciales extraídos a partir de ellas, afectando tanto a su rendimiento como a su composición química. Los resultados de este estudio podrían extrapolarse a la población en general de esta especie, dado que se realiza sobre un número bastante elevado de plantas, las cuales proceden de semillas recolectadas en tomillares silvestres.

Como se ha mencionado anteriormente, el componente más destacado en un porcentaje mayoritario de los aceites analizados en esta Memoria es el timol, detectándose también concentraciones considerables de su isómero carvacrol, así como de los precursores fenólicos p-cimeno y γ -terpineno. Por otra parte, algunas plantas examinadas no presentan quimiotipo fenólico, mostrando como constituyentes más abundantes α -terpineol, linalol o borneol.

El aceite esencial de esta labiada ha sido estudiado con anterioridad por numerosos autores, generalmente analizando plantas procedentes de poblaciones espontáneas.

Adzet *et al.* (1976b), en su trabajo, determinan la presencia dominante de carvacrol, en cantidades que oscilan entre 70–80%. La proporción de borneol es también bastante alta, siendo en algunos casos este alcohol el componente mayoritario, con un porcentaje de 40–60%.

En otras publicaciones (Cabo *et al.*, 1986; Cabo *et al.*, 1987), se habla de altas concentraciones de 1,8-cineol, alcanfor, linalol y mirceno entre las plantas estudiadas.

Sáez (1996) identifica 38 componentes en los aceites analizados, variando sus proporciones en función de las localidades de las que proceden las plantas. El quimiotipo timol es el más extendido, con unas cantidades relativas para este fenol de hasta el 36,7%, presentando algunas plantas su isómero carvacrol como componente mayoritario, que puede alcanzar el 56,5%. En ambos casos se encuentran también muy elevados los precursores de estos fenoles (γ -terpineno y p-cimeno). El quimiotipo linalol también se presenta en esta especie, con una cantidad máxima del 34,4% para este componente. Otros constituyentes encontrados por este autor en concentraciones importantes son 1,8-cineol, borneol, α -terpineol, α -pineno y canfeno.

En un trabajo previo sobre el perfil volátil de este tomillo creciendo en condiciones de cultivo, Sotomayor (1998) identifica 30 componentes, señalando el quimiotipo timol para todas las plantas analizadas. Las cantidades de este componente varían en función de la edad y el estado fenológico de las plantas en el momento de su recolección.

En el presente estudio, los quimiotipos determinados se distribuyen tal como se aprecia en la Tabla III.1–15, en la que se especifica entre paréntesis el número de plantas que presenta cada uno de ellos, así como el porcentaje que suponen sobre el total de las plantas analizadas (109). Tales quimiotipos se exponen de mayor a menor presencia en la población.

Tabla III.1–15. Quimiotipos determinados y porcentaje de los mismos en la población.

Quimiotipos (nº de plantas)	Porcentaje (%)		
Fenólico*, timol > 20% (55)	50,46	74,31 ⁽¹⁾	
Fenólico*, timol ≤ 20% (18)	16,51		
Fenólico* (timol ≤ 20%), con precursores elevados (8)	7,34		
Mixto, α-terpineol/timol (7)	6,42		
Linalol* (6)	5,50		
Fenólico*, carvacrol (4)	3,67		
Mixto, borneol/timol* (3)	2,75		
Mixto, linalol/timol* (2)	1,83		
α-Terpineol (2)	1,83		
1,8-Cineol* (1)	0,92		
Mixto, carvacrol/(E)-hidrato de sabineno (1)	0,92		
Mixto, linalol/α-terpineol (1)	0,92		
Mixto, mirceno/hidrato de sabineno (1)	0,92		
Nº total de plantas: 109			

⁽¹⁾ Este porcentaje equivale a la suma de los tres primeros, que presentan al timol como componente más importante.

* Quimiotipos identificados por otros autores en esta especie.

Dentro del quimiotipo fenólico, el más abundante, se distingue entre plantas con un contenido en timol claramente superior al resto de componentes, y otros tomillos en los que si bien el timol continua siendo mayoritario, aparecen distintos constituyentes que también alcanzan una cantidad relativa en algunos casos similar a la de timol, o incluso superior cuando se trata de quimiotipos fenólicos con una concentración predominante de los precursores p-cimeno y γ -terpineno. Los tres primeros grupos que aparecen en la tabla engloban a estos individuos.

Se ha estimado conveniente hacer esta distinción entre ellos, únicamente a título informativo, con el fin de aportar una explicación detallada sobre el modo en que se distribuyen los componentes en las plantas, en base al contenido en timol y su relación con los precursores fenólicos y otros constituyentes del aceite esencial. No obstante, los tres grupos presentan el timol como componente destacado, y sumando las plantas que integran dichos grupos encontramos un porcentaje del 74,31%, visiblemente mayoritario en la población, al cual hay que añadir aquellos tomillos con presencia dominante de carvacrol en sus aceites, lo que les confiere también quimiotipo fenólico.

A continuación se exponen las principales características de los diferentes perfiles volátiles encontrados, siguiendo el mismo orden que aparece en la tabla anterior.

Quimiotipo fenólico, con timol > 20%

Las plantas de esta categoría suponen el 50,46% del total de muestras recolectadas. Presentan un quimiotipo simple, con el timol como componente destacado, ya que la concentración de este fenol es superior al 20% en todos los casos. Sobre este grupo, que constituye un porcentaje mayoritario de las plantas analizadas, se ha llevado a cabo un estudio similar al de años anteriores, para comprobar el comportamiento de los tomillos frente al diferente aporte hídrico en este tercer año de ensayo. Sus resultados se muestran en las Tablas III.1–16 y III.1–17, en

las que se recogen los porcentajes determinados para los distintos constituyentes del aceite esencial en las recolecciones de invierno y primavera, respectivamente. En tales tablas aparecen únicamente aquellos componentes para los que se determina una concentración relativa igual o superior a 0,1%, lo que supone un total de 45 constituyentes, ya que el propósito del apartado que nos ocupa es el estudio de la variabilidad química presente en estas plantas, por lo que se ha considerado suficiente hacer un seguimiento de la respuesta frente al riego en 2004 sólo sobre aquellos componentes que se encuentran en proporciones importantes. Tales componentes representan el 95,7% del total.

A) Invierno.

Como se puede ver en la Tabla III.1–16, en invierno de 2004 sólo un compuesto, (*E*)-hidrato de sabineno, muestra una respuesta diferente en función del riego recibido por las plantas.

La concentración de los hidrocarburos terpénicos no varía significativamente al aplicar los distintos tratamientos en esta recolección, al igual que ocurre en 2003. Dado que en 2002 sí se aprecian diferencias, parece que las plantas se van adaptando a los recursos hídricos de los que disponen, de forma que suplementos de agua que en el primer año de ensayo provocan un aumento o descenso en la síntesis de determinados terpenos, no tienen un efecto significativamente distinto del resto de tratamientos en el segundo y tercer año.

Compuestos como α -tujeno, α -pineno, canfeno, α -terpineno y limoneno, además de *p*-cimeno y γ -terpineno, son los terpenos más abundantes en esta recolección. Respecto a ambos precursores fenólicos, la presencia de *p*-cimeno en invierno de 2004 es similar a la de años anteriores con todos los tratamientos; en tanto que el γ -terpineno experimenta un descenso en casi todos sus promedios en 2004 con

relación al primer año de ensayo, especialmente marcado en el caso del 20% de la ETo.

Los alcoholes son el único grupo en el que se aprecian diferencias significativas en esta cosecha, ya que (*E*)-hidrato de sabineno, que en 2002 y 2003 no muestra tales diferencias, presenta en 2004 una concentración significativamente superior cuando a las plantas se les aplica el agua necesaria para compensar el 20% de la ETo, aunque dicha concentración no es distinta de la alcanzada con el 40%. Como ya ocurriera en la primavera de 2002, la síntesis de este alcohol acaba viéndose favorecida por aportes bajos de agua también en la primera recolección anual, transcurridos tres años desde el inicio del riego diferenciado.

Del resto de alcoholes, linalol y borneol destacan por su marcada presencia en el aceite esencial, detectándose en ambos una desviación estándar bastante alta.

La síntesis de los cuatro aldehídos mayoritarios en esta recolección no está influida por el riego, como tampoco lo está la de las cetonas. Verbenona y alcanfor son las que presentan las proporciones relativas más elevadas.

El acetato de bornilo, por su parte, no ha visto afectada su presencia en los aceites por los distintos niveles de riego en ninguna recolección, al igual que ocurre con las recolecciones invernales de los epóxidos (*E*)-óxido de linalol y óxido de cariofileno.

En la concentración de los fenoles incluidos en la tabla de 2004 tampoco se encuentran diferencias significativas en función del suplemento hídrico.

Tabla III.1–16. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. hyemalis*, quimiotipo timol, en función del aporte hídrico (Invierno 2004).

COMPONENTES	I.R.	% ETo			
		80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Hidrocarburos Terpénicos					
α -Tujeno*	940	0,90 \pm 0,23	1,00 \pm 0,14	1,02 \pm 0,16	0,94 \pm 0,10
α -Pino	949	1,73 \pm 1,59	1,09 \pm 0,44	1,59 \pm 0,87	1,32 \pm 1,09
Canfeno	969	0,41 \pm 0,15	1,46 \pm 1,05	1,10 \pm 0,84	1,07 \pm 1,04
Verbeneno*	976	0,10 \pm 0,07	0,09 \pm 0,02	0,07 \pm 0,03	0,07 \pm 0,03
Sabineno	1001	0,13 \pm 0,09	0,15 \pm 0,13	0,18 \pm 0,10	0,16 \pm 0,11
β -Pino	1007	0,20 \pm 0,15	0,20 \pm 0,15	0,26 \pm 0,15	0,19 \pm 0,17
Mirceno	1026	0,81 \pm 0,23	0,75 \pm 0,26	0,88 \pm 0,16	0,79 \pm 0,15
α -Felandreno	1042	0,17 \pm 0,03	0,16 \pm 0,03	0,18 \pm 0,03	0,16 \pm 0,03
α -Terpineno	1058	1,17 \pm 0,34	1,28 \pm 0,39	1,44 \pm 0,28	1,25 \pm 0,35
p-Cimeno	1068	24,54 \pm 6,89	28,60 \pm 6,84	25,63 \pm 4,89	23,78 \pm 6,61
Limoneno	1073	1,26 \pm 0,51	1,07 \pm 0,18	1,08 \pm 0,31	1,09 \pm 0,33
(<i>E</i>)- β -Ocimeno*	1097	0,08 \pm 0,12	0,73 \pm 1,46	0,30 \pm 0,45	0,27 \pm 0,60
γ -Terpineno	1109	8,99 \pm 2,93	11,07 \pm 4,52	12,94 \pm 4,16	9,80 \pm 2,67
Terpinoleno + (<i>E</i>)-Óxido de linalol	1141	0,23 \pm 0,08	0,20 \pm 0,03	0,18 \pm 0,04	0,20 \pm 0,05
(<i>E</i>)-Cariofileno	1419	0,88 \pm 0,38	0,95 \pm 0,35	0,82 \pm 0,31	0,78 \pm 0,29
Aloaromadendreno	1465	0,10 \pm 0,06	0,11 \pm 0,03	0,09 \pm 0,05	0,12 \pm 0,06
Valenceno	1510	0,40 \pm 0,24	0,49 \pm 0,24	0,50 \pm 0,37	0,54 \pm 0,34
δ -Cadineno	1553	0,17 \pm 0,10	0,13 \pm 0,08	0,14 \pm 0,08	0,11 \pm 0,08
Alcoholes					
1-Octen-3-ol	1009	0,27 \pm 0,20	0,23 \pm 0,15	0,14 \pm 0,08	0,18 \pm 0,09
(<i>E</i>)-Hidrato de sabineno	1116	0,47 \pm 0,11 ^a	0,58 \pm 0,15 ^a	0,62 \pm 0,25 ^{ab}	0,82 \pm 0,39 ^b
(<i>Z</i>)-Hidrato de sabineno*	1151	0,11 \pm 0,03	0,17 \pm 0,05	0,22 \pm 0,19	0,18 \pm 0,07
Linalol	1152	4,35 \pm 4,09	2,69 \pm 2,34	1,81 \pm 1,13	2,02 \pm 1,22
(<i>E</i>)-Pinocarveol	1186	0,20 \pm 0,11	0,15 \pm 0,05	0,17 \pm 0,05	0,18 \pm 0,06
(<i>Z</i>)-Verbenol	1189	0,67 \pm 0,40	0,51 \pm 0,14	0,48 \pm 0,27	0,51 \pm 0,20
Borneol	1211	1,57 \pm 0,82	5,05 \pm 3,73	3,46 \pm 2,44	4,07 \pm 3,99
Terpinen-4-ol	1220	0,50 \pm 0,05	0,65 \pm 0,19	0,57 \pm 0,26	0,60 \pm 0,18
p-Cimen-8-ol	1227	0,23 \pm 0,06	0,23 \pm 0,10	0,21 \pm 0,05	0,19 \pm 0,07
α -Terpineol	1231	0,53 \pm 0,32	0,46 \pm 0,24	0,52 \pm 0,32	0,75 \pm 0,75
Espatulenol	1640	0,34 \pm 0,14	0,41 \pm 0,21	0,31 \pm 0,18	0,38 \pm 0,18
Aldehídos					
Mirtenal + Dihidrocarvona	1235	0,16 \pm 0,07	0,11 \pm 0,03	0,14 \pm 0,03	0,14 \pm 0,08
Decanal	1243	0,19 \pm 0,15	0,15 \pm 0,08	0,11 \pm 0,06	0,20 \pm 0,20
Geranial + Perialdehído	1292	0,12 \pm 0,11	0,14 \pm 0,11	0,08 \pm 0,06	0,08 \pm 0,04
Cetonas					
3-Octanona	1019	0,15 \pm 0,09	0,13 \pm 0,09	0,10 \pm 0,08	0,07 \pm 0,04
Alcanfor	1193	1,00 \pm 0,55	1,01 \pm 0,32	0,89 \pm 0,26	0,97 \pm 0,46
Verbenona	1245	4,85 \pm 2,22	3,14 \pm 1,05	2,94 \pm 1,28	3,77 \pm 1,53
Éster					
Acetato de bornilo	1302	0,10 \pm 0,05	0,12 \pm 0,06	0,08 \pm 0,03	0,21 \pm 0,20

Tabla III.1–16 (continuación)

COMPONENTES	I.R.	% ETo			
		80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Fenoles					
Éter metílico de timol	1265	1,04 ± 1,19	0,10 ± 0,10	0,37 ± 0,53	0,51 ± 0,96
Éter metílico de carvacrol	1272	0,47 ± 0,47	0,23 ± 0,29	0,11 ± 0,12	0,44 ± 0,45
Timol	1308	31,55 ± 3,67	26,91 ± 4,34	29,75 ± 4,17	33,06 ± 8,79
Carvacrol	1314	2,04 ± 0,94	1,77 ± 0,42	1,91 ± 0,28	1,80 ± 0,58
Epóxido					
Óxido de cariofileno	1650	0,24 ± 0,09	0,27 ± 0,13	0,19 ± 0,05	0,21 ± 0,10
Éter					
1,8-Cineol	1076	2,12 ± 2,77	1,16 ± 2,32	2,30 ± 2,16	1,59 ± 2,09

^{a,b} Valores con distinto superíndice en la misma línea presentan diferencias estadísticamente significativas, de acuerdo con el test de la Menor Diferencia Significativa de Fisher ($P < 0,05$).

± Desviación estándar.

* Identificación tentativa.

I. R. Índices de Kovats (HP-5).

El timol, componente más importante desde el punto de vista comercial, alcanza con el 20% de la ETo un porcentaje medio que supera a los conseguidos con el resto de tratamientos, contrariamente a lo ocurrido los dos años anteriores. En la Figura III.1–9 se describe la distribución de las diferentes plantas, en función de la ETo, de acuerdo a su contenido en timol. La gráfica muestra la mediana (línea negra) y la media (línea roja discontinua), así como los percentiles 10, 25, 75 y 90, representados como cajas verticales con barras de error. En esta figura es posible apreciar que con el riego equivalente al 20% de la ETo, de acuerdo con el valor de la mediana, la mitad de los tomillos recolectados tienen un contenido en timol superior al 32%, muy semejante a lo que ocurre con el 80% de la ETo.

Sin embargo, al observar el P_{75} , encontramos que con el aporte hídrico más bajo, el 75% de las plantas presenta una concentración de este fenol igual o inferior al 40%, en tanto que en el caso del riego más elevado, el valor del mismo percentil nos sitúa en un porcentaje de timol igual o inferior al 34%. Esto indica que una proporción importante de tomillos que han recibido el suplemento hídrico necesario para compensar

el 20% de la ETo son más ricos en timol que aquellos que han sido regados más abundantemente, por lo que parece que un escaso aporte de agua es más favorable para la síntesis de este componente, a pesar de la ausencia de diferencias significativas entre tratamientos.

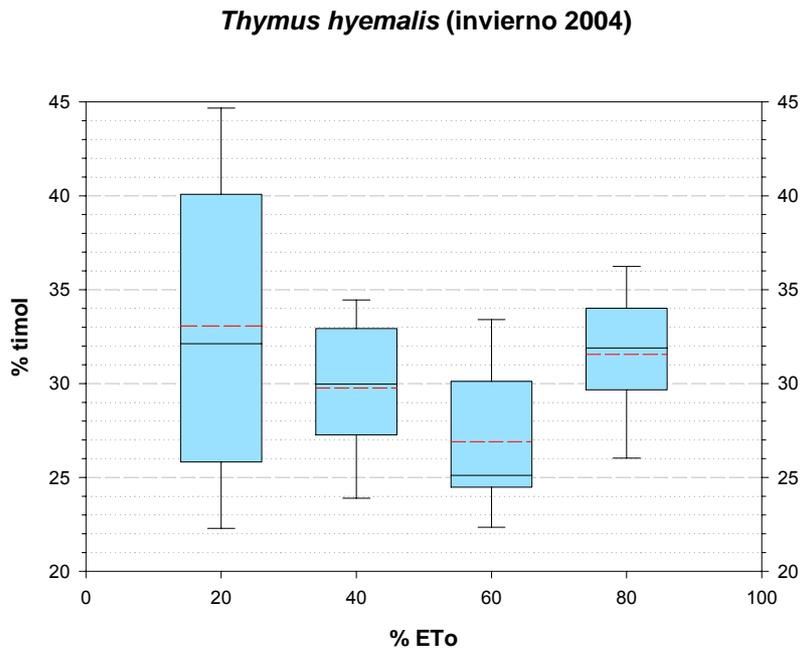


Fig. III.1-9. Distribución de las plantas según su contenido en timol.

El peor resultado corresponde al 60% de la ETo, ya que con esta cantidad de agua, el 50% de las plantas tiene una proporción de timol inferior al 25,11%, que es el valor de la mediana en este caso.

También es interesante advertir cómo, en este último año de ensayo, los porcentajes medios determinados para el timol con cada aporte hídrico resultan inversos al perfil seguido por el p-cimeno, coincidiendo el máximo de uno con el mínimo del otro (Figura III.1-10). Al tratarse de precursor y producto final, esto es lo que cabría esperar, aunque el hecho no es tan evidente los dos años anteriores, debido probablemente a que al haber un mayor número de muestras en 2004, se ha atenuado el efecto de la variabilidad intraespecífica.

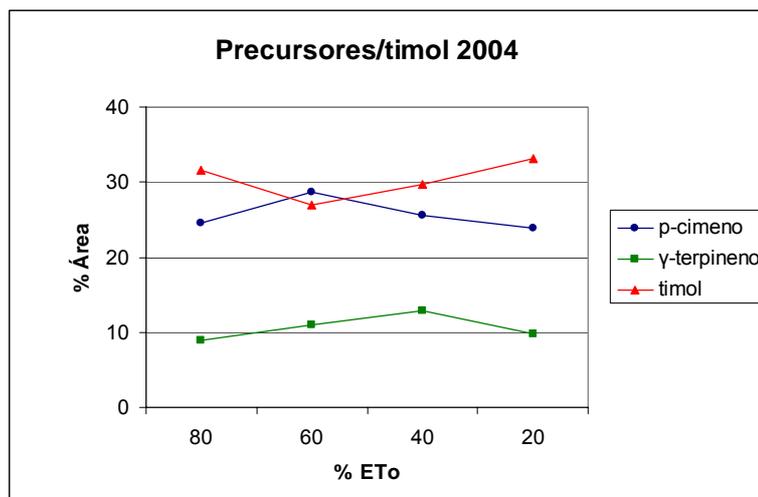


Fig. III.1–10. Estudio comparativo del comportamiento del timol y sus precursores, en función del aporte hídrico.

Por último, el carvacrol, cuya producción se ve afectada por el riego tanto en 2002 y 2003, presenta en 2004 unos porcentajes más igualados, de forma que ya no hay diferencias entre tratamientos.

Teniendo todo esto en cuenta, se puede afirmar que, si bien la variabilidad intraespecífica y la climatología influyen de nuevo en estos resultados, es posible advertir una tendencia en los tomillos hacia el equilibrio entre los distintos tratamientos, ya que, aunque en un principio la respuesta de las plantas ante la modificación de los suplementos hídricos que reciben se traduce en una alteración en la síntesis de componentes volátiles, efecto que se hace patente en 2002, tales plantas se readaptan a la nueva situación, imponiéndose el condicionamiento genético y logrando una síntesis de componentes relativamente estable, sin influencias del riego, aunque la producción de timol acaba viéndose favorecida en esta especie por aportes de agua mínimos.

La predisposición observada, que conduce a la equivalencia entre tratamientos, coincide con lo publicado por Ložienė y Venskutonis (2005), trabajo en el que queda de manifiesto que una modificación repentina de las condiciones de crecimiento de *Th. pulegioides* puede afectar al perfil

volátil de algunas de estas plantas, las cuales, transcurrido un tiempo, recuperan una composición similar a la que mostraban originalmente. La conclusión alcanzada apunta a una composición cualitativa estable del aceite esencial de estos individuos, la cual estaría predeterminada genéticamente.

B) Primavera.

Por lo que respecta a la primavera de 2004 (Tabla III.1–17), ninguno de los componentes considerados en dicha recolección ve afectada su síntesis por el aporte hídrico recibido.

(*E*)-cariofileno, aloaromadendreno, valenceno y δ -cadineno, hidrocarburos terpénicos más complejos estructuralmente, tienden a disminuir su concentración respecto a invierno con todos los tratamientos hídricos. El resto de los terpenos, en general, son más abundantes en primavera, aunque en algunos casos, como canfeno, verbeneno, α -terpineno, p-cimeno, (*E*)- β -ocimeno, γ -terpineno y terpinoleno, el porcentaje alcanzado en promedio en la segunda recolección aumenta respecto a la primera sólo con determinados tratamientos. El p-cimeno, en concreto, incrementa su proporción en junio únicamente con el 40% de la ETo.

(*E*)-hidrato de sabineno, alcohol que en invierno mejora su respuesta con el aporte hídrico más bajo, disminuye sus porcentajes en primavera con dicho tratamiento, de manera que en la segunda recolección las concentraciones están más igualadas y las diferencias entre los distintos niveles de agua no son significativas.

En los aldehídos, se puede apreciar una tendencia a mejorar su concentración relativa respecto a la de invierno con el 40 y 20% de la ETo, especialmente en el caso de geranial y perialdehído.

Tabla III.1–17. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. hyemalis*, quimiotipo timol, en función del aporte hídrico (Primavera 2004).

COMPONENTES	I. R.	% ETo			
		80	60	40	20
Hidrocarburos Terpénicos					
α -Tujeno*	940	0,97 \pm 0,22	1,08 \pm 0,08	1,02 \pm 0,14	0,96 \pm 0,14
α -Pino	949	3,43 \pm 2,95	1,91 \pm 0,36	2,77 \pm 1,75	2,58 \pm 1,47
Canfeno	969	0,49 \pm 0,45	3,05 \pm 1,97	0,92 \pm 0,86	1,90 \pm 1,90
Verbeneno*	976	0,08 \pm 0,05	0,08 \pm 0,04	0,10 \pm 0,05	0,14 \pm 0,09
Sabineno	1001	0,22 \pm 0,17	0,21 \pm 0,11	0,34 \pm 0,26	0,31 \pm 0,30
β -Pino	1007	0,32 \pm 0,21	0,40 \pm 0,25	0,44 \pm 0,31	0,41 \pm 0,34
Mirceno	1026	1,09 \pm 0,39	0,95 \pm 0,17	0,96 \pm 0,06	1,11 \pm 0,41
α -Felandreno	1042	0,20 \pm 0,06	0,18 \pm 0,03	0,21 \pm 0,03	0,19 \pm 0,02
α -Terpino	1058	1,38 \pm 0,50	1,43 \pm 0,38	1,54 \pm 0,25	1,23 \pm 0,22
p-Cimeno	1068	23,55 \pm 6,36	22,54 \pm 3,77	27,70 \pm 3,08	19,59 \pm 7,21
Limoneno	1073	1,64 \pm 0,68	1,28 \pm 0,24	1,60 \pm 0,48	1,52 \pm 0,27
(<i>E</i>)- β -Ocimeno*	1097	0,30 \pm 0,46	0,85 \pm 1,33	0,27 \pm 0,55	0,98 \pm 1,70
γ -Terpino	1109	12,01 \pm 4,86	13,26 \pm 5,80	13,44 \pm 2,60	9,63 \pm 1,60
Terpinoleno + (<i>E</i>)-Óxido de linalol	1141	0,21 \pm 0,04	0,25 \pm 0,07	0,21 \pm 0,05	0,20 \pm 0,05
(<i>E</i>)-Cariofileno	1419	0,66 \pm 0,28	0,84 \pm 0,18	0,52 \pm 0,30	0,47 \pm 0,35
Aloaromadendreno	1465	0,06 \pm 0,01	0,09 \pm 0,02	0,07 \pm 0,05	0,08 \pm 0,03
Valenceno	1510	0,31 \pm 0,18	0,34 \pm 0,17	0,48 \pm 0,27	0,40 \pm 0,20
δ -Cadineno	1553	0,12 \pm 0,05	0,13 \pm 0,02	0,11 \pm 0,08	0,06 \pm 0,01
Alcoholes					
1-Octen-3-ol	1009	0,13 \pm 0,09	0,31 \pm 0,09	0,15 \pm 0,13	0,22 \pm 0,14
(<i>E</i>)-Hidrato de sabineno	1116	0,49 \pm 0,10	0,64 \pm 0,21	0,76 \pm 0,59	0,60 \pm 0,20
(<i>Z</i>)-Hidrato de sabineno*	1151	0,21 \pm 0,17	0,24 \pm 0,10	0,17 \pm 0,05	0,18 \pm 0,07
Linalol	1152	1,92 \pm 0,77	3,03 \pm 1,12	1,61 \pm 0,43	2,15 \pm 0,47
(<i>E</i>)-Pinocarveol	1186	0,17 \pm 0,05	0,14 \pm 0,06	0,19 \pm 0,09	0,23 \pm 0,09
(<i>Z</i>)-Verbenol	1189	0,67 \pm 0,45	0,54 \pm 0,20	0,77 \pm 0,39	0,92 \pm 0,29
Borneol	1211	1,41 \pm 1,00	8,77 \pm 5,23	2,61 \pm 2,42	6,22 \pm 6,32
Terpino-4-ol	1220	0,73 \pm 0,27	0,63 \pm 0,09	0,79 \pm 0,49	0,62 \pm 0,21
p-Cimeno-8-ol	1227	0,17 \pm 0,04	0,14 \pm 0,04	0,24 \pm 0,04	0,20 \pm 0,09
α -Terpineol	1231	0,66 \pm 0,34	0,42 \pm 0,09	0,76 \pm 0,52	0,70 \pm 0,47
Espatuleno	1640	0,31 \pm 0,15	0,32 \pm 0,18	0,39 \pm 0,26	0,36 \pm 0,13
Aldehídos					
Mirtenal + Dihidrocarvona	1235	0,14 \pm 0,07	0,11 \pm 0,04	0,16 \pm 0,05	0,17 \pm 0,14
Decanal	1243	0,13 \pm 0,09	0,11 \pm 0,06	0,21 \pm 0,14	0,22 \pm 0,19
Geranial + Perialdehído	1292	0,18 \pm 0,14	0,12 \pm 0,06	0,15 \pm 0,04	0,19 \pm 0,10
Cetonas					
3-Octanona	1019	0,08 \pm 0,05	0,09 \pm 0,02	0,05 \pm 0,04	0,11 \pm 0,08
Alcanfor	1193	0,96 \pm 0,56	1,31 \pm 0,39	1,07 \pm 0,22	1,57 \pm 0,79
Verbenona	1245	4,17 \pm 2,84	2,18 \pm 1,18	3,63 \pm 1,53	4,32 \pm 1,08
Éster					
Acetato de bornilo	1302	0,12 \pm 0,08	0,18 \pm 0,12	0,06 \pm 0,01	0,30 \pm 0,37

Tabla III.1-17 (continuación)

COMPONENTES	I. R.	% ETo			
		80	60	40	20
Fenoles					
Éter metílico de timol	1265	0,60 ± 0,48	0,05 ± 0,03	0,31 ± 0,41	0,72 ± 0,97
Éter metílico de carvacrol	1272	0,30 ± 0,17	0,40 ± 0,40	0,07 ± 0,04	0,12 ± 0,07
Timol	1308	30,14 ± 3,68	24,14 ± 4,59	22,94 ± 4,84	28,34 ± 6,56
Carvacrol	1314	1,82 ± 0,31	1,46 ± 0,34	1,63 ± 0,37	1,91 ± 0,54
Epóxido					
Óxido de cariofileno	1650	0,26 ± 0,17	0,27 ± 0,04	0,23 ± 0,06	0,21 ± 0,13
Éter					
1,8-Cineol	1076	2,79 ± 3,80	1,37 ± 1,37	4,13 ± 4,54	3,25 ± 4,40

^a Valores con idéntico superíndice en la misma línea no presentan diferencias estadísticamente significativas, de acuerdo con el test de la Menor Diferencia Significativa de Fisher ($P < 0,05$).

± Desviación estándar.

* Identificación tentativa.

I. R. Índices de Kovats (HP-5).

Y las cetonas muestran mejores promedios en la recolección de junio si se aplica el aporte hídrico más bajo. Por su parte, el acetato de bornilo incrementa su presencia en el aceite esencial en primavera con todos los tratamientos, salvo el 40% de la ETo.

El timol, por el contrario, es menos abundante en la recolección de primavera, y el mejor promedio en esta recolección se obtiene con el nivel de agua más alto, aunque no es significativamente diferente del resto. En este punto se debe mencionar que en primavera de 2002, el resultado conseguido con dicho aporte hídrico es significativamente superior a los alcanzados con los otros tratamientos.

Lo que ocurre es que este fenol ha incrementado su concentración en la segunda recolección de 2004 respecto a la de 2002 especialmente con el 60, 40 y 20% de la ETo, por lo que los porcentajes obtenidos en este tercer año de ensayo están bastante ponderados, compensándose las diferencias observadas en 2002.

En la Figura III.1–11 se puede apreciar el comportamiento de las plantas en cuanto a la síntesis de timol en función del riego.

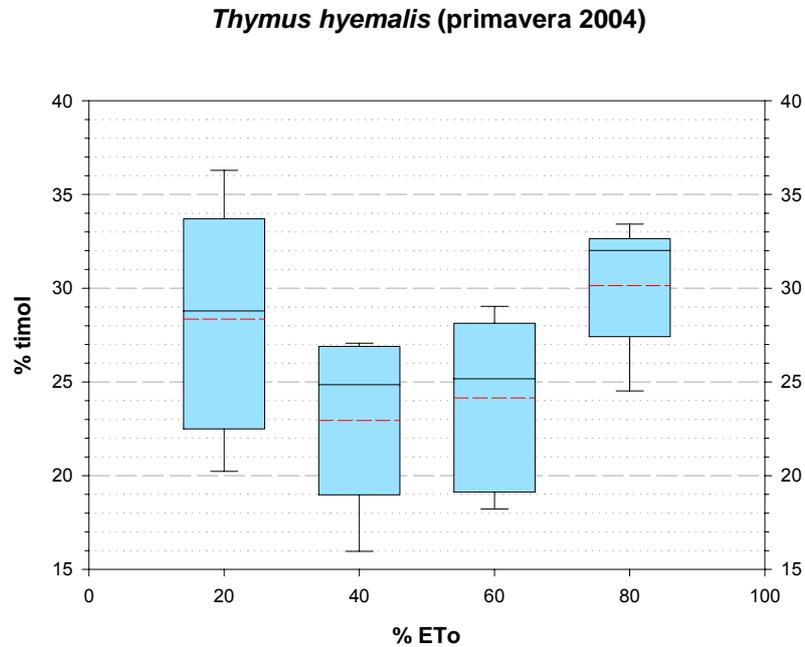


Fig. III.1–11. Distribución de las plantas según su contenido en timol.

En este caso, con el menor suplemento de agua, el valor de la mediana corresponde a una concentración de timol del 28,8%, y con el aporte hídrico más elevado tal valor se sitúa en el 32,0%. Los resultados obtenidos con el 60 y 40% de la ETo son semejantes, determinándose para la mitad de las plantas en ambos tratamientos una concentración de timol igual o inferior al 25%.

Al igual que sucede con el timol, la síntesis de carvacrol no se muestra afectada por el riego en 2004.

Se puede concluir, por todo ello, que la tendencia de las plantas hacia el equilibrio entre tratamientos a medida que transcurre el tiempo también se hace patente en primavera, por lo que en 2004, a diferencia de 2002, la ausencia de diferencias significativas implica que no es

necesario un aporte hídrico elevado para conseguir una buena calidad en el aceite esencial.

Por otra parte, en 2004, de la misma forma que en el primer año de ensayo, se ha realizado un análisis comparativo con los componentes volátiles más abundantes, a fin de determinar si las diferencias entre las concentraciones de invierno y primavera son o no significativas. Los resultados de ese análisis se muestran en la Tabla III.1–18.

Tabla III.1–18. Análisis estadístico comparativo invierno/primavera 2004.

Componentes	% ETo			
	80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Mirceno	ND	ND	ND	ND
p-Cimeno	ND	ND	ND	ND
γ-Terpineno	ND	ND	ND	ND
(E)-Hidrato de sabineno	ND	ND	ND	ND
(Z)-Hidrato de sabineno	ND	ND	ND	ND
Linalol	ND	ND	ND	ND
Alcanfor	ND	ND	ND	ND
Borneol	ND	ND	ND	ND
α-Terpineol	ND	ND	ND	ND
Verbenona	ND	ND	ND	ND
Timol	ND	ND	D	ND
Carvacrol	ND	ND	ND	ND

D = Diferencias estadísticamente significativas entre estaciones ($p < 0,05$).
 ND = No existen diferencias.

En la gran mayoría de componentes los resultados son equiparables en las dos recolecciones, y el incremento en la concentración de timol en invierno respecto a primavera es sólo significativo con el aporte hídrico equivalente al 40% de la ETo. Todo ello confirma que, en este tercer año de ensayo, también en primavera es posible dedicar la cosecha a la obtención de un aceite esencial de

excelentes propiedades con un escaso riego, por lo que la segunda cosecha que presenta esta planta en condiciones de cultivo es interesante ya que asegura una producción adicional de aceite y hoja al agricultor.

Como nota de interés, podemos incluir aquí un apunte sobre el comportamiento específico de algunas plantas en lo referente a la síntesis de compuestos al cambiar de estación. En concreto, se ha detectado que el descenso en timol en la segunda recolección es muy acusado en determinados casos, pudiendo reducirse incluso hasta la mitad, y en algún individuo aumenta notablemente la presencia de linalol o borneol en primavera, descendiendo la concentración de timol.

Las condiciones ambientales y el hecho de realizar dos cortes al año afectan, por lo tanto, a la síntesis de componentes volátiles por parte de estas plantas, siendo esto particularmente evidente en algunas de ellas.

C) Evolución de la influencia del riego en la síntesis de fenoles.

Dada la importancia que actualmente tienen los compuestos fenólicos en el mercado de plantas aromáticas, estudiar el grado de incidencia de las siegas periódicas sobre su producción, es un punto necesario para determinar el interés que pueden tener estas plantas para ser consideradas como un cultivo rentable.

Para una correcta visualización de estos datos, se representan gráficamente, en función del aporte hídrico recibido por las plantas, los porcentajes de timol y carvacrol detectados en los diferentes análisis cromatográficos. Se han empleado con este fin aquellos tomillos para los cuales se ha determinado un quimiotipo timol simple, cuyo perfil volátil se muestra en las Tablas III.1–11, III.1–12, III.1–14, III.1–16 y III.1–17.

En la Figura III.1–12 aparece la evolución de estos componentes correspondiente a las recolecciones de invierno de *Th. hyemalis*.

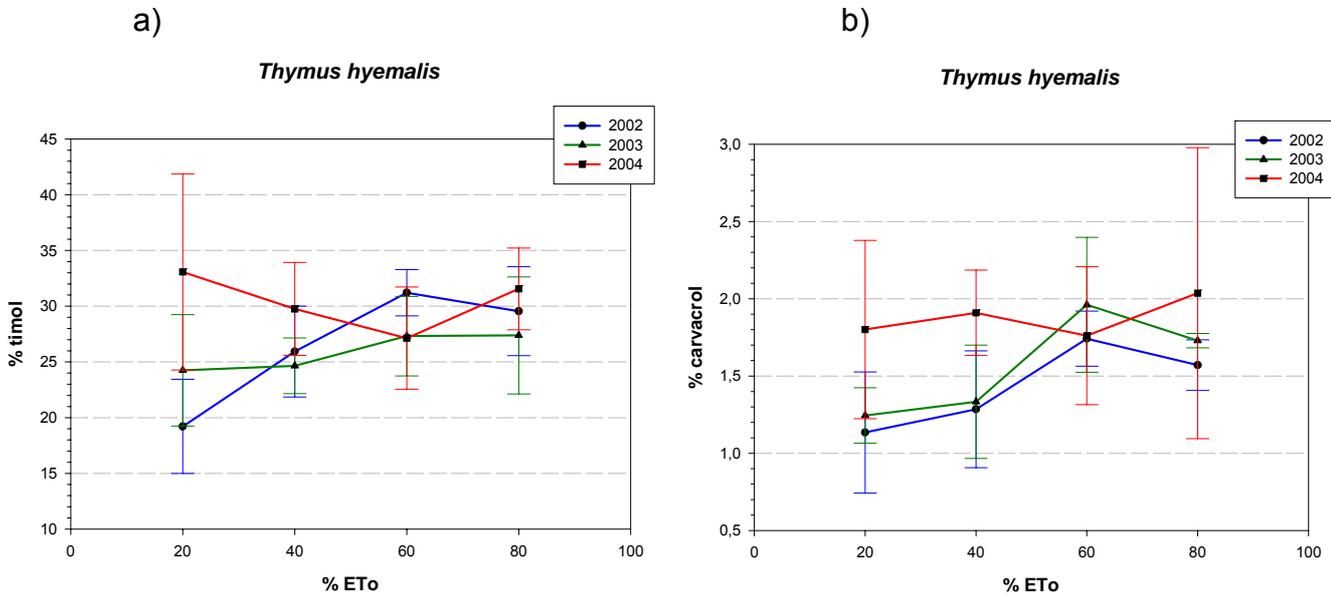


Fig. III.1–12. Evolución de la síntesis de compuestos fenólicos (invierno).

El timol (Figura III.1–12a) eleva en 2004 el promedio alcanzado respecto a 2002 y 2003 con todos los tratamientos, excepto con el 60% de la ET0. La subida es particularmente relevante en el caso del aporte hídrico más bajo, de forma que los porcentajes alcanzados por este fenol en 2004 con el 20% de la ET0 son significativamente superiores a los de los dos años precedentes. Esto es muy importante, ya que confirma que el timol aumenta de forma manifiesta su presencia en el aceite esencial, a medida que pasa el tiempo, cuando a las plantas se les suministra el riego más reducido.

Es interesante destacar que la tendencia observada en la gráfica correspondiente a este componente es prácticamente opuesta en 2002 y 2004, lo que permite apreciar ciertamente la rectificación progresiva de la respuesta de estas plantas ante los distintos suministros de agua.

En el caso del carvacrol (Figura III.1–12b), los riegos equivalentes al 80 y 60% de la ETo tienen un efecto comparable los tres años de estudio, pero los aportes hídricos más bajos afectan a la síntesis de este componente a medida que transcurren las cosechas, ya que los resultados conseguidos en 2004 con el riego necesario para compensar el 40% de la ETo son significativamente superiores a los de 2002 y 2003, en tanto que con el 20%, los porcentajes del último año mejoran significativamente a los del primero.

En *Th. hyemalis*, la trayectoria seguida en cuanto a la producción de timol y carvacrol en función del riego, muestra un cierto paralelismo en 2002 y 2003, con valores que aumentan a medida que se incrementa el riego hasta el 60% de la ETo, y descienden o se mantienen entre el 60 y el 80%. En 2004, sin embargo, la tendencia cambia, invirtiéndose claramente en el caso del timol, en tanto que el carvacrol modifica su respuesta respecto a años anteriores cuando la cantidad de agua se eleva por encima del 40% de la ETo. Esto lleva a pensar que la síntesis de ambos fenoles a partir de p-cimeno acaba viéndose favorecida con suplementos hídricos escasos, ya que los porcentajes determinados en 2004 con niveles bajos de agua mejoran sustancialmente los de años anteriores. Si recordamos que a partir de 2003 ya no hay diferencias significativas entre tratamientos en cuanto a la producción de timol, podemos concluir que en una plantación establecida, un elevado aporte hídrico no mejora la calidad de estos aceites, lo cual se hace patente ya en el segundo año de ensayo.

Por lo que respecta a la primavera, recolección que sólo se considera en 2002 y 2004, la síntesis de timol (Figura III.1–13a) no muestra diferencias al comparar los valores de los dos años cuando a las plantas se les suministran los mayores aportes hídricos, sin embargo, si esos riegos se reducen hasta el 40 y 20% de la ETo, los resultados de 2004 son significativamente superiores a los de 2002.

El carvacrol (Figura III.1–13b) sólo muestra diferencias entre los dos años con el riego equivalente al 40% de la ETo, con el que se obtienen resultados significativamente mejores en 2004. Con el 20%, aunque superiores en promedio en dicho año, los porcentajes no son manifiestamente distintos en las dos recolecciones.

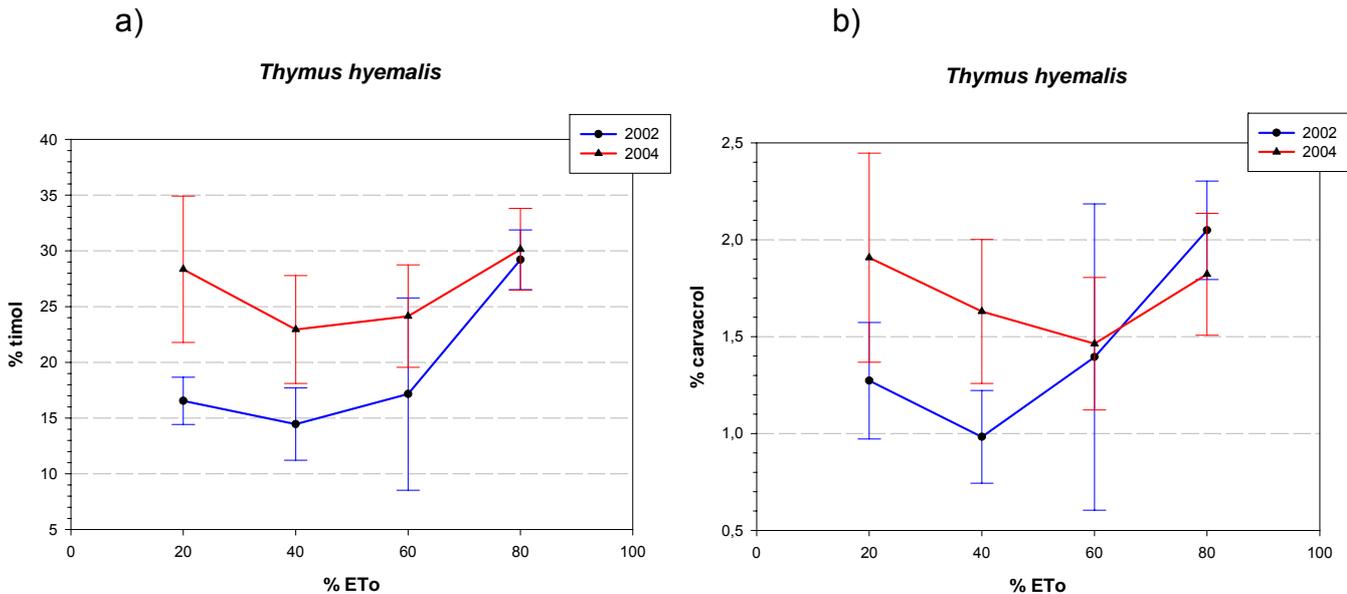


Fig. III.1–13. Evolución de la síntesis de compuestos fenólicos (primavera).

Analizado en detalle el quimiotipo timol, continuamos, de forma más resumida, con la exposición del resto de quimiovariedades encontradas en *Th. hyemalis*.

Quimiotipo fenólico, con timol $\leq 20\%$

El segundo grupo que aparece en la Tabla III.1–15 lo componen individuos con quimiotipo fenólico, pero con una concentración de timol que oscila entre el 12 y el 20%, inferior a la que presentan las plantas del apartado precedente, y un contenido en carvacrol del 0,9 al 5,5%. Estos tomillos suponen el 16,51% de la población, y se caracterizan por mostrar

altas concentraciones de los precursores p-cimeno y γ -terpineno (hasta un 45% con la suma de ambos), características de los quimiotipos fenólicos, pero también muestran porcentajes elevados de otros componentes, como α -pineno (2,2–6,7%), canfeno (1,2–3,5%), 1,8-cineol (2,3–7,4%), (*E*)-hidrato de sabineno (2,3–13,0%), (*Z*)-hidrato de sabineno (2,8–8,1%), linalol (2,3–8,0%), borneol (2,4–11,4%), terpinen-4-ol (2,6–7,0%), y verbenona (2,8–9,0%). La presencia en cantidades relativamente altas de todos estos componentes origina un descenso en el porcentaje de timol detectado por el cromatógrafo, aunque continúa siendo el componente mayoritario.

Quimiotipo fenólico, con timol \leq 20%, y precursores elevados

La tercera categoría está constituida por plantas que manifiestan igualmente quimiotipo fenólico, pero con una presencia dominante de ambos precursores, especialmente p-cimeno. Estas plantas representan un porcentaje del 7,34%, y en ellas el timol se encuentra en una proporción fijada entre el 10 y el 20%. Estos individuos se han considerado en un grupo separado de los anteriores porque en ellos, la suma de p-cimeno y γ -terpineno supera el 50% del porcentaje de área, pudiendo alcanzar casi el 70% en algún caso. El p-cimeno es el constituyente más abundante en estas plantas, mostrando una concentración que se sitúa entre el 30 y el 50%. El γ -terpineno suele estar en menor concentración, oscilando entre 5 y 27%. Ambos terpenos mantienen sus niveles elevados independientemente del estado fenológico de la planta, por lo que parece que se trata de tomillos que no son capaces de sintetizar altas cantidades de timol a partir de sus precursores.

A modo de ejemplo, podemos ver la evolución de una de estas plantas en dos recolecciones diferentes: invierno de 2003 e invierno de 2004.

	<i>Inv 03</i>	<i>Inv 04</i>
Estado fenológico	FL-fr	FL-FR
p-cimeno	57,2%	48,9%
γ-terpineno	4,7%	9,4%
Timol	9,2%	13,8%

FL: floración

FR: fructificación; fr: fructificación apenas iniciada

Como se puede apreciar, el contenido en timol varía levemente de un año a otro, incrementándose su cantidad en 2004, pero sin alcanzar concentraciones elevadas. Es importante recordar que estas plantas se deben recolectar cuando se encuentran en floración-fructificación, ya que este es el estado fenológico más adecuado tanto en lo referente a la producción de biomasa como al rendimiento y calidad del aceite esencial (Sotomayor, 1998; Jordán *et al.*, 2006). Teniendo esto en cuenta, se observa que los porcentajes de p-cimeno y γ-terpineno se muestran diferentes los dos años. Tales diferencias pueden ser debidas a que la planta se encontrase en 2003 en un momento más temprano de su ciclo fenológico, habiendo transcurrido menos tiempo desde el inicio de la fructificación que en 2004 en el momento de su recolección, por lo que en dicho año la ruta que conduce a la síntesis de timol a partir de p-cimeno se ha completado, de ahí el mayor contenido en el fenol, y el porcentaje más bajo de su precursor inmediato, y por otra parte, se está comenzando a sintetizar más γ-terpineno, preparando un nuevo ciclo.

Quimiotipo mixto α-terpineol/timol

Con este quimiotipo encontramos un 6,42% de la población. Estas plantas se caracterizan por presentar un porcentaje elevado de ambos componentes, mostrando un perfil volátil que se puede resumir como se presenta en la Tabla III.1–19, en la que aparecen únicamente aquellos constituyentes que en algún caso alcanzan una concentración superior al

1%, con los valores máximos y mínimos que presentan entre las distintas plantas.

Proporciones relativas de α -terpineol tan elevadas como los que se muestran aquí no han sido detectadas por Sotomayor (1998), ni por Sáez (1996). Este último autor encuentra cantidades relativas de este alcohol que oscilan entre 0 y 16,1%.

Tabla III.1–19. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. hyemalis*, quimiotipo mixto α -terpineol/timol.

Componentes	Concentración (%)
α -Pino	0,28 – 2,07
Mirceno	1,01 – 1,73
α -Terpineno	1,14 – 2,35
p-Cimeno	11,44 – 25,01
Limoneno	0,81 – 1,46
(<i>E</i>)- β -Ocimeno*	0,03 – 2,09
γ -Terpineno	6,25 – 14,65
(<i>E</i>)-Hidrato de sabineno	0,39 – 8,46
(<i>Z</i>)-Hidrato de sabineno*	0,11 – 7,04
Borneol	0,31 – 4,79
Terpinen-4-ol	0,34 – 5,49
α -Terpineol	15,12 – 28,68
Verbenona	1,82 – 3,76
Éter metílico de carvacrol	0,04 – 1,05
Timol	15,19 – 22,65
Carvacrol	0,66 – 1,55

* Identificación tentativa.

Como se puede observar en la tabla precedente, los alcoholes (*E*) y (*Z*)-hidrato de sabineno, borneol y terpinen-4-ol también aparecen en porcentajes relativamente altos en las plantas que poseen este quimiotipo, aunque muestran una notable variación entre los tomillos analizados, oscilando entre cantidades mínimas y concentraciones

importantes. La verbenona, componente característico de esta especie, tiene igualmente una presencia marcada en estos aceites.

Quimiotipo linalol

Se presenta en el 5,50% de los casos, y ha sido determinado también por Sáez (1995b). Muestra como componente mayoritario este alcohol, distinguiéndose entre un quimiotipo linalol puro, con cantidades que pueden alcanzar hasta el 74% para este constituyente, y un quimiotipo mixto linalol/acetato de linalilo. La designación de un quimiotipo u otro depende de las concentraciones relativas de ambos componentes.

El primero es más frecuente, presentándose en cuatro de las seis plantas que se han encontrado con esta variedad química, aunque porcentajes de linalol que alcancen el 74% no son usuales, ya que sólo lo hemos encontrado en una de las muestras analizadas.

Los terpenos α -pineno y mirceno son también abundantes en estas plantas, además de p-cimeno y γ -terpineno, compuestos frecuentes en la naturaleza aunque no se trate de quimiotipos fenólicos.

La cosecha de invierno proporciona el siguiente resultado:

Tabla III.1–20. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. hyemalis*, quimiotipo linalol.

Componentes	Concentración (%)
α -Pineno	0,15 – 2,04
Mirceno	0,37 – 2,29
p-Cimeno	2,67 – 21,71
Limoneno	0,31 – 1,60
1,8-Cineol	0,01 – 2,94
(<i>E</i>)- β -Ocimeno*	0,02 – 1,29
γ -Terpineno	1,22 – 7,19
Linalol	22,89 – 74,27
Borneol	0,44 – 8,73

Tabla III.1–20 (continuación)

Componentes	Concentración (%)
Terpinen-4-ol	0,16 – 1,52
α -Terpineol	0,18 – 6,03
Verbenona	0,70 – 5,44
Éter metílico de carvacrol	0,02 – 1,34
Geraniol + Acetato de linalilo	0,09 – 26,89
Timol	2,21 – 12,06
Carvacrol	0,08 – 1,18
Acetato de geranilo	0,02 – 2,97
(<i>E</i>)-Cariofileno	0,27 – 1,93

* Identificación tentativa.

Los tomillos con este quimiotipo recolectados en primavera ven disminuido su contenido en linalol respecto a invierno.

Quimiotipo carvacrol

Las plantas que presentan este fenol como componente más abundante suponen el 3,67% de las analizadas. Este quimiotipo aparece en plantas aisladas entre aquellas que contiene timol (Sáez, 1995b).

Los fenoles están ampliamente representados en el género *Thymus*, con el timol como componente más importante en la mayoría de plantas, en tanto que el carvacrol aparece como constituyente mayoritario en un número bastante inferior de individuos. Su precursor común p-cimeno conduce a la síntesis de timol o carvacrol, que se suelen encontrar juntos en la mayoría de las ocasiones, generalmente con la dominancia de uno de ellos. El que predomine un componente u otro está controlado genéticamente, dependiendo de la activación o inhibición de determinadas enzimas de la cadena biosintética de la que ambos son productos finales (Stahl-Biskup, 1991).

Los componentes más destacados encontrados entre estas plantas son:

Tabla III.1–21. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. hyemalis*, quimiotipo carvacrol.

Componentes	Concentración (%)
α -Tujeno*	0,85 – 2,14
α -Pino	0,85 – 2,38
Canfeno	0,57 – 1,92
Mirceno	0,94 – 8,94
α -Terpineno	1,23 – 2,23
p-Cimeno	11,67 – 26,45
Limoneno	0,67 – 1,83
1,8-Cineol	0,02 – 2,19
(<i>E</i>)- β -Ocimeno*	0,05 – 2,22
γ -Terpineno	7,63 – 17,99
(<i>E</i>)-Hidrato de sabineno	0,40 – 3,86
(<i>Z</i>)-Hidrato de sabineno*	0,11 – 6,38
Linalol	0,37 – 2,11
Alcanfor	0,63 – 1,26
Borneol	1,83 – 6,43
Terpinen-4-ol	0,36 – 4,46
Verbenona	1,25 – 3,31
Éter metílico de carvacrol	0,22 – 1,42
Timol	0,35 – 4,79
Carvacrol	20,88 – 40,11

* Identificación tentativa.

En la segunda recolección se aprecia en general un descenso en el contenido de ambos fenoles, más señalada en el caso del timol.

Quimiotipo mixto, borneol/timol

Determinado en el 2,75% de las plantas analizadas, este quimiotipo mixto se caracteriza por presentar una alta concentración de ambos

componentes, que en uno de los casos es bastante similar, en tanto que en los otros dos tomillos encontrados con este quimiotipo el borneol es más abundante que el timol.

Los aceites de estas plantas muestran un perfil volátil que se resume en la Tabla II.1–22.

La presencia del precursor p-cimeno en estos aceites supera a la del timol, y en una de las muestras, el linalol alcanza un porcentaje muy similar al del fenol.

Tabla III.1–22. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. hyemalis*, quimiotipo mixto borneol/timol.

Componentes	Concentración (%)
α-Pineno	0,62 – 3,66
Canfeno	4,33 – 5,54
Mirceno	0,55 – 1,04
α-Terpineno	0,49 – 1,94
p-Cimeno	10,00 – 24,58
Limoneno	0,89 – 1,93
(E)-β-Ocimeno*	0,01 – 1,93
γ-Terpineno	3,49 – 11,44
(E)-Hidrato de sabineno	0,54 – 6,49
Linalol	0,82 – 11,23
Alcanfor	1,69 – 2,94
Borneol	14,72 – 17,84
Terpinen-4-ol	0,83 – 4,46
α-Terpineol	0,23 – 4,70
Verbenona	3,09 – 4,99
Éter metílico de timol	0,14 – 1,30
Timol	9,79 – 17,27
Carvacrol	0,98 – 5,44

* Identificación tentativa.

Sáez (1996), también encuentra niveles elevados de borneol (hasta 18,1%) en individuos con altas concentraciones de timol y, especialmente, de ambos precursores fenólicos. Por su parte, Jiménez *et al.* (1989)

apuntan a la existencia de una ruta biosintética preferente, cuyo producto final serían los fenoles, y una segunda vía que conduce a la formación de borneol.

Es interesante mencionar que en estas plantas, la relación borneol/timol varía en primavera respecto a invierno, desplazándose en la segunda recolección hacia un mayor contenido en timol. Es posible, a falta de más ensayos, que en estos tomillos se active en primavera la síntesis de timol en respuesta a la temperatura más elevada de esta estación. Por eso pasaría de tener un quimiotipo mixto en invierno a un quimiotipo simple en primavera, con el fenol como componente destacado. En las plantas cuyo perfil se muestra en las Tablas III.1–16 y III.1–17, que presentan en invierno y en primavera el timol como constituyente mayoritario, éste disminuye su concentración en la segunda recolección, lo cual contradice lo anterior. Sin embargo, se debe considerar que en primavera las plantas disponen de menos tiempo para completar su ciclo fenológico, y la etapa de floración-fructificación, en la que se suele encontrar el máximo contenido en timol, es más corta, acelerándose la entrada en plena fructificación, por lo que la síntesis de timol no puede alcanzar los porcentajes de invierno. Las plantas con quimiotipo mixto, cuyo porcentaje de timol no es tan elevado en invierno, sí podrían alcanzar concentraciones más altas de este componente en primavera.

Quimiotipo mixto, linalol/timol

Estos tomillos representan el 1,83% de la población analizada. En ellos, también α -pineno, 1,8-cineol y borneol alcanzan valores elevados, así como terpenos menos volátiles, como (*E*)-cariofileno y valenceno.

En la Tabla III.1–23, en la que se muestra el perfil volátil de las dos plantas estudiadas, es posible observar que los porcentajes de linalol y timol son bastante parecidos en los tomillos que manifiestan este quimiotipo.

Tabla III.1–23. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. hyemalis*, quimiotipo mixto linalol/timol.

Componentes	Concentración (%)	
	Muestra 1	Muestra 2
α -Pino	2,18	2,67
Canfeno	1,44	1,23
Mirceno	0,86	1,41
α -Terpineno	0,57	1,05
p-Cimeno	13,87	16,38
Limoneno	0,84	1,56
1,8-Cineol	12,58	5,38
(<i>E</i>)- β -Ocimeno*	0,05	1,47
γ -Terpineno	4,52	9,78
Linalol	18,56	16,62
Alcanfor	1,36	1,06
Borneol	6,17	4,67
α -Terpineol	1,44	0,98
Verbenona	4,09	4,75
Éter metílico de carvacrol	1,16	1,20
Timol	15,02	16,50
Carvacrol	0,45	0,29
(<i>E</i>)-Cariofileno	0,95	2,07
Valenceno	1,03	0,65

* Identificación tentativa.

En primavera se pudo analizar de nuevo una de estas plantas (muestra 2), advirtiéndose un marcado descenso en su contenido en linalol (5,89%). También baja, aunque de forma más ligera, el porcentaje de timol (13,60%). El 1,8-cineol reduce igualmente de forma notable su presencia en el aceite en primavera (0,02%), en tanto que se elevan las concentraciones de (*E*)-hidrato de sabineno (de 0,40 a 1,56%), (*Z*)-hidrato de sabineno (de 0,10 a 2,24%) y terpinen-4-ol (de 0,43 a 3,52%).

Quimiotipo α -terpineol

Esta variedad química se presenta en un porcentaje de plantas idéntico al anterior, 1,83%. En este quimiotipo, a diferencia del mixto α -terpineol/timol, la concentración del alcohol es claramente superior a la del fenol.

La presencia de precursores fenólicos también destaca en estos aceites esenciales, junto al linalol y 1,8-cineol, que pueden alcanzar una proporción superior al 4%. En la siguiente tabla se representa la concentración relativa de los principales constituyentes de las dos muestras recolectadas.

Tabla III.1–24. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. hyemalis*, quimiotipo α -terpineol.

Componentes	Concentración (%)	
	Muestra 1	Muestra 2
α -Pino	1,14	0,21
Mirceno	1,87	1,60
p-Cimeno	22,39	8,00
Limoneno	1,58	0,59
1,8-Cineol	4,06	1,95
(<i>E</i>)- β -Ocimeno*	1,60	3,11
γ -Terpineno	7,34	7,85
Linalol	3,98	4,06
Borneol	2,34	2,67
α -Terpineol	30,95	48,73
Verbenona	3,77	0,72
Timol	5,38	11,36
Carvacrol	0,42	0,20

* Identificación tentativa.

Plantas con este quimiotipo no pudieron ser recolectadas en primavera.

Quimiotipos cuyo porcentaje no supera el 0,92%

Los cuatro últimos grupos de la Tabla III.1–15 se van a considerar en el mismo apartado, ya que su baja presencia en la población puede indicar que no se trata de variedades químicas, sino de hibridaciones puntuales con otras especies de tomillo.

- El quimiotipo *1,8-cineol* ha sido encontrado en *Th. hyemalis* por otros autores, como Cabo *et al.* (1986) y Cabo *et al.* (1987), que definen este componente como el más importante en plantas recolectadas en Almería y Granada, con un porcentaje que oscila entre 13,3 y 26,8%, en función de la zona y la época de recolección. Parece, por lo tanto, que se trata realmente de una variedad química definida, aunque no muy frecuente en la zona del Campo de Cartagena, de donde proceden las semillas empleadas en el presente estudio.

En los trabajos previos citados aparecen, además, cantidades elevadas de mirceno (hasta 31,3%), linalol (hasta 7,3%) y alcanfor (hasta 20,9%). Esos mismos componentes no alcanzan concentraciones tan elevadas en la muestra recolectada en nuestra parcela, detectándose porcentajes de 1,27%, 0,56%, y 0,62%, respectivamente, para cada uno de ellos.

En nuestro caso, el aceite esencial analizado se caracteriza por una presencia importante de eucaliptol, además de α -pineno, α -terpineol y timol, como puede verse en la tabla que se incluye en este apartado.

La distribución de los componentes más abundantes quedaría de la siguiente forma:

Tabla III.1–25. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. hyemalis*, quimiotipo 1,8-cineol.

Componentes	Concentración (%)
α -Pino	5,79
β -Pino	2,17
Mirceno	1,27
p-Cimeno	19,53
1,8-Cineol	29,57
γ -Terpino	7,10
Borneol	2,58
α -Terpineol	8,60
Verbenona	1,41
Timol	8,80
Carvacrol	0,96

• El quimiotipo mixto binario *carvacrol/(E)-hidrato de sabineno* encontrado podría deberse a la introgresión con *Th. baeticus*, especie que convive con *Th. hyemalis*. La planta en la que se determina este perfil volátil se recolectó tanto en invierno como en primavera (Tabla III.1–26).

La cantidad de carvacrol y sus precursores es semejante en las dos recolecciones, con variaciones apenas reseñables.

Tabla III.1–26. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. hyemalis*, quimiotipo mixto carvacrol/(E)-hidrato de sabineno.

Componentes	Concentración (%)	
	Inv.	Prim.
α -Pino	5,32	5,84
α -Terpino	2,62	3,56
p-Cimeno	14,46	13,10
Limoneno	2,88	3,30
γ -Terpino	15,48	17,04
(E)-Hidrato de sabineno	10,09	4,69
Linalol	4,36	4,25
Borneol	3,62	2,59
Terpinen-4-ol	6,52	10,83

Tabla III.1–26 (continuación)

Componentes	Concentración (%)	
	Inv.	Prim.
Verbenona	6,14	4,69
Timol	0,19	0,15
Carvacrol	8,86	10,01

Por otra parte, esta planta ilustra la correlación existente entre (*E*)-hidrato de sabineno y terpinen-4-ol, con porcentajes que pasan de 10,1 y 6,5%, respectivamente, en invierno, a 4,7 y 10,8% en primavera, es decir, cuando uno de estos compuestos incrementa su presencia en el aceite, el otro la reduce, por lo que parece confirmarse que terpinen-4-ol es precursor de (*E*)-hidrato de sabineno (Sotomayor, 1998).

- Otro quimiotipo mixto, *linalol/α-terpineol*, se detecta también en una sola planta, aunque los quimiotipos simples determinados por los dos alcoholes por separado son más abundantes. Los componentes más importantes en este tomillo son los que aparecen en la Tabla III.1–27.

Tabla III.1–27. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. hyemalis*, quimiotipo mixto linalol/α-terpineol.

Componentes	Concentración (%)
α-Pineno	2,13
p-Cimeno	9,62
γ-Terpineno	6,42
(<i>E</i>)-Hidrato de sabineno	2,82
Linalol	19,08
Terpinen-4-ol	4,16
α-Terpineol	19,93
Verbenona	6,25
Timol	6,79
Carvacrol	0,44

• Por último, el quimiotipo mixto *mirceno/hidrato de sabineno* presenta una concentración destacada del terpeno, así como de (*E*) y (*Z*)-hidrato de sabineno. Como se ha comentado anteriormente, concentraciones tan altas de mirceno se han encontrado antes en *Th. hyemalis*, por parte de Cabo *et al.* (1986) y Cabo *et al.* (1987), en plantas ricas en 1,8-cineol.

Tabla III.1–28. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. hyemalis*, quimiotipo mixto linalol/hidrato de sabineno.

Componentes	Concentración (%)
α -Tujeno*	3,21
α -Pino	6,64
Mirceno	20,76
p-Cimeno	5,78
Limoneno	2,83
1,8-Cineol	3,27
γ -Terpineno	4,31
(<i>E</i>)-Hidrato de sabineno	7,69
(<i>Z</i>)-Hidrato de sabineno*	13,25
Terpinen-4-ol	5,68
Verbenona	4,65
Timol	3,33
Carvacrol	0,23

* Identificación tentativa.

Esta riqueza en quimiotipos justifica la importancia comercial de este tomillo, ya que su variabilidad, asociada a una elevada actividad antioxidante y antimicrobiana, le permite ofrecer numerosas opciones a las diferentes industrias, que pueden seleccionar aquellas plantas que respondan mejor a sus intereses.

En este sentido, se ha realizado un estudio de las propiedades antioxidantes de los aceites esenciales de esta especie, empleando para ello muestras pertenecientes a la recolección de 2004. Los resultados

obtenidos varían en base al perfil volátil de cada muestra (Lax *et al.*, 2007).

Por lo que respecta al quimiotipo timol, se seleccionan los aceites de tres plantas, en los cuales se observan porcentajes de este fenol del 46, 36 y 25%, determinándose para tales aceites una actividad antirradicalaria (AA) del 60, 69 y 75% respectivamente, medida en base a su capacidad de captación del radical DPPH* (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo). Como se puede ver, el poder antioxidante de estas sustancias no se relaciona directamente con un alto contenido en timol, ya que la muestra más efectiva de las tres ensayadas es la que presenta una distribución más homogénea de sus constituyentes, especialmente en lo que se refiere al timol y su precursor p-cimeno.

Por otra parte, Rota *et al.* (2008) estudian las propiedades antibacterianas de diferentes aceites esenciales, constando que el procedente de *Th. hyemalis*, con un contenido en timol del 43%, resulta ser el más activo frente a bacterias que se transmiten a través de los alimentos.

Las cualidades de estas sustancias como agentes antimicrobianos o antioxidantes se asocian generalmente a su contenido fenólico, quedando de manifiesto que lograr el óptimo de eficacia requiere concentraciones relativas de timol más o menos elevadas en función de la actividad realizada por dichas sustancias.

En el trabajo de Lax *et al.* (2007) aparecen reflejados también los resultados obtenidos con otros quimiotipos descritos en *Th. hyemalis*.

El aceite esencial rico en carvacrol, con un contenido en dicho componente del 21%, demuestra ser un excelente agente antioxidante, ya que la AA medida en este caso es del 69%, lo que parece indicar que se precisa un menor porcentaje de carvacrol que de timol, en los aceites con quimiotipo fenólico, para conseguir un resultado equiparable. Sin embargo, analizando la efectividad de ambos componentes en solitario, el timol parece ser mejor antioxidante que el carvacrol (Yanishlieva *et al.*, 1999; Youdim *et al.*, 2002). Esto confirma la existencia de relaciones

sinérgicas entre los constituyentes mayoritarios de estas sustancias y aquellos que se encuentran en menor proporción, favoreciendo estas interacciones la eficacia de los aceites ricos en carvacrol.

Para el quimiotipo mixto borneol/timol, con porcentajes del 18% para el alcohol y 12% para el fenol, se señala igualmente una capacidad de captación del DPPH• del 69%. La planta estudiada revela además un alto contenido en linalol (11%).

Con relación a este alcohol, corresponde mencionar que la AA es también elevada en aceites con quimiotipo mixto linalol/timol, estimándose un valor de la misma del 67% en la muestra analizada. En dicha muestra se detectan concentraciones relativas de linalol y timol del 19 y 15% respectivamente, presentando también una cantidad de 1,8-cineol del 13%.

La efectividad disminuye en los tomillos con quimiotipo linalol puro. Un porcentaje de este alcohol del 74%, con una proporción de timol del 4%, manifiesta un poder de captación del radical DPPH• del 41%. El menor contenido fenólico es el principal responsable de este descenso.

Lo mismo ocurre con el α -terpineol, ya que aceites con un porcentaje mayoritario de este alcohol (cercano al 49%) no son tan buenos agentes antioxidantes como aquellos caracterizados con un quimiotipo mixto α -terpineol/timol, con una cantidad relativa del 15% para ambos componentes, y una AA del 58%, frente al 49% del quimiotipo puro.

Para terminar, con los datos reflejados en este trabajo ha quedado de manifiesto la necesidad de realizar una selección de estos tomillos previa a la plantación, tanto para generar plantas resistentes a las siegas como para asegurar la calidad del aceite esencial y ofrecer un contenido en timol, componente más apreciado, adecuado a las exigencias del mercado.

III. 2. ***THYMUS ZYGIS subsp. GRACILIS.***

De las tres especies objeto de esta Tesis, *Th. zygis* es la más interesante desde el punto de vista económico, ya que el elevado contenido en timol de su aceite esencial justifica que, actualmente, sea el tomillo más demandado por parte de los sectores implicados en el comercio de plantas aromáticas.

Como se ha comentado en la introducción, esta labiada presenta tres subespecies, de las cuales se ha seleccionado *Th. zygis subsp. gracilis* para estudiar su comportamiento en cultivo ante distintos niveles de riego, dado que es la más comercializada en España y está ampliamente representada en nuestra zona.

La variabilidad intraespecífica encontrada en esta planta no es tan acusada como en la especie tratada anteriormente, ya que todos los individuos analizados en este estudio presentan quimiotipo timol, con cantidades del mismo que pueden superar el 60%. A la buena calidad de su aceite esencial se suma la considerable producción de fitomasa que proporciona este tomillo. Por ello, si bien el rendimiento en aceite obtenido por destilación de las plantas individuales no es mejor que el alcanzado con *Th. hyemalis*, la mayor generación de material vegetal, a partir del cual se extrae dicho aceite, origina una productividad en litros por hectárea superior con *Th. zygis*.

Todo ello ha propiciado el desarrollo de plantaciones comerciales de esta labiada en Murcia y Almería, así como cultivos experimentales, como el descrito por Sotomayor (1998) en dos localidades distintas de Murcia, en condiciones de secano.

Todas las tablas y gráficas que aparecen en el presente capítulo, al igual que se ha hecho con *Th. hyemalis*, se han confeccionado siguiendo los criterios descritos en la sección Material y Métodos.

III. 2. 1. EFECTO DE LAS SIEGAS SOBRE LA SUPERVIVENCIA DE LAS PLANTAS.

Tal como se hizo con *Th. hyemalis*, se procede en primer lugar a exponer las marras totales ocasionadas con cada uno de los tratamientos hídricos durante los tres años de ensayo (Tabla III.2–1).

Tabla III.2–1. Porcentaje de marras ocasionadas a lo largo de los tres años de cultivo.

	% ETo			
	80	60	40	20
	% marras			
2002	21	13	9	8
2003	54	43	32	24
2004	59	51	44	32

Las marras producidas en 2003 doblan, e incluso triplican, a las contabilizadas en 2002. La mortalidad de las plantas entre 2003 y 2004 no es tan elevada. Respecto a los distintos suplementos hídricos, se observa que la supervivencia de las plantas se ve perjudicada a medida que se elevan las cantidades de agua suministradas al cultivo.

En la Figura III.2–1 se pueden valorar gráficamente estos datos, mostrando la persistencia de las plantas de *Th. zygis* a medida que transcurren las sucesivas siegas, en función de los tratamientos de riego.

Las plantas, cuyo número inicial es de 140 por subparcela, son contadas en los meses de verano.

Tal como se puede ver en dicha figura, se corrobora en esta especie lo que también se ha observado en *Th. hyemalis*: una cantidad excesiva de agua resulta perjudicial para los tomillos, ya que el número de plantas vivas desciende cada año de forma más acusada en los tratamientos que implican un mayor aporte hídrico, siendo esto más patente en 2003 y 2004.

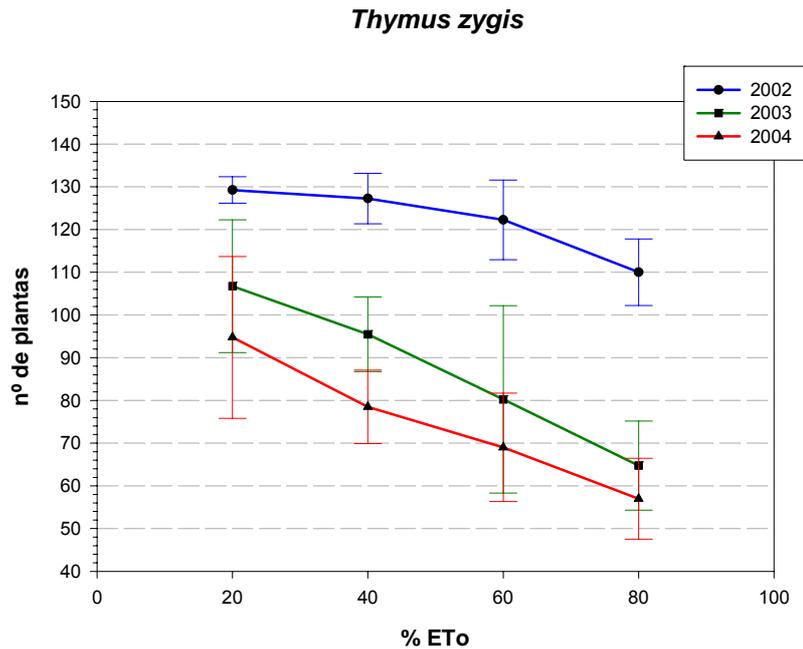


Fig. III.2–1. Número de plantas vivas, en función de la ETo, encontradas en los tres años de estudio.

Además, queda patente el significativo descenso en el número de plantas viables a partir de 2002. Teniendo en cuenta que la plantación se realiza en mayo de 2000, parece que estas labiadas soportan las condiciones propias de un cultivo de una forma bastante aceptable durante los dos primeros años, incrementándose la mortalidad en el tercero. Dicho de otro modo, las siegas efectuadas son bien toleradas por estas plantas hasta 2002, momento en que han recibido tres cortes (2000, 2001 y 2002). A partir de esa tercera recolección, parecen combinarse dos fenómenos que originan el incremento de la mortalidad observado en 2003. El primero de ellos sería el causado directamente por las recolecciones, debido a una cierta dificultad para el rebrote en plantas maduras; el segundo motivo de este descenso en el número de individuos viables detectado puede encontrarse en una patología que afecta a esta especie, la cual provoca unos síntomas semejantes a los de una

enfermedad fúngica, aunque no se ha conseguido aún aislar el agente patógeno.

A pesar de que, en nuestro caso, en 2001 las condiciones cambian al comenzar a aplicarse los riegos diferenciados, no parece que sea esta la causa del aumento de la mortalidad, considerando que la reducción en la cantidad de plantas vivas es común a todos los tratamientos hídricos. Además, las diferencias entre 2003 y 2004 no son tan acusadas, lo que puede indicar que las plantas que se han contabilizado en estos dos años son las que presentan mayor resistencia a la siega y mejor adaptación a las condiciones en las que se encuentran, lo que facilita su rebrote tras cada cosecha.

III. 2. 2. PRODUCCIÓN DE BIOMASA.

Th. zygis, a diferencia de *Th. hyemalis*, produce una única cosecha anual, en junio. Esta especie presenta tallos más herbáceos, frente a la estructura leñosa de las otras dos especies incluidas en esta memoria.

En la Tabla III.2–2 se recogen los resultados obtenidos en 2002, correspondientes tanto al material vegetal en fresco recolectado en la parcela, como al producto desecado que se deriva del mismo. Junto a cada porcentaje de la ETo aparecen las cantidades reales de agua que han recibido las plantas.

En junio de 2002 se ha cumplido casi un año desde el inicio del riego diferenciado, y dos desde que se estableció la plantación. Se trata del tercer corte realizado a las plantas, tras los correspondientes a 2000 y 2001. En estas condiciones, como se puede apreciar en dicha tabla, la producción obtenida se muestra condicionada por los distintos suplementos de agua.

Tabla III.2–2. Valores de producción, en función de la ETo, correspondientes a primavera de 2002.

	% ETo			
	80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Kg MF/ha	20.745,8 ± 1.153,32 ^a	18.791,1 ± 1.632,66 ^a	15.846,7 ± 1.819,80 ^b	11.894,2 ± 2.225,01 ^c
% MS	41,20	40,59	46,49	51,62
Kg MS/ha	8.547,3 ± 475,17 ^a	7.627,3 ± 662,70 ^a	7.367,1 ± 846,03 ^{ab}	6.139,8 ± 1.148,55 ^b
% HS/MS	52,12	52,42	58,60	56,77
Kg HS/ha	4.454,8 ± 247,66	3.998,2 ± 347,38	4.317,1 ± 495,77	3.485,6 ± 652,03

^{a, b, c} Valores con distinto superíndice en la misma línea presentan diferencias estadísticamente significativas, de acuerdo con el test de la Menor Diferencia Significativa de Fisher ($P < 0,05$).
± Desviación estándar.

Los kilos de materia seca que se consiguen a partir del producto fresco se elevan significativamente si a las plantas se les aplican los suplementos hídricos necesarios para compensar el 80 y 60% de la ETo, aunque no hay diferencias entre estos dos tratamientos y el correspondiente al 40%. Esto se debe a que el agua retenida por estas plantas es mayor con los riegos abundantes, por lo que, consecuentemente, el porcentaje de materia seca aumenta con los niveles de agua más bajos. Por ello, la producción obtenida con el 40% iguala a las correspondientes a los otros dos tratamientos. Sin embargo, el excelente porcentaje que muestra el 20% de la ETo no consigue compensar el menor rendimiento en tomillo fresco que genera este aporte hídrico, por lo que los resultados logrados en cuanto a las plantas desecadas, aunque iguales a los del 40%, continúan siendo significativamente inferiores a los alcanzados con el 80 y 60%. Estos valores superan claramente, en cualquier caso, a los obtenidos con *Th. hyemalis*.

Por otra parte, es importante observar que la cantidad de hoja seca por hectárea que proporciona esta recolección no muestra diferencias entre tratamientos, punto de considerable interés ya que este producto es el más demandado como condimento por las industrias alimentarias. La

razón está, como avanzábamos en el párrafo anterior, en los elevados porcentajes de hoja y materia seca obtenidos con el 40 y 20% de la ETo, que atenúan las diferencias encontradas en cuanto a producción en fresco, de forma que, en lo referente a la hoja seca, el material que se puede conseguir con el menor aporte hídrico es tan abundante como el alcanzado con el mayor suplemento de agua.

En trabajos experimentales previos, Torrente (1985), propone para *Th. zygis* un rendimiento bianual de entre 8.800 y 8.900 Kg. de material en fresco por hectárea, en parcelas situadas en Almería, con una densidad de 50.000–60.000 plantas/ha. Chumillas (1986), en su ensayo llevado a cabo en el noroeste de la Región de Murcia, con 30.000 plantas/ha, consigue una producción de materia fresca con esta especie de 3.625 Kg/ha en Caravaca, y 4.830 Kg/ha en Moratalla, en tanto que la materia seca se estima en 2.445 y 1.410 Kg/ha, respectivamente, para cada localidad. Estos resultados corresponden a una primera siega realizada a las plantas tras dos años de cultivo. Por su parte, Sánchez-Gómez *et al.* (1989) alcanzan un rendimiento de 5.228 Kg/ha de producto fresco transcurrido un año desde la plantación, y 9.573 Kg/ha en el segundo año, para una densidad de 25.000 plantas/ha. Se trata de cultivos de secano, como el establecido por Sotomayor (1998) a lo largo de tres años, trabajo que resulta ser el más indicado para extraer conclusiones acerca de la idoneidad de las condiciones de cultivo descritas en esta Memoria, ya que una parte del mismo se desarrolla en la misma finca experimental de Torreblanca (Torre Pacheco) en la que se realiza el presente ensayo. En el citado trabajo, *Th. zygis* subsp. *gracilis* produce una cantidad máxima de 867 Kg de hoja seca por hectárea, alcanzada el tercer año de cultivo. Esta producción queda por debajo de la obtenida con cualquiera de los tratamientos hídricos aplicados en este estudio, aunque también es menor la densidad poblacional, con 25.000 plantas/ha. Pero es precisamente el suministro de agua a la plantación lo que permite plantear un menor marco de plantación, ya que los cultivos

de secano no pueden sostener una concentración de población tan elevada.

Sotomayor *et al.* (2001), en una publicación basada en la primera siega realizada a las plantas objeto de esta Tesis, obtienen para esta subespecie un rendimiento en materia fresca de 5.564 Kg/ha, y 1.263 Kg/ha de hoja seca, cuando han transcurrido siete meses desde la plantación, y estas plantas se encuentran en estado vegetativo de crecimiento. El aporte hídrico en el momento de esta recolección es el necesario para compensar el 60% de la ETo, y los resultados presentados contrastan con los obtenidos tras dos años de cultivo con el mismo aporte hídrico, que como se muestra en la tabla anterior alcanzan 18.791 Kg/ha, en promedio, de producto fresco, y 3.998 Kg/ha de hoja seca. Esto está justificado por el escaso desarrollo de las plantas cuando se realiza el primer corte.

En 2003 (Tabla III.2–3), la producción alcanzada se reduce notablemente respecto a la recolección anterior, dado el incremento de la mortalidad detectado en estos tomillos.

Tabla III.2–3. Valores de producción, en función de la ETo, correspondientes a primavera de 2003.

	% ETo			
	80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Kg MF/ha	8.564,8 ± 718,52 ^a	9.123,8 ± 1.503,59 ^a	7.800,0 ± 1.582,20 ^{ab}	6.072,7 ± 1.034,14 ^b
% MS	41,60	42,61	48,64	50,53
Kg MS/ha	3.563,0 ± 298,90	3.887,7 ± 640,68	3.793,9 ± 769,58	3.068,6 ± 522,55
% HS/MS	55,33	56,38	57,71	53,39
Kg HS/ha	1.971,4 ± 165,38	2.191,9 ± 361,22	2.189,5 ± 444,13	1.638,3 ± 278,99

^{a, b} Valores con distinto superíndice en la misma línea presentan diferencias estadísticamente significativas, de acuerdo con el test de la Menor Diferencia Significativa de Fisher (P < 0,05).
± Desviación estándar.

En esta recolección se ha podido observar un fenómeno, señalado anteriormente por Pellín Martínez *et al.* (1994), que puede afectar a este tomillo cuando se encuentra en floración. Dicho fenómeno tiene su origen en las condiciones meteorológicas, y se produce por la existencia de nieblas que se disipan a lo largo de la mañana, acompañadas de altas temperaturas que provocan que la flor se quemé y caiga, con lo que se acorta el período de floración.

El porcentaje de materia seca mejora a medida que disminuye el agua suministrada a las plantas también en esta recolección, lo que unido a la producción algo más homogénea alcanzada con el tomillo fresco, origina que en 2003 no existan diferencias entre riegos en lo referente a la obtención de material desecado.

Por lo que respecta a la hoja seca, en la cosecha de 2003 no se aprecian diferencias entre tratamientos, al igual que en 2002. El nivel de agua que proporciona el mejor porcentaje de hoja respecto a la materia seca, coincidiendo también con el año anterior, es el necesario para compensar el 40% de la ETo, ya que casi un 58% del producto desecado corresponde a esta materia prima.

Los promedios, tanto de materia como de hoja seca, alcanzados con el 60 y 40% de la ETo son muy semejantes.

Como se puede apreciar en el último año que comprende el ensayo (Tabla III.2–4), las plantas han modificado su respuesta a los diferentes aportes de agua con el paso del tiempo, de forma que si en 2002 los dos riegos más elevados resultaban significativamente más adecuados para la obtención de tomillo fresco, las diferencias detectadas desaparecían en 2003 por lo que respecta al 40% de la ETo, en tanto que en 2004 los cuatro suplementos hídricos tienen un efecto similar, no encontrándose entre ellos diferencias con significación estadística. En este sentido, *Th. zygis* es diferente de *Th. hyemalis*, ya que en el caso de este último, la producción de fitomasa se ve significativamente perjudicada por los

aportes hídricos elevados a medida que transcurren las recolecciones, en tanto que *Th. zygis* no muestra diferencias entre regar con más o menos agua en 2004. El incremento en la mortalidad detectado en los tratamientos que implican un suministro abundante de agua, se ve compensado por un mayor desarrollo de las plantas supervivientes.

Tabla III.2-4. Valores de producción, en función de la ETo, correspondientes a primavera de 2004.

	% ETo			
	80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Kg MF/ha	9.014,4 ± 900,81	9.672,2 ± 2.750,17	10.684,1 ± 2.300,17	8.946,8 ± 3.283,42
% MS	46,61	46,15	49,14	52,81
Kg MS/ha	4.201,6 ± 419,87	4.463,7 ± 1.269,20	5.250,2 ± 1.130,30	4.724,8 ± 1.733,97
% HS/MS	48,10	53,72	50,53	56,61
Kg HS/ha	2.021,0 ± 201,96	2.397,9 ± 681,82	2.652,9 ± 571,14	2.674,7 ± 981,60

± Desviación estándar.

La cantidad de materia y hoja seca, aunque sin diferencias entre tratamientos, presenta mejores promedios con el 40 y 20% de la ETo. El mejor rendimiento en hoja corresponde al 20%, con un porcentaje del 56,6% respecto a la materia seca, que permite alcanzar una producción que supera en promedio a las obtenidas con el resto de tratamientos, a pesar de que los kilos de producto fresco que se consiguen con este aporte hídrico sean los más bajos.

A la vista de estos resultados, se puede concluir que *Th. zygis* subsp. *gracilis* es una planta que puede desarrollarse y ofrecer un rendimiento óptimo, tanto de producto fresco como seco, con un aporte hídrico que no supere el 40% de la ETo, especialmente a partir del segundo año de cultivo. A pesar de que el rendimiento en hoja seca, producto comercialmente más importante, no se ve afectado si ese aporte

se reduce hasta el 20%, el 40% puede ser más adecuado para garantizar una producción abundante.

Por ello, esta especie de tomillo resulta muy adecuada para su cultivo en nuestra zona, sumándose sus escasas necesidades de agua a la cada vez más importante demanda que de los productos derivados de esta labiada se puede apreciar en el mercado de plantas aromáticas.

Es razonable pensar que el descenso en la producción, asociado al incremento de la mortalidad, detectado en 2003 se mitigaría con el empleo de plantas seleccionadas, resistentes a la siegas.

III. 2. 3. RENDIMIENTO EN ACEITE ESENCIAL.

Th. zygis es una planta con una gran riqueza en aceite esencial, lo que unido a la notable cantidad de biomasa que puede generar, se traduce en una importante producción por hectárea de esta sustancia.

En este estudio, el rendimiento individual se presenta en porcentaje respecto al peso seco, calculándose en función de los mililitros de aceite obtenidos por gramos de planta seca destilados. La producción por hectárea se refiere a los litros que se alcanzan aplicando el porcentaje anterior a los kilos de materia seca que genera el cultivo.

A) Destilación de las plantas individuales.

De esta labiada se extrae un aceite esencial de color blanquecino o amarillo pálido, con rendimientos que se pueden situar entre el 3 y el 4%, aunque se han encontrado plantas que alcanzan casi el 6%, siempre localizadas en las subparcelas que reciben menos agua.

El aceite esencial, como se viene mencionando a lo largo de este trabajo, representa la materia prima más apreciada de todas las obtenidas del tomillo, por lo que especies que sintetizan esta sustancia en

cantidades importantes son en principio las más relevantes a nivel comercial, dependiendo de la calidad de su aceite. En este caso, la calidad es también excelente, y por ello, las industrias especializadas, que se interesan de forma cada vez más patente por especies concretas que aseguren unos buenos rendimientos, demandan mayoritariamente esta labiada.

Al igual que ocurre con *Th. hyemalis*, la variabilidad intraespecífica también afecta a la síntesis de aceite esencial por parte de *Th. zygis*, dando como resultado porcentajes del mismo que oscilan en rangos más o menos amplios, por lo que resulta difícil establecer si los distintos riegos producen un efecto significativo en el rendimiento en aceite.

En la Figura III.2–2 se muestran los resultados correspondientes a junio de 2002.

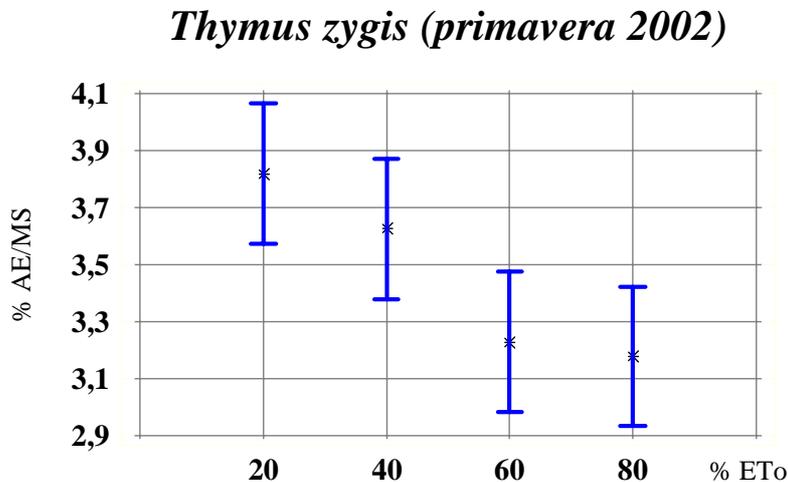


Fig. III.2–2. Rendimiento en aceite esencial, en función del riego, en 2002.

En esta recolección, la prueba ANOVA detecta diferencias significativas entre tratamientos. Aplicado el test de Fisher, con un nivel de confianza del 95%, se determina que tales diferencias se presentan

entre el menor aporte hídrico y los riegos suministrados para compensar el 60 y 80% de la ETo. Un bajo suplemento de agua favorece la síntesis de aceite esencial, con un rendimiento alcanzado con el 20% de la ETo de $3,8 \pm 0,40\%$, frente al $3,2 \pm 0,22\%$ obtenido con el 80%.

Moldão-Martins *et al.* (1999) estudian la variación estacional en el rendimiento y la composición del aceite esencial de *Th. zygis* subsp *sylvestris* en plantas espontáneas del norte de Portugal, empleando diferentes métodos de extracción. Los autores encuentran para este tomillo un rendimiento máximo de $1,4 \pm 0,03\%$ (volumen/peso seco) en el período de floración, cuando el aceite esencial se extrae mediante un sistema Clevenger. Este rendimiento se reduce hasta $0,9 \pm 0,03\%$ si la destilación se realiza por corriente de vapor. Comparando estos resultados con los obtenidos en el presente estudio, la subespecie *gracilis* puede doblar esta producción incluso cuando se le suministra el riego más elevado.

En 2003 (Figura III.2–3), la síntesis de aceite esencial por parte de estos tomillos no se ve afectada por la cantidad de agua que reciben, aunque los mejores promedios se alcanzan con los tratamientos que implican un menor aporte hídrico, con rendimientos de $3,9 \pm 0,99\%$ y $4,2 \pm 0,75\%$ para el 40 y 20% de la ETo, respectivamente.

En la recolección de 2004 (Figura III.2–4) se duplica el número de plantas analizadas, lo que atenúa el efecto de la variabilidad intraespecífica.

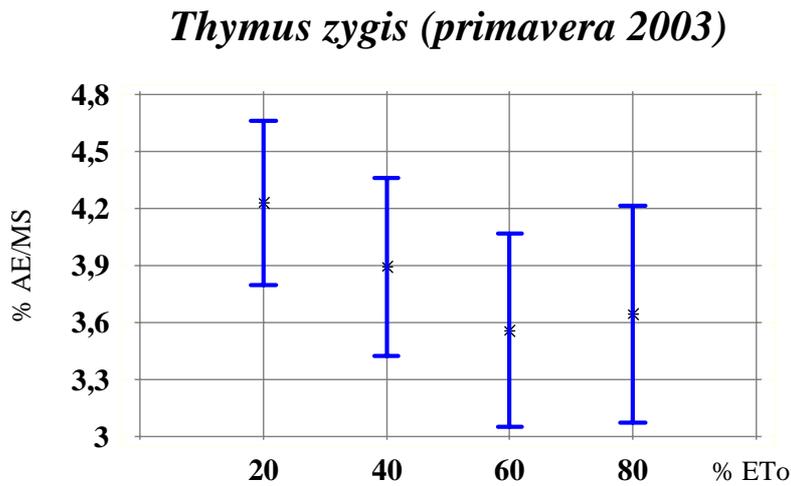


Fig. III.2–3. Rendimiento en aceite esencial, en función del riego, en 2003.

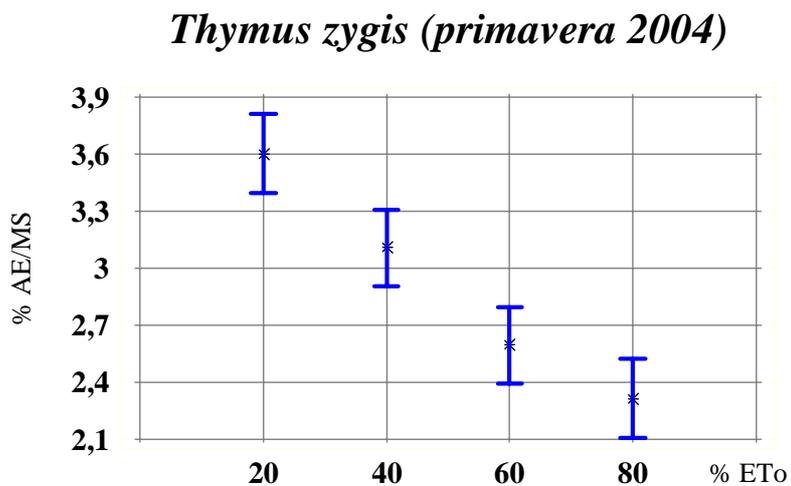


Fig. III.2–4. Rendimiento en aceite esencial, en función del riego, en 2004.

En el último año de ensayo las diferencias entre tratamientos vuelven a ser patentes, más incluso que en 2002, ya que el rendimiento alcanzado con el suplemento hídrico más bajo es significativamente superior a todos los demás, incluido el correspondiente al 40% de la ETo.

Este riego, a su vez, se presenta como significativamente más adecuado que el 80 y 60% para la obtención de aceite esencial.

Los resultados de esta cosecha oscilan entre un porcentaje de aceite de $3,6 \pm 0,71\%$, conseguido aportando el agua necesaria para compensar el 20% de la ETo, y el rendimiento correspondiente al nivel de riego más elevado, que se sitúa en $2,3 \pm 0,52\%$.

Considerando todos estos datos, resulta evidente que la producción de aceite esencial por parte de *Th. zygis* se ve favorecida por aportes de agua escasos, disminuyendo significativamente si se eleva el nivel de riego que reciben las plantas, al igual que ocurre con *Th. hyemalis*.

Respecto a esta otra especie, tratada en el capítulo anterior de esta Memoria, mencionar que los valores que alcanza *Th. hyemalis* en 2004 en cuanto a rendimiento en aceite esencial, se muestran en general más altos que los obtenidos con *Th. zygis* este mismo año.

B) Producción por hectárea.

Para estudiar la producción de aceite esencial a nivel agronómico, expresada en litros por hectárea, es necesario considerar que la cantidad de materia seca obtenida de la plantación el primer año de estudio aumenta a medida que se incrementa el suplemento hídrico que reciben las plantas, en tanto que el rendimiento en aceite esencial experimenta el efecto contrario. La combinación de ambos factores origina una compensación en los resultados que alcanza dicho aceite por área de cultivo (Tabla III.2-5), por lo que ya en la primavera de 2002 no se detectan diferencias con significación estadística entre tratamientos de riego, a diferencia de lo que ocurre con la producción de fitomasa.

Tabla III.2–5. Valores de producción de aceite esencial, en función de la ETo.

		% ETo			
		80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
L AE/ha	2002	271,6 ± 15,10	246,2 ± 21,39	267,1 ± 30,67	234,5 ± 43,87
	2003	130,0 ± 10,91	138,4 ± 22,81	151,4 ± 30,71	129,8 ± 22,10
	2004	97,1 ± 9,70	116,1 ± 33,00	163,3 ± 35,15	170,1 ± 62,42

± Desviación estándar.

De hecho, en 2002, como se puede ver en dicha tabla, con el nivel de riego correspondiente al 40% de la ETo se produce un aumento, en promedio, en los litros de aceite obtenidos por hectárea respecto al resultado que se logra con el 60%, contrariamente a lo observado en la producción tanto de materia fresca como seca (Tabla III.2–2). Este cambio de tendencia es debido a lo explicado en el párrafo anterior, ya que el mejor rendimiento en aceite esencial que se consigue con la destilación de las plantas que han recibido un suministro escaso de agua, puede compensar la mayor cantidad de biomasa que proporcionan suplementos hídricos más elevados.

Sotomayor *et al.* (2001), determinan para esta subespecie una producción de 55,7 L/ha, regando la parcela con el agua necesaria para compensar el 60% de la ETo, y transcurridos siete meses desde el establecimiento del cultivo. Se trata de plantas muy jóvenes, en estado vegetativo, lo que justifica que el resultado registrado sea inferior al que muestran esas mismas plantas con cualquiera de los tratamientos hídricos aplicados, cuando se recolectan en el momento óptimo de su ciclo fenológico, y con un desarrollo adecuado.

La recolección de 2003 proporciona unos valores que, como cabía esperar dado el descenso en producción de biomasa, están por debajo de los alcanzados en 2002. El hecho de regar con más o menos agua

tampoco afecta a la cantidad de aceite esencial que se obtiene de la plantación, aunque el mejor promedio se consigue con el suplemento hídrico equivalente al 40% de la ETo.

En 2004, sin embargo, el promedio más elevado corresponde al 20% de la ETo, aunque tampoco en este último año de ensayo se aprecian diferencias significativas entre tratamientos. El destacado rendimiento en aceite esencial que proporcionan las plantas que han recibido el menor aporte hídrico (Figura III.2-4), claramente superior al que se consigue con el resto de tratamientos, justifica el buen resultado alcanzado con dicho nivel de riego en lo referente a la producción por hectárea en 2004, mejorando incluso los valores que muestra el 40%. No obstante, las diferencias entre ambos tratamientos son escasas, estando más alejados los valores medios logrados con el 80 y 60% de la ETo.

Como se ha podido comprobar, el nivel de riego aplicado no afecta a la producción de aceite esencial al considerar la producción de toda la parcela, pero los suplementos hídricos más escasos acaban originando una mejora, aunque no significativa, en los resultados alcanzados.

III. 2. 4. EFECTO DEL RIEGO SOBRE LA EVOLUCIÓN DEL CULTIVO.

Una vez analizados los tres años por separado, estudiaremos en este apartado cómo se comporta *Th. zygis* subsp. *gracilis* en cuanto a la producción de materias primas a lo largo del tiempo, con el fin de obtener una información precisa de la adaptación de estas plantas al cultivo en base al aporte hídrico recibido. Para visualizar las diferentes recolecciones en conjunto, se representan gráficamente los datos mostrados en las Tablas III.2-2 a III.2-5, y las Figuras III.2-2 a III.2-4. El análisis de la evolución de la plantación se centra en la repercusión que las sucesivas siegas pueden tener tanto sobre la producción de material desecado como de aceite esencial, que en el caso de esta subespecie

supone el referente de mayor importancia dado su interés comercial. Todo ello es un factor de obligado conocimiento si se pretende establecer una explotación agrícola basada en estas labiadas.

Tal y como se distingue en la Figura III.2–5a, en el último año que comprende el ensayo los promedios de producción de material en seco son ligeramente superiores a los de 2003, a pesar de que ha disminuido la cantidad de plantas vivas. Esto se debe probablemente al fenómeno asociado a la meteorología que afectó a estos tomillos en el segundo año de ensayo, descrito anteriormente, aunque a la hora de valorar ese leve incremento en la generación de tomillo seco en 2004, también es importante considerar la menor competencia por los recursos que encuentran las plantas supervivientes, bien adaptadas al cultivo, que justifica que alcancen un mayor tamaño en muchos casos. No obstante, las producciones de 2004 continúan bastante alejadas de los valores medidos en junio de 2002.

Si bien 2003 es el año menos productivo, los análisis estadísticos no aprecian diferencias significativas al comparar sus producciones con las de 2004. Tales diferencias se presentan con el primer año de ensayo, que muestra cantidades de materia seca significativamente superiores a las obtenidas en 2003 y 2004 con el 80, 60 y 40% de la ETo, aunque con el 20%, el resultado de 2002 es comparable al de 2004, pero persiste la diferencia con 2003.

En cuanto a los kilos de hoja seca por hectárea (Figura III.2–5b), tras analizar los cuatro tratamientos por separado, la prueba ANOVA detecta diferencias significativas entre recolecciones. Al estudiar dónde radican esas diferencias, el test de Fisher determina el mismo resultado que encontramos en el caso anterior, es decir, la producción de 2002 es significativamente superior a las de 2003 y 2004 con el 80, 60 y 40% de la ETo, pero con el 20% no hay diferencias entre 2002 y 2004, en tanto que sí son diferentes los valores alcanzados el primer año de estudio y los correspondientes a 2003.

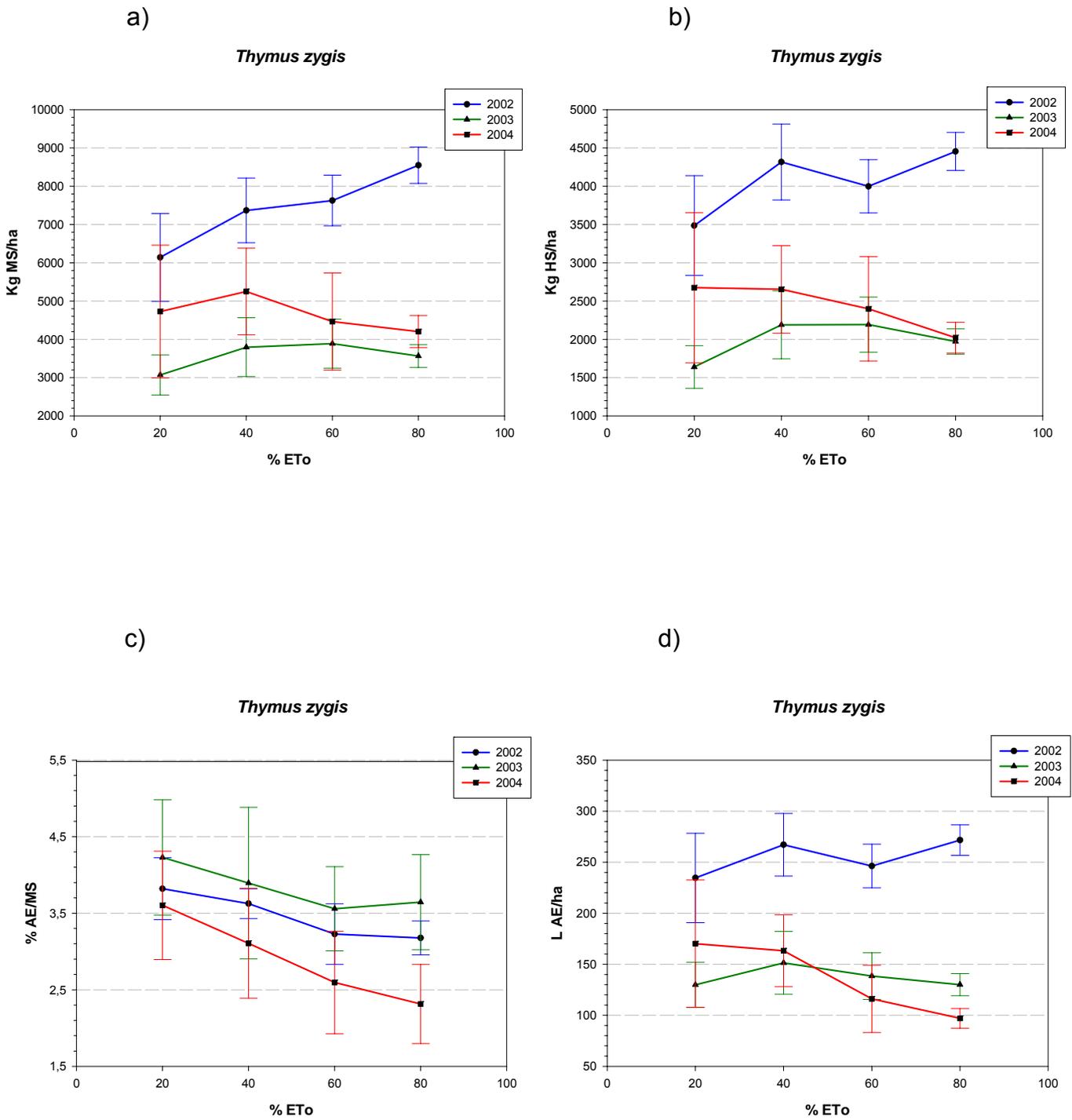


Fig. III.2-5. Evolución de la producción de materias primas durante los tres años de ensayo.

Observando el rendimiento en aceite esencial que se obtiene de las plantas individuales con la destilación (Figura III.2–5c), es posible distinguir que, con todos los niveles de riego, los promedios más elevados corresponden a 2003. La razón puede encontrarse en las condiciones climáticas de la primavera de dicho año, con temperaturas puntuales bastante cálidas, especialmente en mayo y junio, que podrían influir en las plantas activando la síntesis de aceite esencial en respuesta al estrés sufrido por las mismas. Por el contrario, los porcentajes de 2004 disminuyen respecto a las recolecciones anteriores.

Sin embargo, la prueba ANOVA determina que no existen diferencias con significación estadística entre los tres años cuando a las plantas se les suministran los riegos equivalentes al 40 y 20% de la ETo. Pero si el aporte hídrico se eleva hasta el 60%, los resultados de 2003 son significativamente superiores a los de 2004, aunque equivalentes a los de 2002. Con el 80%, el rendimiento que se consigue en 2004 es significativamente más bajo que los alcanzados en las dos recolecciones anteriores, que no muestran diferencias entre sí. Por lo tanto, la síntesis de aceite esencial por parte de estas plantas se ve perjudicada significativamente con el paso del tiempo cuando reciben cantidades elevadas de agua, manteniéndose en niveles equiparables con aportes hídricos bajos.

Finalmente, en la Figura III.2–5d, se muestra la trayectoria del volumen de aceite esencial obtenido por unidad de superficie, y los resultados de 2002 superan a los de las dos recolecciones posteriores, ya que al extrapolar a litros por hectárea, la cantidad de materia seca obtenida en cada cosecha es determinante, por tratarse del material a partir del cual se extrae el aceite esencial.

El análisis estadístico de estos datos determina que con el tratamiento de riego correspondiente al 80% de la ETo, las tres recolecciones presentan diferencias significativas, siendo el último año de ensayo el que proporciona el peor resultado. Con el 60 y 40%, la producción de 2002 es significativamente superior a las de 2003 y 2004,

que no presentan diferencias entre sí. Pero si el riego se realiza con el agua necesaria para compensar el 20% de la ETo, los resultados de 2002 y 2004 son equivalentes, pero en el primer año de estudio se alcanza un resultado significativamente superior al de 2003. Las dos últimas recolecciones tampoco difieren entre sí con este suplemento hídrico.

Si nos centramos en estas dos últimas recolecciones, al considerar los tratamientos correspondientes al 80 y 60% de la ETo, se puede observar que en 2003 los promedios alcanzados están por encima de los obtenidos en 2004. Las diferencias son incluso significativas en el caso del 80%, confirmando que mantener un riego excesivo durante un intervalo largo de tiempo afecta negativamente a estos tomillos. Sin embargo, con el 40 y 20% de la ETo, ocurre lo contrario, por lo que tales suplementos hídricos serían los más indicados para asegurar una óptima producción de aceite esencial.

Todo esto confirma que *Th. zygis* subsp. *gracilis* no necesita suministros elevados de agua para ofrecer unos rendimientos que pueden superar a los de otras especies de tomillo, lo que convierte el cultivo de esta planta en una opción ventajosa desde el punto de vista económico, ya que a partir de estas plantas se obtienen productos con un alto valor añadido aportando una escasa cantidad de agua a la plantación.

Por lo que respecta a la densidad de plantas por hectárea, y valorando los resultados de 2002, sería posible reducir el número inicial de individuos por subparcela (140) hasta una cantidad situada entre 100 y 120, ya que estas plantas son suficientes para alcanzar una buena productividad. Teniendo esto en cuenta, la densidad poblacional para esta especie podría ser de unas 70.000 plantas/ha, inferior a la 89.400 propuestas en el ensayo, punto de considerable interés, ya que si bien la reducción no es tan importante como la planteada en el caso de *Th. hyemalis*, cualquier iniciativa que conduzca a mejorar la rentabilidad del cultivo debe ser bien recibida por los agricultores interesados en establecer este tipo de explotaciones.

III. 2. 5. PERFIL CROMATOGRÁFICO DEL ACEITE ESENCIAL.

La principal característica del aceite esencial de *Th. zygis* subsp. *gracilis*, que crece de forma espontánea en la Región de Murcia, es su riqueza en timol.

Sólo en contadas especies del género *Thymus* se alcanzan porcentajes de este fenol semejantes a los encontrados en *Th. zygis*. Por ejemplo, en algunas procedencias de *Th. vulgaris* se refieren concentraciones que superan el 60%, dato obtenido de plantas originarias de Grecia (Daferera *et al.*, 2000).

El timol, como se ha puesto de manifiesto en la Introducción de esta Memoria, ha acreditado tener importantes propiedades, con aplicaciones de interés tanto para la industria alimentaria como farmacéutica. Por ello, la presencia abundante de dicho componente sitúa al aceite esencial de esta planta entre los más valorados comercialmente, dando así respuesta a la solicitud de productos naturales por parte de los consumidores. No obstante, es necesario analizar el comportamiento frente al riesgo de todos los constituyentes de estos aceites, dados los efectos sinérgicos o antagónicos que pueden presentar entre ellos (Vardar-Ünlü *et al.*, 2003). En este sentido se puede mencionar el trabajo publicado por Youdim *et al.* (2002), del cual se desprende que la actividad antioxidante del aceite esencial extraído de *Th. zygis* supera a la de sus principales componentes considerados en solitario.

Otros compuestos volátiles que se encuentran en concentraciones importantes en esta subespecie son carvacrol, linalol, α -tujeno, mirceno, α -terpineno, (*E*)-cariofileno, y los precursores fenólicos p-cimeno y γ -terpineno

Siguiendo el mismo esquema del capítulo anterior, en primer lugar se examinarán las recolecciones de 2002 y 2003, con el fin de determinar si los diferentes suministros de agua afectan a la síntesis de los constituyentes del aceite esencial en *Th. zygis*. La recolección de 2004,

con un mayor número de muestras analizadas, se destina al estudio de la variabilidad intraespecífica.

III. 2. 5. 1. Efecto del riego sobre la composición química del aceite esencial.

Si bien los análisis efectuados han determinado un quimiotipo timol simple en todos los casos, la variabilidad intraespecífica afecta notablemente a la composición cuantitativa de los aceites de esta subespecie, con cantidades relativas para sus constituyentes que pueden oscilar de forma bastante considerable entre los distintos individuos. Ello dificulta apreciar las diferencias significativas que pueden derivarse de la aplicación de los distintos tratamientos hídricos.

Para realizar las tablas que aparecen en este apartado se analizan mediante Cromatografía de Gases y Espectrometría de Masas los aceites esenciales extraídos de las 48 plantas recolectadas (12 por tratamiento) tanto en 2002 como en 2003.

Tales análisis han dado como resultado la identificación de 101 componentes volátiles, que concentran alrededor del 98,5% del total del área asignada por el cromatógrafo, y se corresponden con 32 hidrocarburos terpénicos, 25 alcoholes, 13 aldehídos, 13 cetonas, ocho ésteres, seis fenoles, tres epóxidos y un éter.

De estos componentes, 43 se definen por primera vez en esta subespecie de *Th. zygis*:

- *Hidrocarburos terpénicos*: m-xileno, triciclono, Δ_3 -careno, calereno, germacreno, elemeno, β -selineno, valenceno.
- *Alcoholes*: butanol, 1-penten-3-ol, 2-pentanol, 3-metil-3-buten-1-ol, 3-metil-2-buten-1-ol, (*Z*)-3-hexen-1-ol, hexanol, (*Z*)-verbenol, (*E*)-verbenol, carveol.

- *Aldehídos*: (*E*)-2-butenal, 2-metil butanal, hexanal, furfural, (*E*)-2-hexenal, heptanal, benzaldehído, nonanal, decanal, perialdehído.
- *Cetonas*: 3-hexanona, 3-heptanona, β -tujona, pinocarvona, carvona, timoquinona, (*Z*)-jasmona, α -ionona, β -ionona.
- *Ésteres*: acetato de etilo, acetato de bencilo, acetato de timilo, caprilato de butilo.
- *Fenoles*: eugenol, (*E*)-isoeugenol.

Algunos de estos constituyentes han sido descritos en el aceite esencial de otras especies de tomillo (Nijssen *et al.*, 1996).

III. 2. 5. 1. 1. Primavera 2002.

En la Tabla III.2–6 están representados los resultados obtenidos en la primavera de 2002, primer año de ensayo, cuando ha transcurrido casi un año desde el inicio del riego diferenciado.

En estas condiciones, son varios los componentes para los que la prueba ANOVA detecta diferencias significativas en función del riego recibido por las plantas.

Entre los hidrocarburos terpénicos, grupo químico más numeroso de los que presenta este aceite esencial, los constituyentes que se cuantifican en mayor concentración son *p*-cimeno, γ -terpineno, mirceno, α -terpineno, α -tujeno y (*E*)-cariofileno. Dentro de este grupo, 17 componentes muestran diferencias significativas en su concentración en base al tratamiento hídrico aplicado.

En algunos casos, su síntesis parece verse favorecida por suplementos de agua abundantes. Es lo que ocurre con triciclono, α -pineno, verbeneno, β -pineno, Δ_3 -careno y *p*-cimeno, todos los cuales presentan unos porcentajes significativamente superiores cuando las plantas se riegan con el agua necesaria para compensar el 80% de la ET_o. Respecto al *p*-cimeno, Ultee *et al.* (2002) señalan la existencia de un

efecto sinérgico entre dicho precursor y el carvacrol, favoreciendo el terpeno la acción antibacteriana del fenol. Con otros constituyentes, como limoneno, α -copaeno y β -selineno, no hay diferencias entre aplicar el 80 o el 60% de la ETo, pero el resultado conseguido con el primero es significativamente mejor que el alcanzado con el 40 y 20%.

Por el contrario, el mirceno evidencia sus peores resultados con los niveles más altos de humedad, correspondientes al 80 y 60% de la ETo, significativamente inferiores a los alcanzados con el 40 y 20%.

Si observamos el resto de terpenos para los que el análisis estadístico determina diferencias entre los diferentes aportes hídricos, podemos constatar que su síntesis se puede optimizar igualmente con cantidades elevadas de agua (80 ó 60% ETo) y con suplementos más escasos (40 ó 20% ETo). De esta forma, el rendimiento que muestra (*E*)-cariofileno es equiparable entre aquellos tomillos a los que se suministra el nivel de agua correspondiente al 80, 60 y 40% de la ETo. La producción de α -muuroleno, γ -cadineno y δ -cadineno presenta un comportamiento muy semejante ante el riego, ya que en los tres casos, el resultado más bajo se obtiene con el 20% de la ETo, con porcentajes significativamente inferiores a los obtenidos con el 80%, pero no se aprecian diferencias entre regar con el 80, 60 ó 40% de la ETo. Respecto al canfeno, su porcentaje más elevado se detecta igualmente entre las plantas que han recibido el aporte hídrico equivalente al 80% de la ETo, significativamente superior al determinado con el 60 y el 40%, pero sin diferencias con el 20%. Finalmente, γ -terpineno, así como (*E*)- β -ocimeno, reducen significativamente su presencia en el aceite esencial si a las plantas se les suministra el riego más elevado, proporcionando el 60, 40 y 20% de la ETo concentraciones relativas similares. Se ha comprobado que el empleo de γ -terpineno a baja concentración disminuye sustancialmente los daños causados en el ADN por agentes mutagénicos, efecto que también se observa en el timol (Aydin et al., 2005).

Tabla III.2–6. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. zygis* subsp. *gracilis*, en función del aporte hídrico (Primavera 2002).

COMPONENTES	I. R.	% ETo			
		80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Hidrocarburos terpénicos					
Triciclono*	931	0,02 ± 0,01 ^a	0,01 ± 0,00 ^b	0,01 ± 0,00 ^b	0,01 ± 0,01 ^b
α-Tujeno*	940	1,12 ± 0,07	1,04 ± 0,11	0,95 ± 0,04	1,00 ± 0,17
α-Pineno	949	0,74 ± 0,02 ^a	0,57 ± 0,11 ^b	0,60 ± 0,04 ^b	0,57 ± 0,06 ^b
Canfeno	969	0,37 ± 0,13 ^a	0,21 ± 0,09 ^b	0,16 ± 0,04 ^b	0,25 ± 0,15 ^{ab}
Verbeneno*	976	0,01 ± 0,00 ^a	0,01 ± 0,00 ^b	tr ^b	tr ^b
Sabineno	1001	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01
β-Pineno	1007	0,18 ± 0,01 ^a	0,15 ± 0,02 ^b	0,16 ± 0,01 ^b	0,14 ± 0,02 ^b
Mirceno	1026	1,01 ± 0,10 ^a	1,11 ± 0,15 ^a	1,28 ± 0,09 ^b	1,30 ± 0,12 ^b
α-Felandreno	1042	0,10 ± 0,02	0,13 ± 0,02	0,13 ± 0,02	0,14 ± 0,03
Δ ₃ -Careno	1048	0,09 ± 0,00 ^a	0,08 ± 0,00 ^b	0,08 ± 0,00 ^b	0,08 ± 0,00 ^b
α-Terpineno	1058	1,01 ± 0,08	1,17 ± 0,19	1,18 ± 0,27	1,22 ± 0,22
p-Cimeno	1068	22,41 ± 0,42 ^a	16,82 ± 3,94 ^b	16,79 ± 2,07 ^b	14,21 ± 0,88 ^b
Limoneno	1073	0,51 ± 0,02 ^a	0,48 ± 0,03 ^{ab}	0,47 ± 0,03 ^b	0,45 ± 0,02 ^b
(Z)-β-Ocimeno	1086	tr	tr	tr	0,01 ± 0,00
(E)-β-Ocimeno*	1097	0,01 ± 0,00 ^a	0,02 ± 0,00 ^b	0,02 ± 0,00 ^b	0,02 ± 0,00 ^b
γ-Terpineno	1109	1,99 ± 0,60 ^a	3,25 ± 1,24 ^b	3,33 ± 0,76 ^b	2,99 ± 0,39 ^{ab}
Terpinoleno + (E)-Óxido de linalol	1141	0,16 ± 0,03	0,16 ± 0,03	0,14 ± 0,02	0,17 ± 0,03
α-Copaeno	1378	0,02 ± 0,00 ^a	0,01 ± 0,01 ^{ab}	0,01 ± 0,00 ^b	tr ^b
α-Gurjeneno*	1408	0,01 ± 0,01	tr	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
(E)-Cariofileno	1419	0,93 ± 0,10 ^{ab}	1,20 ± 0,35 ^a	1,19 ± 0,47 ^a	0,62 ± 0,16 ^b
Calereno	1432	0,02 ± 0,02	tr	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
Aromadendreno	1440	0,03 ± 0,03	0,03 ± 0,02	0,07 ± 0,07	0,04 ± 0,03
α-Humuleno	1457	0,07 ± 0,03	0,13 ± 0,07	0,15 ± 0,08	0,16 ± 0,12
Aloaromadendreno	1465	0,03 ± 0,02	0,04 ± 0,03	0,04 ± 0,03	0,02 ± 0,01
Germacreno*	1475	tr	tr	tr	tr
Elemeno*	1481	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
β-Selineno*	1485	0,05 ± 0,00 ^a	0,03 ± 0,02 ^{ab}	0,01 ± 0,01 ^b	0,03 ± 0,02 ^b
Valenceno	1510	0,06 ± 0,03	0,05 ± 0,03	0,07 ± 0,06	0,06 ± 0,02
α-Muuroleno*	1516	0,03 ± 0,01 ^a	0,02 ± 0,01 ^{ab}	0,02 ± 0,01 ^{ab}	0,01 ± 0,00 ^b
γ-Cadineno*	1537	0,08 ± 0,01 ^a	0,07 ± 0,03 ^a	0,06 ± 0,04 ^{ab}	0,03 ± 0,02 ^b
δ-Cadineno	1553	0,16 ± 0,05 ^a	0,14 ± 0,06 ^a	0,11 ± 0,07 ^{ab}	0,06 ± 0,02 ^b
Alcoholes					
Butanol	742	tr	tr	tr	tr
1-Penten-3-ol	747	tr	tr	tr	tr
2-Pentanol	752	tr	tr	tr	tr
3-Metil-3-buten-1-ol	766	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,00
3-Metil-2-buten-1-ol*	789	0,02 ± 0,01 ^a	0,01 ± 0,00 ^b	0,01 ± 0,01 ^b	0,01 ± 0,00 ^b
(Z)-3-Hexen-1-ol	852	0,04 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,03	0,05 ± 0,00
Hexanol + m-Xileno	867	0,04 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,02 ± 0,00	0,03 ± 0,02
1-Octen-3-ol	1009	0,47 ± 0,06 ^a	0,26 ± 0,05 ^b	0,22 ± 0,06 ^{bc}	0,19 ± 0,07 ^c
3-Octanol	1031	0,15 ± 0,08	0,11 ± 0,06	0,13 ± 0,07	0,18 ± 0,12
(E)-Hidrato de sabineno	1116	0,67 ± 0,26	0,52 ± 0,07	0,59 ± 0,10	0,49 ± 0,02
(Z)-Hidrato de sabineno*	1151	0,11 ± 0,03	0,10 ± 0,02	0,08 ± 0,04	0,09 ± 0,00
Linalol	1152	3,35 ± 0,75 ^a	2,29 ± 0,35 ^b	1,36 ± 0,10 ^c	2,48 ± 0,68 ^b

Tabla III.2-6 (continuación)

COMPONENTES	I. R.	% ETo			
		80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Alcoholes (continuación)					
(E)-Pinocarveol	1186	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,00
(Z)-Verbenol	1189	0,03 ± 0,00 ^a	0,02 ± 0,01 ^{ab}	0,02 ± 0,01 ^{bc}	0,01 ± 0,00 ^c
(E)-Verbenol*	1197	0,03 ± 0,01	0,04 ± 0,02	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,01
Isoborneol	1203	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01	tr	0,01 ± 0,00
Borneol	1211	0,74 ± 0,23	0,44 ± 0,22	0,32 ± 0,13	0,60 ± 0,41
Terpinen-4-ol	1220	0,62 ± 0,14	0,61 ± 0,04	0,63 ± 0,06	0,62 ± 0,06
p-Cimen-8-ol	1227	0,08 ± 0,05 ^a	0,02 ± 0,01 ^b	0,02 ± 0,01 ^b	0,02 ± 0,00 ^b
α-Terpineol	1231	0,14 ± 0,01	0,13 ± 0,02	0,14 ± 0,01	0,14 ± 0,01
Carveol	1252	tr	0,01 ± 0,00	tr	tr
Nerol + Citronelol	1260	0,03 ± 0,02	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,00	0,04 ± 0,02
Geraniol + Acetato de linalilo	1281	0,03 ± 0,02	0,03 ± 0,03	tr	0,01 ± 0,02
Espatuleno	1640	0,07 ± 0,08	0,06 ± 0,04	0,13 ± 0,10	0,09 ± 0,05
Aldehídos					
(E)-2-butenal*	735	tr	tr	tr	0,01 ± 0,00
2-Metil butanal	741	0,01 ± 0,00	tr	tr	tr
Hexanal	802	tr	tr	tr	tr
Furfural	832	tr	tr	tr	tr
(E)-2-Hexenal	849	tr	tr	tr	tr
Heptanal	904	tr	tr	tr	tr
Benzaldehído	987	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,00	tr	0,01 ± 0,00
Nonanal	1157	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
Decanal	1243	0,02 ± 0,00 ^a	0,01 ± 0,01 ^b	0,01 ± 0,01 ^b	0,02 ± 0,01 ^a
Cuminaldehído	1268	tr	tr	tr	tr
Neral + Carvona	1270	0,01 ± 0,00 ^a	0,01 ± 0,00 ^a	tr ^b	tr ^b
Geranial + Perialdehído	1292	0,43 ± 0,02	0,53 ± 0,16	0,43 ± 0,18	0,33 ± 0,12
Cetonas					
3-Hexanona	795	0,01 ± 0,01 ^a	tr ^b	tr ^b	0,01 ± 0,00 ^{ab}
3-Heptanona*	888	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01	tr	0,01 ± 0,00
3-Octanona	1019	0,37 ± 0,16 ^a	0,18 ± 0,10 ^b	0,16 ± 0,03 ^b	0,13 ± 0,05 ^b
β-Tujona	1158	0,02 ± 0,01 ^a	tr ^b	tr ^b	tr ^b
Alcanfor	1193	0,01 ± 0,01	tr	tr	0,01 ± 0,00
Pinocarvona*	1208	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,00	tr
Dihidrocarvona	1235	0,06 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,05 ± 0,02	0,06 ± 0,01
Verbenona	1245	0,02 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
Timoquinona	1276	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,02	0,01 ± 0,00
(Z)-Jasmona	1399	0,02 ± 0,02	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,02
α-Ionona	1428	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,00
β-Ionona	1497	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01
Ésteres					
Acetato de etilo	732	0,01 ± 0,01 ^a	tr ^b	tr ^b	tr ^b
Acetato de bencilo	1214	0,05 ± 0,01	0,04 ± 0,02	0,05 ± 0,01	0,03 ± 0,01
Acetato de bornilo	1302	0,18 ± 0,04 ^a	0,10 ± 0,05 ^b	0,10 ± 0,02 ^b	0,10 ± 0,03 ^b
Acetato de terpenilo	1353	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	tr	0,01 ± 0,00
Acetato de timilo*	1356	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01	tr	0,01 ± 0,01

Tabla III.2–6 (continuación)

COMPONENTES	I. R.	% ETo			
		80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Ésteres (continuación)					
Acetato de geranilo	1385	0,01 ± 0,00 ^a	tr ^b	tr ^b	tr ^b
Caprilato de butilo	1388	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01
Fenoles					
Éter metílico de timol	1265	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01
Éter metílico de carvacrol	1272	0,06 ± 0,03	0,88 ± 1,19	0,08 ± 0,05	0,51 ± 0,65
Timol	1308	54,69 ± 1,37 ^a	60,53 ± 6,35 ^b	61,63 ± 3,33 ^b	64,16 ± 0,67 ^b
Carvacrol	1314	3,43 ± 0,09	2,86 ± 1,00	3,60 ± 0,09	3,33 ± 0,55
Eugenol	1358	0,03 ± 0,03 ^a	0,10 ± 0,01 ^b	0,11 ± 0,04 ^b	0,08 ± 0,04 ^b
(<i>E</i>)-Isoeugenol	1453	0,02 ± 0,02	0,08 ± 0,07	0,06 ± 0,02	0,04 ± 0,03
Epóxidos					
(<i>Z</i>)-Óxido de linalol	1123	0,03 ± 0,01 ^a	0,03 ± 0,00 ^{ab}	0,02 ± 0,00 ^c	0,02 ± 0,01 ^{bc}
Óxido de cariofileno	1650	0,30 ± 0,04 ^a	0,33 ± 0,07 ^a	0,34 ± 0,06 ^a	0,19 ± 0,04 ^b
Éter					
1,8-Cineol	1076	0,03 ± 0,00	0,03 ± 0,00	0,03 ± 0,00	0,03 ± 0,00

^{a,b,c} Valores con distinto superíndice en la misma línea presentan diferencias estadísticamente significativas, de acuerdo con el test de la Menor Diferencia Significativa de Fisher ($P < 0,05$).

± Desviación estándar.

* Identificación tentativa.

I. R. Índices de Kovats (HP-5).

tr = trazas (< 0,01%).

Los alcoholes más abundantes en *Th. zygis* subsp. *gracilis* son linalol, borneol, terpinen-4-ol, (*E*)-hidrato de sabineno y 1-octen-3-ol. Cinco de estos componentes, que se caracterizan por su habilidad para conferir un aroma fresco al aceite esencial, ven afectada su síntesis por los diferentes suplementos hídricos. En todos los casos el tratamiento más adecuado es el correspondiente al 80% de la ETo.

3-metil-2-buten-1-ol y p-cimen-8-ol presentan con dicho tratamiento un porcentaje significativamente superior al alcanzado con el resto, que no muestran diferencias entre sí. Lo mismo ocurre con linalol y 1-octen-3-ol, pero en ambos componentes también se detectan diferencias con significación estadística entre los otros tres niveles de riego. En el caso del linalol, componente con una efectividad demostrada frente a diferentes microorganismos, como bacterias del género *Leishmania* (Rosa *et al.*, 2003), *Citrobacter freundii*, *Clostridium sporogenes* o *Lactobacillus*

plantarum (Dorman y Deans, 2000), la tendencia observada en cuanto a la respuesta ante el riego está bastante condicionada por la variabilidad química presente en el género *Thymus*, la cual se manifiesta especialmente en determinados constituyentes de los aceites de esta subespecie. Por último, la producción de (*Z*)-verbenol mejora igualmente si a las plantas se les proporciona el agua necesaria para compensar el 80% de la ETo, aunque en este caso no hay diferencias entre este tratamiento y el equivalente al 60%.

Con respecto a los aldehídos, los más abundantes en esta subespecie son geranial y perialdehído, que se integran juntos dada la proximidad de sus tiempos de retención en las condiciones cromatográficas empleadas en este ensayo, por lo que la cantidad relativa que se presenta corresponde a la suma de los porcentajes de ambos. El resto de los componentes de este grupo químico son poco abundantes, y sólo se detectan diferencias en función del riego en dos casos. El decanal alcanza sus concentraciones más bajas con los tratamientos hídricos intermedios, significativamente inferiores a las obtenidas con el 80 y 20%. El neral, que eluye con la carvona, mejora de forma significativa su porcentaje con el 80 y 60%.

En cuanto a las cetonas, 3-octanona y dihidrocarvona son las más representadas en esta planta, afectando el nivel de riego a cuatro de estos compuestos: 3-hexanona, 3-octanona, β -tujona y carvona, mencionada anteriormente junto al neral. La síntesis de 3-octanona y β -tujona muestra una respuesta similar frente a los distintos suplementos hídricos, mejorando significativamente con el correspondiente al 80% de la ETo. De hecho, la β -tujona se detecta únicamente en trazas cuando se aplican los otros tres tratamientos. La presencia 3-hexanona, sin embargo, si bien también aumenta de forma significativa con el 80%, no muestra diferencias entre dicho aporte de agua y el necesario para compensar el 20% de la ETo.

El éster más representativo de esta labiada es el acetato de bornilo, cuya proporción relativa varía entre tratamientos, junto a las de otros dos ésteres menos abundantes. Tanto acetato de bornilo como los acetatos de etilo y geranilo incrementan significativamente su presencia en el aceite esencial con el aporte de agua equivalente al 80% de la ETo, apareciendo el segundo y tercero en trazas con el resto de tratamientos.

Los fenoles, entre los que se incluye el timol, componente mayoritario y que define la calidad de este aceite esencial, revelan una respuesta condicionada por el riego en dos casos. La concentración del timol oscila entre $64,16 \pm 0,67\%$ y $54,69 \pm 1,37\%$, valores alcanzados con el 20 y 80% de la ETo respectivamente. El nivel de riego más favorable para este fenol en la primavera de 2002 es, por lo tanto, el equivalente al 20% de la ETo, aunque no hay diferencias significativas entre dicho tratamiento y los correspondientes al 60 y 40%. El porcentaje obtenido con el 80% es significativamente inferior al resto.

Esto coincide con lo publicado por Piccaglia y Marotti (1993), cuyos resultados con *Satureja montana* y *Thymus vulgaris* muestran oscilaciones en la composición cuantitativa de sus aceites esenciales en función de las condiciones climáticas, con una elevación de la síntesis de compuestos fenólicos en ambientes cálidos y secos. También es oportuno recordar aquí que en *Th. hyemalis*, otra especie incluida en nuestro estudio, las condiciones ambientales no afectan en el sentido mencionado por dichos autores.

Algo parecido a lo descrito con el timol ocurre con el eugenol, componente cuya cantidad relativa desciende significativamente con el 80%, resultando el 60, 40 y 20% de la ETo igualmente adecuados.

El carvacrol, otro compuesto fenólico que comparte probadas cualidades con el timol, no ve afectada su síntesis por los diferentes aportes de agua, aunque el mejor promedio se logra con el 40% de la ETo.

Timol, eugenol y carvacrol, así como el hidrocarburo terpénico limoneno, tienen la propiedad de alterar la estructura de las membranas

bacterianas (Di Pasqua *et al.*, 2006), por lo que la presencia de concentraciones elevadas de dichos compuestos puede acentuar la actividad antimicrobiana de estos aceites. Un nivel de riego equivalente al 40% de la ETo es adecuado para alcanzar un óptimo porcentaje de estos cuatro constituyentes.

Es pertinente mencionar también que el timol y su precursor p-cimeno varían sus concentraciones de forma inversa, ya que el máximo contenido en p-cimeno, que se presenta con el 80% de la ETo, coincide con el mínimo de timol.

Las diferencias entre niveles de riego aparecen en dos de los tres epóxidos identificados en estos aceites. El más abundante es el óxido de cariofileno, cuyo porcentaje desciende significativamente con el 20% de la ETo, no detectándose diferencias entre el resto de tratamientos. Para la síntesis de (*Z*)-óxido de linalol, los aportes hídricos más favorables son los equivalentes al 80 y 60% de la ETo, obteniéndose con el primero un resultado significativamente superior a los alcanzados con el 20 y 40%.

Por último, el 1,8-cineol, único éter identificado en estos aceites, no ve afectada su presencia en los mismos en base a los diferentes suplementos de agua. Este componente se presenta como mayoritario en otras especies de tomillo, como *Th. albicans* o *Th. mastichina*, cuyos aceites esenciales se muestran efectivos frente a diferentes bacterias de los géneros *Salmonella*, *Staphylococcus* o *Listeria* (Faleiro *et al.*, 1999).

De acuerdo con estos resultados, es posible concluir que en este primer año de ensayo, si bien el perfil volátil del aceite esencial de *Th. zygis* subsp. *gracilis* se ve afectado al aplicar diferentes cantidades de agua a las plantas, la síntesis de la mayor parte de los componentes no se ve influida por este hecho, ya que de un total de 101 constituyentes identificados en estos aceites, son 35 los que muestran diferencias significativas en sus porcentajes en función del riego. Entre ellos, encontramos casos en los que los mejores resultados se consiguen con

suplementos hídricos abundantes. Pero también hay otros componentes, entre los que se encuentra como referente más importante el timol, cuya producción por parte de estos tomillos se ve igualmente favorecida con los tratamientos de riego correspondientes al 40 ó 20% de la ETo. Por ello, aportes de agua escasos, que no superen el 40% de la ETo, permiten garantizar una buena calidad en el aceite esencial de esta subespecie.

En este punto es conveniente hacer un inciso para señalar que un contenido en timol muy elevado en estos aceites no conduce necesariamente a mejorar las propiedades de dichas sustancias. El trabajo realizado por Rota *et al.* (2008), en el que se analiza el efecto de los aceites esenciales procedentes de diferentes tomillos sobre las principales bacterias contaminantes de alimentos, ilustra bastante bien esta cuestión. En dicho estudio se pone de manifiesto que los aceites con quimiotipo fenólico son los más efectivos frente a estos patógenos, pero también se comprueba que las cualidades antibacterianas más destacadas corresponden a aquellos aceites con mayor riqueza y variedad de compuestos volátiles, incluyendo precursores y metabolitos finales. Así, queda demostrado que el aceite extraído de *Th. hyemalis*, con una menor concentración relativa de timol, pero más rico en otros componentes como γ -terpineno, linalol, (*Z*)-verbenol, terpinen-4-ol, α -terpineol, espatulenol, alcanfor, verbenona o éter metílico de timol, se muestra más activo que el de *Th. zygis* frente a la mayor parte de los microorganismos ensayados, lo que sugiere la existencia de una acción sinérgica entre los compuestos fenólicos y otros constituyentes de estas sustancias.

III. 2. 5. 1. 2. Primavera 2003.

Los resultados cromatográficos obtenidos el segundo año de ensayo aparecen en la Tabla III.2-7. En esta recolección, tras los

correspondientes análisis estadísticos, se han apreciado diferencias significativas entre tratamientos sólo en 4 componentes (α -tujeno, calereno, 1-penten-3-ol y pinocarvona). Ninguno de ellos coincide con los constituyentes cuya síntesis se muestra afectada por el riego en 2002, algo que se puede explicar, como ya se menciona en el capítulo dedicado a *Th. hyemalis*, por las diferencias climatológicas de los dos años, a lo que se suma la variabilidad química presente en este género.

Pero lo verdaderamente interesante es el descenso drástico, respecto al año anterior, en el número de componentes para los que la prueba ANOVA detecta diferencias en su respuesta frente a los cuatro niveles de riego (de 35 a 4). Esto viene a confirmar que, con el transcurso del tiempo, los tomillos se readaptan a sus condiciones de crecimiento, y se mitiga el efecto que los distintos aportes hídricos pueden tener sobre el perfil volátil de estos aceites, estabilizándose la síntesis de componentes en los niveles genéticamente determinados.

Con relación a los hidrocarburos terpénicos, sólo α -tujeno y calereno presentan diferencias en sus concentraciones relativas en base al nivel de agua que reciben las plantas. El primero incrementa de forma significativa su presencia en el aceite esencial si a las plantas se les suministra el agua necesaria para compensar el 40 ó el 60% de la ETo, comprobándose que el aporte hídrico más escaso es el menos favorable. Respecto al calereno, poco abundante en esta labiada, el resultado obtenido con el tratamiento correspondiente al 80% de la ETo, con el que este componente sólo se detecta en trazas, es significativamente inferior al resto.

No se determinan más diferencias con significación estadística dentro de este grupo químico en 2003. No obstante, algunos hidrocarburos terpénicos que en 2002 sí muestran tales diferencias, adoptan una tendencia similar frente al riego en 2003, obteniéndose promedios superiores con los niveles de agua más elevados.

Tabla III.2-7. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. zygis* subsp. *gracilis*, en función del aporte hídrico (Primavera 2003).

COMPONENTES	I. R.	% ETo			
		80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Hidrocarburos terpénicos					
Triciclono*	931	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01
α-Tujeno*	940	0,81 ± 0,12 ^{ab}	0,96 ± 0,09 ^a	0,98 ± 0,13 ^a	0,73 ± 0,08 ^b
α-Pineno	949	0,51 ± 0,07	0,63 ± 0,11	0,61 ± 0,03	0,51 ± 0,10
Canfeno	969	0,22 ± 0,09	0,33 ± 0,06	0,23 ± 0,15	0,27 ± 0,13
Verbeneno*	976	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	tr	0,01 ± 0,00
Sabineno	1001	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,00
β-Pineno	1007	0,14 ± 0,02	0,14 ± 0,02	0,15 ± 0,00	0,13 ± 0,01
Mirceno	1026	1,43 ± 0,24	1,56 ± 0,11	1,50 ± 0,13	1,45 ± 0,24
α-Felandreno	1042	0,16 ± 0,02	0,17 ± 0,03	0,16 ± 0,01	0,15 ± 0,02
Δ ₃ -Careno	1048	0,08 ± 0,01	0,08 ± 0,00	0,08 ± 0,01	0,07 ± 0,01
α-Terpineno	1058	1,19 ± 0,18	1,37 ± 0,30	1,17 ± 0,24	1,14 ± 0,20
p-Cimeno	1068	15,71 ± 0,84	16,61 ± 1,79	15,51 ± 2,96	16,04 ± 2,69
Limoneno	1073	0,47 ± 0,02	0,51 ± 0,03	0,47 ± 0,04	0,47 ± 0,04
(Z)-β-Ocimeno	1086	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
(E)-β-Ocimeno*	1097	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,04 ± 0,01
γ-Terpineno	1109	6,41 ± 2,42	7,09 ± 2,72	5,60 ± 1,98	6,11 ± 2,24
Terpinoleno + (E)-Óxido de linalol	1141	0,19 ± 0,04	0,17 ± 0,03	0,17 ± 0,03	0,18 ± 0,03
α-Copaeno	1378	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01
α-Gurjeneno*	1408	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
(E)-Cariofileno	1419	0,78 ± 0,18	0,84 ± 0,30	0,87 ± 0,14	0,81 ± 0,34
Calereno	1432	tr ^a	0,01 ± 0,01 ^b	0,01 ± 0,01 ^b	0,01 ± 0,00 ^b
Aromadendreno	1440	0,07 ± 0,00	0,04 ± 0,01	0,06 ± 0,04	0,08 ± 0,06
α-Humuleno	1457	0,12 ± 0,03	0,07 ± 0,04	0,11 ± 0,06	0,16 ± 0,06
Aloaromadendreno	1465	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,00	0,03 ± 0,01	0,04 ± 0,02
Germacreno*	1475	tr	0,01 ± 0,00	tr	0,01 ± 0,01
Elemeno*	1481	tr	tr	tr	0,01 ± 0,00
β-Selineno*	1485	0,05 ± 0,05	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,02 ± 0,01
Valenceno	1510	0,04 ± 0,04	0,03 ± 0,02	0,05 ± 0,03	0,06 ± 0,04
α-Muuroleno*	1516	0,02 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,02 ± 0,01
γ-Cadineno*	1537	0,06 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,06 ± 0,03
δ-Cadineno	1553	0,09 ± 0,02	0,08 ± 0,02	0,06 ± 0,02	0,10 ± 0,04
Alcoholes					
Butanol	742	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	tr
1-Penten-3-ol	747	0,01 ± 0,00 ^a	0,01 ± 0,00 ^a	tr ^b	tr ^b
2-Pentanol	752	tr	tr	tr	tr
3-Metil-3-buten-1-ol	766	tr	0,01 ± 0,00	tr	tr
3-Metil-2-buten-1-ol*	789	0,01 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01
(Z)-3-Hexen-1-ol	852	0,02 ± 0,00	0,03 ± 0,01	0,02 ± 0,02	0,02 ± 0,01
Hexanol + m-Xileno	867	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,02	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01
1-Octen-3-ol	1009	0,26 ± 0,02	0,29 ± 0,09	0,33 ± 0,09	0,29 ± 0,11
3-Octanol	1031	0,07 ± 0,02	0,19 ± 0,14	0,15 ± 0,06	0,09 ± 0,04
(E)-Hidrato de sabineno	1116	0,60 ± 0,03	0,62 ± 0,15	0,57 ± 0,17	0,58 ± 0,11
(Z)-Hidrato de sabineno*	1151	0,07 ± 0,00	0,07 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,08 ± 0,01
Linalol	1152	2,96 ± 0,68	2,42 ± 1,00	2,53 ± 1,38	2,26 ± 0,72

Tabla III.2-7 (continuación)

COMPONENTES	I. R.	% ETo			
		80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Alcoholes (continuación)					
(<i>E</i>)-Pinocarveol	1186	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01
(<i>Z</i>)-Verbenol	1189	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,00	0,02 ± 0,03
(<i>E</i>)-Verbenol*	1197	0,04 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,06 ± 0,05
Isoborneol	1203	tr	tr	tr	0,01 ± 0,00
Borneol	1211	0,50 ± 0,32	0,76 ± 0,17	0,53 ± 0,43	0,72 ± 0,38
Terpinen-4-ol	1220	0,51 ± 0,03	0,50 ± 0,08	0,54 ± 0,13	0,48 ± 0,09
p-Cimen-8-ol	1227	0,10 ± 0,02	0,09 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,08 ± 0,02
α-Terpineol	1231	0,13 ± 0,00	0,13 ± 0,01	0,13 ± 0,01	0,13 ± 0,03
Carveol	1252	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,00	0,03 ± 0,03
Nerol + Citronelol	1260	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,00	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01
Geraniol + Acetato de linalilo	1281	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,02	0,02 ± 0,01	0,06 ± 0,04
Espatulenol	1640	0,08 ± 0,07	0,08 ± 0,06	0,13 ± 0,06	0,14 ± 0,07
Aldehídos					
(<i>E</i>)-2-butenal*	735	tr	tr	tr	tr
2-Metil butanal	741	tr	tr	tr	tr
Hexanal + Butirato de etilo	802	tr	tr	tr	tr
Furfural	832	tr	tr	tr	tr
(<i>E</i>)-2-Hexenal	849	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,00
Heptanal	904	tr	tr	tr	tr
Benzaldehído	987	tr	tr	tr	tr
Nonanal	1157	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01
Decanal	1243	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,01
Cuminaldehído	1268	tr	0,01 ± 0,00	tr	0,01 ± 0,00
Neral + Carvona	1270	tr	0,01 ± 0,00	tr	0,01 ± 0,00
Geranial + Perialdehído	1292	0,13 ± 0,08	0,14 ± 0,07	0,11 ± 0,08	0,08 ± 0,05
Cetonas					
3-Hexanona	795	tr	tr	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,00
3-Heptanona*	888	tr	tr	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,00
3-Octanona	1019	0,15 ± 0,06	0,15 ± 0,05	0,16 ± 0,05	0,18 ± 0,04
β-Tujona	1158	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01	0,02 ± 0,01
Alcanfor	1193	0,01 ± 0,00	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,00	0,02 ± 0,02
Pinocarvona*	1208	0,01 ± 0,00 ^a	tr ^a	tr ^a	0,02 ± 0,01 ^b
Dihidrocarvona	1235	0,06 ± 0,01	0,04 ± 0,02	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,01
Verbenona	1245	0,02 ± 0,00	0,01 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,01
Timoquinona	1276	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,02	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,01
(<i>Z</i>)-Jasmona	1399	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01
α-Ionona	1428	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01
β-Ionona	1497	0,02 ± 0,02	0,02 ± 0,00	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01
Ésteres					
Acetato de etilo	732	tr	tr	tr	tr
Acetato de bencilo	1214	0,06 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,05 ± 0,02	0,07 ± 0,02
Acetato de bornilo	1302	0,13 ± 0,03	0,13 ± 0,01	0,14 ± 0,06	0,17 ± 0,08
Acetato de terpenilo	1353	0,01 ± 0,01	0,02 ± 0,02	0,03 ± 0,02	0,01 ± 0,00
Acetato de timilo*	1356	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01	0,02 ± 0,01

Tabla III.2-7 (continuación)

COMPONENTES	I. R.	% ETo			
		80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Ésteres (continuación)					
Acetato de geranilo	1385	tr	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
Caprilato de butilo	1388	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,00
Fenoles					
Éter metílico de timol	1265	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,03 ± 0,04
Éter metílico de carvacrol	1272	0,41 ± 0,29	0,79 ± 1,08	0,94 ± 1,09	0,50 ± 0,53
Timol	1308	59,29 ± 3,09	57,47 ± 2,89	60,36 ± 5,01	59,38 ± 5,66
Carvacrol	1314	3,42 ± 0,61	2,86 ± 0,81	2,84 ± 0,71	3,17 ± 0,35
Eugenol	1358	0,04 ± 0,02	0,05 ± 0,02	0,05 ± 0,06	0,03 ± 0,02
(E)-Isoeugenol	1453	0,06 ± 0,04	0,04 ± 0,01	0,09 ± 0,03	0,08 ± 0,03
Epóxidos					
(Z)-Óxido de linalol	1123	0,04 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,02
Óxido de cariofileno	1650	0,39 ± 0,08	0,38 ± 0,20	0,30 ± 0,03	0,37 ± 0,15
Éter					
1,8-Cineol	1076	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,03 ± 0,00

^{a,b} Valores con distinto superíndice en la misma línea presentan diferencias estadísticamente significativas, de acuerdo con el test de la Menor Diferencia Significativa de Fisher ($P < 0,05$).

± Desviación estándar.

* Identificación tentativa.

I. R. Índices de Kovats (HP-5).

tr = trazas (< 0,01%).

Es el caso de α -pineno, canfeno, p-cimeno y limoneno, aunque en el segundo año de ensayo el 60% de la ETo es el tratamiento que proporciona los mejores resultados medios, en tanto que en el primer año se requiere alcanzar el 80%. Otros, como (E)- β -ocimeno y γ -terpineno coinciden en mostrar buenos porcentajes con el 60% en ambas recolecciones, apreciándose además que los valores alcanzados en 2003 por el γ -terpineno superan a los de 2002. La razón puede encontrarse en las condiciones ambientales a las que estuvieron expuestas las plantas en ese segundo año de estudio, ya que las altas temperaturas que afectaron a la parcela en el momento de la floración de esta labiada pudieron acelerar el desarrollo normal de su ciclo fenológico, alcanzándose la etapa de fructificación en un corto espacio de tiempo. Esto explicaría los elevados niveles de γ -terpineno, precursor inmediato de p-cimeno, cuya síntesis se estaría incrementando para preparar un nuevo ciclo.

Por su parte, el β -pineno aumenta, aunque muy ligeramente, su concentración media en 2003 con el 40% ETo, frente a la cantidad significativamente superior lograda con el 80% en 2002. Componentes como α -muuroleno, γ -cadineno y δ -cadineno reducen en el segundo año de ensayo su presencia en el aceite esencial respecto a 2002 con los tratamientos que implican un mayor suplemento de agua, en tanto que el mirceno experimenta el efecto contrario; y (*E*)-cariofileno presenta en 2003 promedios más bajos que en 2002 con todos los suplementos hídricos, excepto con el 20%. Los resultados de Δ_3 -careno en 2003 son similares a los de 2002, pero la mayor desviación estándar observada explica la ausencia de diferencias significativas en el segundo año de estudio. Verbeneno y α -copaeno, que en 2002 se detectan en trazas cuando se aplica el riego más escaso, elevan su concentración en 2003 con dicho tratamiento. El triciclono presenta en 2003 los mismos promedios con todos los niveles de agua, mientras el β -selineno iguala el porcentaje medio obtenido con el 80% de la ETo en ambas recolecciones, aunque en 2003 se incrementa la desviación estándar.

Entre los alcoholes, un único componente, el 1-penten-3-ol, muestra una respuesta condicionada por el riego en 2003. Este alcohol, de bajo peso molecular y escasa presencia en estos aceites, eleva su concentración respecto al primer año de ensayo (en el que no se ve afectado por el nivel de agua aplicado) con el 80 y 60% de la ETo, de forma que en 2003 el porcentaje alcanzado con ambos aportes hídricos es significativamente superior al obtenido con el 40 y 20%.

Analizando lo que ocurre con los componentes de este grupo químico para los que en 2002 se detectan diferencias significativas, se puede observar que los promedios de 3-metil-2-buten-1-ol de 2003 se asemejan a los del año anterior, aunque en 2003 el grado de riego no afecta de forma significativa a la concentración de este alcohol. (*Z*)-verbenol y 1-octen-3-ol consiguen en 2003 los porcentajes medios más altos con los suplementos hídricos más bajos, en tanto que en 2002 los mejores resultados se obtienen con el 80% de la ETo. La síntesis de

linalol, que en 2002 se muestra bastante influenciada por el tratamiento hídrico aplicado, no ve alterada en 2003 por este hecho, presentando unos valores medios más homogéneos, aunque con una mayor desviación estándar. Por último, p-cimen-8-ol incrementa notablemente su presencia en el aceite esencial de estos tomillos en 2003 con el 60, 40 y 20% de la ETo, siendo este incremento menos acentuado en el caso del 80%, tratamiento con el que en 2002 se logra un porcentaje significativamente superior al resto.

En ningún aldehído se aprecian diferencias con significación estadística en base al riego aplicado en 2003, aunque decanal y neral sí mostraban tales diferencias en 2002. El decanal alcanza el segundo año de ensayo los mismos promedios con todos los suplementos de agua ensayados; y el neral eleva su concentración respecto a 2002 con el 20% de la ETo, produciendo el aporte hídrico más elevado el efecto contrario.

Entre las cetonas, la pinocarvona presenta en 2003 una proporción relativa significativamente superior si a las plantas se les suministra el riego más escaso, no detectándose diferencias entre los otros tres tratamientos. Respecto a las cuatro cetonas señaladas en 2002, con la 3-octanona se mitigan las diferencias entre los cuatro niveles de riego en la recolección de 2003, reduciéndose considerablemente el porcentaje obtenido con el 80% de la ETo respecto al año anterior. La 3-hexanona también ve disminuida su concentración con el 80% en 2003, pero ésta aumenta con el 40%. Por su parte, la β -tujona incrementa su cantidad relativa en el segundo año de ensayo con el 60, 40 y 20% de la ETo, tratamientos con los que en 2002 sólo se podía detectar en trazas. El comportamiento de la carvona ya se ha comentado al hablar del neral, junto al que se integra. También es interesante mencionar que el alcanfor, cetona bastante común en la naturaleza, no es muy abundante en *Th. zygis* subsp. *gracilis*. Su contenido en el aceite esencial, que no parece verse condicionado por los diferentes aportes hídricos, oscila entre trazas y 0,04%, aumentando ligeramente en 2003 respecto a 2002.

Ninguno de los ésteres identificados en esta labiada manifiesta una concentración sensible al riego en 2003. En cuanto a los tres componentes de este grupo que presentan diferencias en 2002, cabe señalar que el acetato de etilo se detecta en trazas en 2003 con todos los suplementos hídricos, reduciéndose la concentración obtenida con el 80% de la ETo respecto a 2002. Con el acetato de geranilo los resultados mejoran en 2003 con el 60, 40 y 20% de la ETo. El éster más abundante identificado en estos aceites, el acetato de bornilo, incrementa sus promedios en el segundo año de estudio con todos los tratamientos, excepto el correspondiente al 80% de la ETo. Destaca el aumento logrado con el aporte de agua más escaso.

Es importante subrayar que el contenido en timol de las plantas en 2003 no se muestra condicionado por el riego, alcanzándose porcentajes bastante equilibrados con los cuatro tratamientos hídricos, lo que conduce a la desaparición de las diferencias significativas determinadas en 2002. Lo mismo ocurre con el eugenol. Como se ha apuntado anteriormente, la adaptación de estas plantas a sus condiciones de crecimiento puede ser la explicación más plausible a este comportamiento, ya que se puede observar este mismo fenómeno en *Th. hyemalis*. Por lo que respecta al carvacrol, su valor medio más alto se alcanza con el 80 % de la ETo en 2003, sin que se detecten tampoco diferencias entre tratamientos.

La ausencia de diferencias significativas en 2003 se evidencia también entre los epóxidos. En general, tanto (*Z*)-óxido de linalol como óxido de cariofileno experimentan un incremento de su presencia en el aceite esencial en 2003, que en el caso del segundo es especialmente apreciable con el 20% de la ETo.

Considerando todo lo expuesto, es acertada la suposición de que estas plantas no precisan cantidades de agua elevadas para proporcionar un aceite esencial de calidad, siendo además muy relevante que no se

aprecien variaciones en el contenido fenólico en función del suplemento hídrico en este segundo año de ensayo.

III. 2. 5. 2. Estudio de la variabilidad intraespecífica.

Este apartado se va a dividir en dos secciones, ya que si bien la principal finalidad del mismo es el análisis de la variabilidad química presente en el aceite esencial de esta subespecie, también se ha estimado oportuno observar la respuesta de estas plantas frente al riego diferenciado tras una nueva cosecha, por lo que respecta a la síntesis de sus constituyentes volátiles.

Con el fin de disponer de más material para examinar las variaciones cuantitativas observadas entre los componentes de estos aceites, en la primavera de 2004 se aumenta el número de individuos recolectados hasta 96 (24 plantas por tratamiento).

El quimiotipo timol simple parece ser el más común en *Th. zygis* subsp. *gracilis*, considerando que este componente es el más abundante en las 96 plantas analizadas en el presente ensayo agronómico, obtenidas de semillas procedentes de tomillares naturales de Puerto Lumbreras (Murcia). El contenido en timol, tal como se ha dicho anteriormente, sobrepasa en la mayoría de las ocasiones el 55%, habiéndose encontrado tomillos con una proporción de este fenol que alcanza hasta el 65%.

Trabajos previos sobre *Th. zygis* subsp. *gracilis*, generalmente basados en el estudio de plantas silvestres, aportan información sobre el perfil volátil de esta labiada.

Cabo *et al.* (1991) analizan dos de estos tomillos, presentando uno de ellos el timol como constituyente mayoritario (35,9%), en tanto que para la otra muestra se determina un quimiotipo carvacrol (22,2%).

Por su parte, Velasco Negueruela y Pérez Alonso (1984) obtienen para dos muestras de esta subespecie procedentes de Granada unos resultados que varían entre 61,1 y 11,7% para el timol, y 3,1 y 20,6% para el carvacrol. Otros componentes importantes son linalol (3,0–4,8%) y borneol (0,6–7,5%), además de p-cimeno (18,0–22,4%) y γ -terpineno (3,4–13,0%).

Morales (1986) estudia el aceite esencial de tres individuos de la subespecie *gracilis*, determinando en dos de ellos, procedentes de Granada y de Madrid, un quimiotipo timol (37,2 y 61,1% respectivamente), en tanto que la tercera muestra, recolectada también en Granada, presenta al carvacrol como componente más abundante (20,6%). Terpinen-4-ol (0,3–11,3%) y borneol (0,6–7,5%) también se presentan como componentes destacados.

Sánchez Gómez *et al.* (1995), en plantas espontáneas procedentes de la Sierra de Filabres (Almería), encuentran un quimiotipo linalol, con una concentración relativa del 33% para este alcohol, mostrando además estos aceites porcentajes elevados de terpinen-4-ol (7,9%) y (*E*)-hidrato de sabineno (5,6%).

Sáez (1995a), en su trabajo sobre poblaciones de *Th. zygis* ubicadas en el Sudeste Ibérico determina, para esta especie, la existencia de tres grupos principales en base a la composición química de su aceite esencial: un primer grupo con quimiotipo timol y cantidades variables de los precursores p-cimeno y γ -terpineno; otro conjunto estaría formado por individuos cuyo aceite muestra una mezcla de compuestos fenólicos y no fenólicos; y en el tercer grupo se incluyen aquellas plantas con linalol como componente mayoritario. Este autor subraya la facilidad de *Th. zygis* para hibridar con otras especies de tomillo cuando sus períodos de floración coinciden, pudiendo presentarse interacciones con *Th. mastichina* o *Th. vulgaris*. El quimiotipo timol es el más abundante en el área estudiada, en tanto que el quimiotipo linalol se encuentra localizado

en una zona muy limitada (sierra de Filabres). Los quimiotipos mixtos aparecen en aquellos lugares en los que coexisten dos especies de tomillo.

Sotomayor (1998), en su ensayo agronómico, determina en *Th. zygis* subsp. *gracilis* la presencia del quimiotipo timol simple, así como el mixto linalol/(*E*)-hidrato de sabineno, oscilando las concentraciones relativas de los componentes en función del estado fenológico de las plantas.

A continuación se exponen los resultados relativos al perfil volátil del aceite esencial obtenido en la última recolección que incluye esta Memoria.

A) Estudio de la influencia del riego en la recolección de 2004.

En la Tabla III.2–8 se presentan, en función del riego, los resultados de los análisis cromatográficos realizados a las plantas recolectadas en la primavera de 2004. Los datos que aparecen en dicha tabla, que complementa a las correspondientes a 2002 y 2003, son de gran interés considerando la importancia otorgada a la composición del aceite esencial de estos tomillos. En su elaboración se han incluido sólo los componentes que por su concentración relativa resultan ser los más relevantes para establecer la calidad de estos aceites, teniendo en cuenta que si bien todos los constituyentes son importantes, aquellos para los que el cromatógrafo determina un porcentaje igual o superior al 0,1%, comprendidos en la tabla, suponen el 97,4% del total.

De los 34 componentes estudiados, la prueba ANOVA determina la presencia de diferencias significativas en función del riego únicamente en uno de ellos, el p-cimen-8-ol. Las proporciones que alcanzan el resto de constituyentes son equiparables con todos los aportes hídricos en este tercer año de estudio.

Entre los hidrocarburos terpénicos más abundantes en esta cosecha destacan p-cimeno, γ -terpineno, mirceno y α -terpineno. Es en este grupo químico en el que se aprecia el mayor número de componentes que muestran diferencias significativas en su concentración en función del riego en 2002, 17 en total, los cuales quedan reducidos a dos en 2003. En este último año de ensayo no se aprecian tales diferencias en ningún caso. Si bien algunos de los componentes cuya síntesis se ve afectada por el riego en 2002 y 2003 no se incluyen en la tabla del presente apartado, el hecho de que entre las concentraciones relativas de los que sí aparecen no se detecten diferencias en base al suministro de agua, corrobora la tendencia hacia el equilibrio entre tratamientos que ya se evidencia en 2003.

Determinados terpenos, como limoneno y terpinoleno, experimentan un ligero aumento en sus promedios en 2004 respecto a los dos años anteriores; otros, como (*E*)-cariofileno, siguen una evolución contraria. Pero las concentraciones de la mayor parte de estos constituyentes oscilan entre los tres años, de forma más o menos relevante, y sin que se pueda apreciar una relación clara entre estas variaciones y el tratamiento hídrico aplicado.

Sólo un alcohol, el p-cimen-8-ol, revela una respuesta sensible al riego en 2004. Los suplementos hídricos que implican un menor aporte de agua (40 y 20% de la ETo) resultan significativamente menos favorables para la síntesis de este compuesto. Las concentraciones relativas que alcanza el p-cimen-8-ol en 2004 son parecidas a las de 2003, y en general superiores a las del primer año de ensayo.

Entre el resto de alcoholes destaca por sus porcentajes el linalol, que eleva en 2004 los promedios alcanzados con el 60 y 20% de la ETo tanto respecto a 2002 como a 2003. El borneol, por su parte, incrementa su presencia en el aceite esencial con todos los tratamientos en 2004, excepto con el correspondiente al menor suministro de agua. Ambos alcoholes se encuentran entre los que presentan mayor carácter impacto en el aroma de los aceite esenciales (Goodner *et al.*, 2006).

Tabla III.2–8. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. zygis* subsp. *gracilis*, en función del aporte hídrico (Primavera 2004).

COMPONENTES	I. R.	% ETo			
		80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Hidrocarburos terpénicos					
α -Tujeno*	940	0,90 \pm 0,14	1,03 \pm 0,19	0,92 \pm 0,20	0,96 \pm 0,21
α -Pinoeno	949	0,61 \pm 0,06	0,65 \pm 0,10	0,62 \pm 0,09	0,64 \pm 0,10
Canfeno	969	0,29 \pm 0,12	0,38 \pm 0,15	0,27 \pm 0,10	0,26 \pm 0,14
β -Pinoeno	1007	0,15 \pm 0,01	0,16 \pm 0,02	0,15 \pm 0,02	0,15 \pm 0,02
Mirceno	1026	1,34 \pm 0,25	1,26 \pm 0,29	1,27 \pm 0,23	1,40 \pm 0,28
α -Felandreno	1042	0,14 \pm 0,02	0,13 \pm 0,03	0,14 \pm 0,03	0,19 \pm 0,15
α -Terpinoeno	1058	1,12 \pm 0,17	1,04 \pm 0,21	1,11 \pm 0,24	1,25 \pm 0,32
p-Cimeno	1068	18,28 \pm 2,17	19,37 \pm 3,24	18,79 \pm 2,15	18,23 \pm 3,06
Limoneno	1073	0,50 \pm 0,02	0,51 \pm 0,03	0,50 \pm 0,03	0,51 \pm 0,04
γ -Terpinoeno	1109	4,41 \pm 1,54	3,92 \pm 1,42	4,05 \pm 1,32	5,32 \pm 2,23
Terpinoleno + (<i>E</i>)-Óxido de linalol	1141	0,19 \pm 0,03	0,21 \pm 0,05	0,19 \pm 0,04	0,20 \pm 0,03
(<i>E</i>)-Cariofileno	1419	0,72 \pm 0,38	0,69 \pm 0,16	0,76 \pm 0,19	0,63 \pm 0,29
α -Humuleno	1457	0,13 \pm 0,05	0,15 \pm 0,05	0,14 \pm 0,05	0,11 \pm 0,06
δ -Cadineno	1553	0,10 \pm 0,05	0,09 \pm 0,03	0,07 \pm 0,02	0,08 \pm 0,03
Alcoholes					
1-Octen-3-ol	1009	0,30 \pm 0,11	0,31 \pm 0,09	0,27 \pm 0,05	0,25 \pm 0,08
3-Octanol	1031	0,13 \pm 0,07	0,15 \pm 0,08	0,15 \pm 0,08	0,09 \pm 0,04
(<i>E</i>)-Hidrato de sabineno	1116	0,52 \pm 0,08	0,60 \pm 0,12	0,54 \pm 0,15	0,51 \pm 0,11
(<i>Z</i>)-Hidrato de sabineno*	1151	0,07 \pm 0,01	0,11 \pm 0,10	0,07 \pm 0,02	0,07 \pm 0,01
Linalol	1152	2,94 \pm 0,93	3,27 \pm 0,96	2,49 \pm 0,70	2,60 \pm 0,60
Borneol	1211	0,64 \pm 0,33	0,82 \pm 0,34	0,60 \pm 0,25	0,54 \pm 0,32
Terpinen-4-ol	1220	0,62 \pm 0,07	0,62 \pm 0,10	0,61 \pm 0,12	0,60 \pm 0,06
p-Cimen-8-ol	1227	0,10 \pm 0,03 ^a	0,08 \pm 0,03 ^{ab}	0,08 \pm 0,01 ^b	0,07 \pm 0,02 ^b
α -Terpineol	1231	0,16 \pm 0,02	0,16 \pm 0,02	0,15 \pm 0,02	0,14 \pm 0,02
Espatuleno	1640	0,09 \pm 0,06	0,08 \pm 0,08	0,10 \pm 0,09	0,11 \pm 0,06
Aldehídos					
Geranial + Perialdehído	1292	0,28 \pm 0,09	0,23 \pm 0,04	0,22 \pm 0,08	0,23 \pm 0,09
Cetonas					
3-Octanona	1019	0,20 \pm 0,11	0,19 \pm 0,16	0,21 \pm 0,08	0,22 \pm 0,09
Ésteres					
Acetato de bornilo	1302	0,13 \pm 0,05	0,13 \pm 0,03	0,13 \pm 0,04	0,14 \pm 0,04
Fenoles					
Éter metílico de carvacrol	1272	1,08 \pm 1,09	0,48 \pm 0,72	0,37 \pm 0,56	0,54 \pm 0,73
Timol	1308	57,95 \pm 3,57	56,76 \pm 3,49	58,59 \pm 2,90	58,00 \pm 3,90
Carvacrol	1314	2,82 \pm 0,76	3,27 \pm 0,53	3,29 \pm 0,50	3,12 \pm 0,55
Eugenol	1358	0,10 \pm 0,04	0,07 \pm 0,03	0,10 \pm 0,06	0,09 \pm 0,04
Peróxidos					
Óxido de cariofileno	1650	0,36 \pm 0,18	0,44 \pm 0,16	0,37 \pm 0,11	0,32 \pm 0,15

^{a,b} Valores con distinto superíndice en la misma línea presentan diferencias estadísticamente significativas, de acuerdo con el test de la Menor Diferencia Significativa de Fisher ($P < 0,05$).

\pm Desviación estándar.

* Identificación tentativa.

I. R. Índices de Kovats (HP-5).

Geranial y perialdehído, los aldehídos mayoritarios en esta subespecie, no ven sus concentraciones afectadas por el riego en ninguna recolección.

Entre las cetonas y los ésteres identificados en este tomillo, tan solo 3-octanona y acetato de bornilo aparecen reflejados en la tabla que engloba los resultados de la recolección de 2004. Para ninguno de ellos se detectan diferencias entre tratamientos en esta cosecha, obteniéndose los mejores promedios con el 20% de la ETo en los dos casos.

En cuanto a los fenoles, los análisis estadísticos realizados determinan un comportamiento semejante frente a todos los tratamientos hídricos en la primavera de 2004, al igual que ocurre en 2003. El timol, componente que sí mostraba una concentración dependiente del riego en 2002, presenta en el último año de estudio unos porcentajes muy equilibrados, que oscilan entre el $58,6 \pm 2,90\%$ alcanzado con el 40% de la ETo, y el $56,8 \pm 3,49\%$ que se obtiene con el 60%. En la Figura III.2–6 se puede apreciar cómo se comporta este tomillo en lo que se refiere al contenido en timol de su aceite esencial, en función de cada aporte hídrico. En la gráfica se observa que, con el tratamiento ajustado al 20% de la ETo, la media (línea roja discontinua) y la mediana prácticamente coinciden, determinándose un contenido en timol superior al 58% para la mitad de los tomillos analizados. Un valor de la mediana similar al anterior proporcionan tanto el 80 como el 40% de la ETo. Sin embargo, aplicando este último tratamiento se consiguen mejores resultados, ya que el 50% de las plantas alcanza un porcentaje de timol que supera el 58,5%, aunque los percentiles 75 y 90 correspondientes a este aporte hídrico están por debajo de los demás.

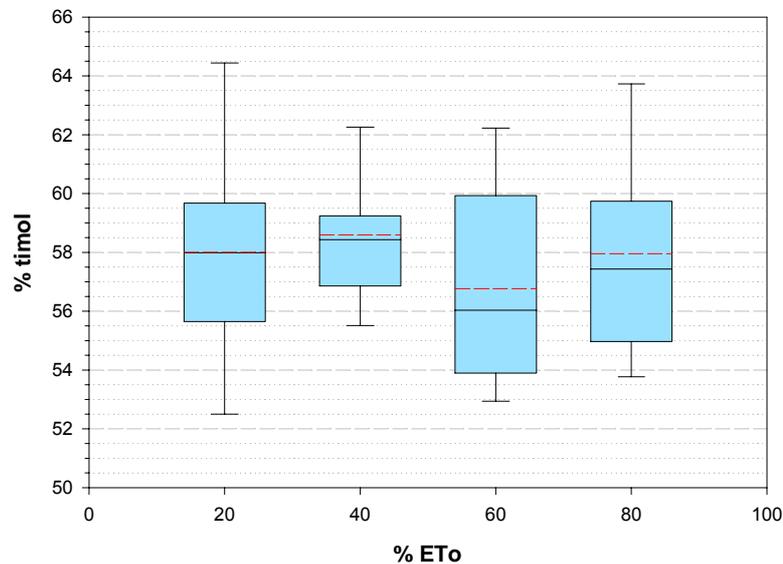
***Thymus zygis* (2004)**

Fig. III.2-6. Distribución de las plantas según su contenido en timol.

Respecto al carvacrol, el promedio más bajo de esta cosecha se obtiene con el 80% de la ETo. El eugenol, por su parte, aumenta o mantiene su concentración relativa respecto a 2002 y 2003 con todos los tratamientos, y en el caso del éter metílico de carvacrol, es destacable la elevada desviación estándar que presenta en todas las recolecciones, lo que indica que la variabilidad intraespecífica afecta notablemente a este fenol.

Estos resultados no hacen sino confirmar lo que ya se manifiesta los dos años anteriores: la calidad de estos aceites, relacionada principalmente con su contenido en timol, queda garantizada con un suministro de agua que no supere la necesaria para compensar el 40% de la ETo. Este suministro hídrico es también adecuado para optimizar la síntesis de la mayor parte del resto de componentes de estas sustancias, consideración importante ya que, como se ha mencionado anteriormente, las propiedades atribuidas a los aceites esenciales se basan en la acción conjunta de todos sus constituyentes.

A.1) Evolución de la influencia del riego en la síntesis de fenoles.

Al igual que se ha hecho con lo referente a la producción de biomasa y aceite esencial, también es importante estudiar cómo afectan las sucesivas siegas a la síntesis de los principales componentes de estos aceites, en función del nivel de agua aportado a la parcela. En el caso de *Th. zygis* subsp *gracilis*, como ocurre con las otras dos especies ensayadas en esta Tesis, los constituyentes más importantes son el timol y el carvacrol.

Para contrastar la evolución de estos dos componentes, se han representado gráficamente los porcentajes obtenidos para los mismos en los tres años de estudio, que aparecen reflejados en las Tablas III.2–6 a III.2–8, con el objeto de analizar por separado los resultados proporcionados por cada suplemento hídrico con el transcurso del tiempo (Figura III.2–7).

La observación más relevante es la dedicada al timol, dado que dicho fenol define el quimiotipo en esta subespecie y, a pesar de la conveniencia de valorar todos los componentes, actualmente el alcance de los aceites esenciales extraídos de estos tomillos queda determinado por su contenido en timol. Un descenso sustancial en la síntesis de este componente con el transcurso del tiempo sería un punto negativo a la hora de plantearse el establecimiento de cultivos de estas labiadas. En la Figura III.2–7a es posible apreciar que en 2002 las diferencias entre algunos tratamientos son bastante marcadas, debido muy probablemente a una respuesta de las plantas ante los distintos aportes de agua iniciados un año antes, que se traduce en la alteración de la síntesis de este fenol. El hecho de que tales diferencias se atenúen en 2003 y 2004 puede estar relacionado, como se ha sugerido anteriormente, con una adaptación de los tomillos a sus condiciones de desarrollo, que se evidencian con el paso del tiempo.

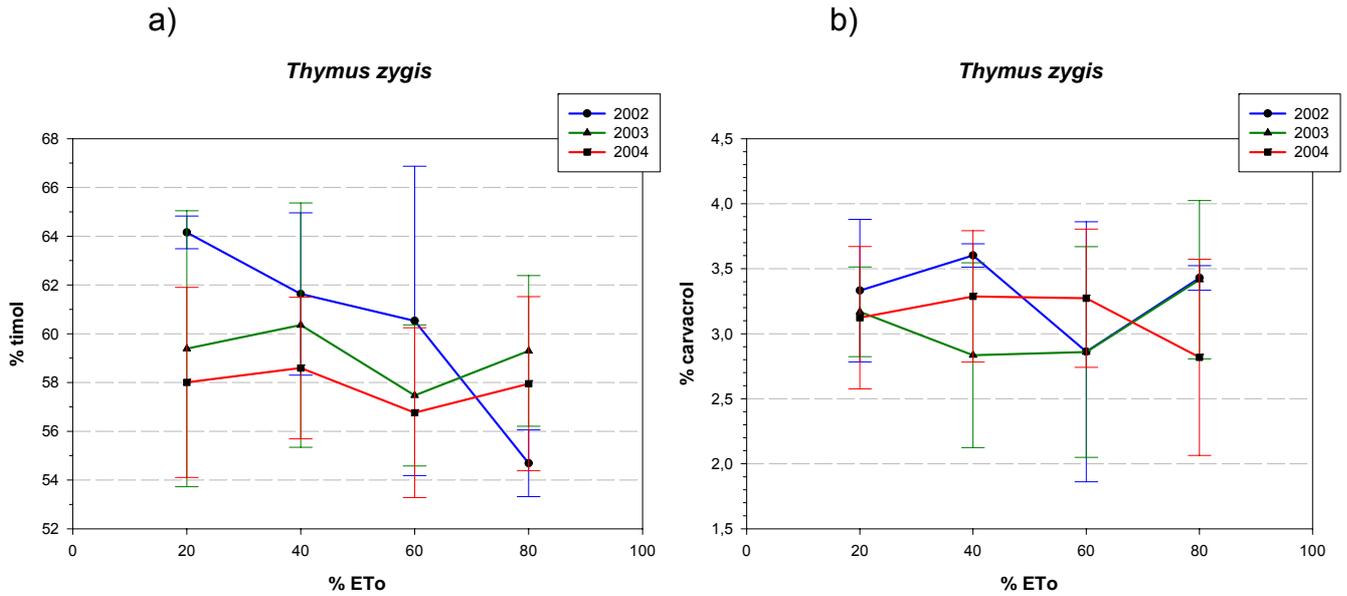


Fig. III.2–7. Evolución de la síntesis de compuestos fenólicos.

En general, se puede advertir una cierta tendencia hacia el descenso en la producción de timol con el transcurso del tiempo. No obstante, los análisis estadísticos determinan que tal descenso no es significativo si el agua aplicada a la parcela es la necesaria para compensar el 80, 60 ó 40% de la ETo, aunque sí lo es con el menor aporte hídrico, alcanzándose en 2002 porcentajes de timol significativamente superiores a los de 2003 y 2004 con dicho tratamiento. No hay diferencias entre los dos últimos años en ningún caso.

Respecto al carvacrol (Figura III.2–7b), los tres años de estudio proporcionan unos resultados homogéneos, no hallándose diferencias significativas entre ellos con ninguno de los tratamientos hídricos aplicados.

B) Estudio de la variabilidad intraespecífica.

Esta sección pretende documentar la variabilidad química presente en el aceite esencial de *Th. zygis* subsp. *gracilis*.

Aunque en todas las plantas recolectadas se ha determinado un quimiotipo timol simple, la composición cuantitativa de estos aceites muestra oscilaciones importantes que afectan a los porcentajes de todos los componentes.

Dado que, como se ha visto en las tablas presentadas en los apartados precedentes, aportar una cantidad de agua u otra a los tomillos no afecta a la síntesis de la mayoría de sus constituyentes volátiles, consideraremos todas las plantas en conjunto y expondremos las concentraciones relativas máxima y mínima encontradas para los componentes más relevantes de las 96 muestras analizadas en 2004.

En la Tabla III.2–9, en la que se presentan tales componentes en orden decreciente de acuerdo a su presencia en el aceite esencial, quedan reflejados estos datos. En dicha tabla aparece también el promedio determinado para cada componente entre el total de plantas consideradas, así como el valor de la mediana, ya que este parámetro no se ve afectado por valores muy grandes o muy pequeños, y como se ha visto anteriormente, puede proporcionar una información más precisa sobre la forma en que los valores que presentan estos componentes se distribuyen en la población.

Algunos constituyentes varían su concentración de unas plantas a otras en un amplio rango. Es el caso de terpenos como p-cimeno, γ -terpineno, (*E*)-cariofileno, canfeno, α -felandreno, α -humuleno o δ -cadineno. Respecto al p-cimeno, con la mitad de las plantas analizadas se obtiene un porcentaje igual o inferior al 18,48%, siendo pocos los individuos que superan el 22%. El γ -terpineno, por su parte, es un reflejo de la variabilidad química presente en esta subespecie, ya que este

componente manifiesta un dilatado margen de valores que, además, engloba de manera bastante proporcional a todos los tomillos recolectados, coincidiendo prácticamente el promedio obtenido a partir de las muestras consideradas (4,42%) con la cantidad que señala la mediana (4,22%). Respecto a las propiedades de ambos precursores fenólicos, Youdim *et al.* (2002) determinan que el γ -terpineno es más efectivo como antioxidante que el *p*-cimeno.

Es interesante resaltar también los resultados que presenta el α -felandreno, monoterpeno de bajo peso molecular cuyo contenido en estos aceites oscila entre 0,08 y 0,68%, aunque, según nuestros análisis, el 90% de los tomillos alcanzan una concentración relativa para este compuesto que no supera el 0,18%, siendo muy pocas las plantas que se sitúan en el nivel más alto de rendimientos.

Entre los alcoholes, son muchos los que muestran una importante fluctuación en sus proporciones. El linalol es el más abundante, y aunque la cantidad relativa más alta detectada ha sido 5,59%, la gran mayoría de las plantas no supera el 4% en porcentaje de área para este alcohol. Algo parecido, aunque con concentraciones más bajas, ocurre con 1-octen-3-ol y (*Z*)-hidrato de sabineno, alcoholes que presentan un valor máximo que se aleja de los porcentajes más habituales determinados en estos tomillos, ya que en ambos casos el 90% de los ejemplares estudiados no sobrepasan el 0,38 y 0,09% respectivamente. Cabe señalar que el *p*-cimen-8-ol es el único componente cuya síntesis se ve afectada por el riego en 2004. No obstante, se ha considerado interesante especificar aquí sus porcentajes máximo y mínimo, detectados en el conjunto de plantas recolectadas, y se ha comprobado que para la mitad de las mismas el contenido de este alcohol es igual o inferior al 0,08%.

Con geranial y perialdehído, que se integran juntos, así como con 3-octanona, hemos podido constatar que sólo en un 10% de las plantas consideradas estos componentes alcanzan una cantidad superior al 0,34 y 0,33%, respectivamente.

Tabla III.2–9. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. zygis* subsp. *gracilis*, quimiotipo timol.

Componentes	Concentración (%)	Promedio	Mediana
Timol	52,13 – 65,86	57,84	57,67
p-Cimeno	13,93 – 26,67	18,66	18,48
γ-Terpineno	1,13 – 9,32	4,42	4,22
Carvacrol	1,46 – 3,88	3,12	3,34
Linalol	1,41 – 5,59	2,82	2,72
Mirceno	0,67 – 1,91	1,32	1,37
α-Terpineno	0,71 – 1,89	1,13	1,11
α-Tujeno*	0,60 – 1,37	0,95	0,94
(E)-Cariofileno	0,11 – 1,51	0,70	0,69
Borneol	0,17 – 1,24	0,65	0,61
α-Pineno	0,43 – 0,81	0,63	0,63
Éter metílico de carvacrol	0,02 – 2,93	0,62	0,24
Terpinen-4-ol	0,32 – 0,83	0,61	0,62
(E)-Hidrato de sabineno	0,24 – 0,86	0,54	0,51
Limoneno	0,44 – 0,59	0,50	0,50
Óxido de cariofileno	0,06 – 0,84	0,37	0,34
Canfeno	0,10 – 0,57	0,30	0,28
1-Octen-3-ol	0,10 – 0,62	0,28	0,27
Geranial + Perialdehído	0,09 – 0,45	0,24	0,24
3-Octanona	0,05 – 0,54	0,21	0,18
Terpinoleno + (E)-Óxido de linalol	0,10 – 0,28	0,20	0,20
α-Felandreno	0,08 – 0,68	0,15	0,14
α-Terpineol	0,10 – 0,20	0,15	0,15
β-Pineno	0,11 – 0,19	0,15	0,15
α-Humuleno	0,01 – 0,27	0,13	0,13
Acetato de bornilo	0,06 – 0,25	0,13	0,13
3-Octanol	0,02 – 0,33	0,13	0,11
Espatuleno	0,01 – 0,31	0,10	0,07
Eugenol	0,03 – 0,28	0,09	0,09
δ-Cadineno	0,02 – 0,19	0,08	0,08
p-Cimen-8-ol	0,04 – 0,17	0,08	0,08
(Z)-Hidrato de sabineno*	0,04 – 0,42	0,08	0,07

* Identificación tentativa.

El acetato de bornilo muestra unos rendimientos que representan uniformemente a todos estos tomillos, obteniéndose un valor para la mediana que corresponde a una concentración del 0,13%. No sigue la misma tendencia el óxido de cariofileno, peróxido que a pesar de que su límite superior alcanza el 0,84%, sólo registra un porcentaje por encima del 0,63% en un 5% de los casos.

Finalmente, por lo que se refiere al timol, podemos afirmar que la mayoría de los tomillos recolectados, concretamente el 75%, posee una cantidad relativa de este fenol igual o superior al 59,62%, en tanto que proporciones que excedan el 64% se detectan en el 5% de las plantas analizadas. En cuanto al carvacrol, porcentajes alrededor del 3% son los más comunes en esta subespecie. Y su éter metílico, componente en el que en todas las siegas se puede evidenciar la variabilidad intraespecífica presente en estas labiadas, al ser su desviación estándar en muchas ocasiones superior a la media obtenida entre las distintas plantas, manifiesta valores por encima del 0,80% en la cuarta parte de los tomillos. El eugenol, por su parte, se halla en concentraciones iguales o inferiores a 0,14% en el 90% de las plantas.

Como se puede apreciar, entre las plantas de un mismo quimiotipo se pueden encontrar importantes variaciones cuantitativas, que quedan reflejadas en las diferencias que encontramos en los porcentajes de todos los constituyentes de sus aceites. En algunos casos, tales variaciones se manifiestan con un amplio rango de valores en el que quedan representadas todas las plantas de forma homogénea; en tanto que en otras ocasiones, resultados que quedan muy por encima o por debajo del promedio determinado para cada componente se detectan en un número relativamente reducido de plantas.

Como nota final a lo expuesto en este capítulo, es importante destacar, una vez más, la ventaja que supondría para el agricultor el empleo de semillas procedentes de plantas seleccionadas, adaptadas al cultivo, y con un contenido en timol adecuado. Esta condición resulta especialmente necesaria para posibilitar el establecimiento de plantaciones rentables a partir de este tomillo, dado el incremento en la mortalidad observado en el segundo año de estudio.

III. 3. *THYMUS VULGARIS*.

De todas las especies que abarca el género *Thymus*, sin duda *Th. vulgaris* es la más estudiada en todos los aspectos, con numerosas publicaciones que hacen referencia, especialmente, a su aceite esencial.

Por lo que se refiere a la presente Memoria, las plantas empleadas se han obtenido a partir de semillas comerciales, de origen francés, procedentes de plantas seleccionadas para producir gran cantidad de hoja. Tales plantas tienen una fisonomía diferente al tomillo común español. Muestran un porte erecto que facilita las labores de recolección, y crecen formando arbustos más frondosos que nuestro tomillo autóctono, con hojas de mayor tamaño. El proceso de selección de estos cultivares da como resultado tomillos de los que es posible obtener una abundante producción de fitomasa, aunque en detrimento del rendimiento en aceite esencial, que raramente alcanza el 2% respecto al peso seco.

Al tratarse de plantas selectas, la variabilidad intraespecífica no es tan importante como la encontrada en *Th. hyemalis* y *Th. zygis*. Por ello, en estas plantas no se realiza el estudio de variabilidad llevado a cabo con las dos especies anteriores. No obstante, tanto los rendimientos en aceite esencial como las concentraciones relativas halladas para los constituyentes de esos aceites oscilan en rangos que pueden ser más o menos amplios.

Respecto a su composición química, el quimiotipo timol simple ha sido el determinado en los aceites de todas las plantas analizadas, con un porcentaje para este componente que se sitúa generalmente entre el 40 y el 50%.

Se han desarrollado cultivos de este tomillo en Provenza (Francia), origen de las semillas empleadas en el presente estudio, así como en diferentes regiones españolas, principalmente de la zona norte del país.

Por lo que respecta al ensayo agronómico aquí descrito, es necesario comentar que en el primer año del mismo se dieron las condiciones necesarias, tanto ambientales como de la propia fisiología de la planta, para el desarrollo de dos ciclos fenológicos completos de *Th. vulgaris*, que propiciaron dos períodos de floración, el primero en febrero y el segundo en mayo, coincidiendo con *Th. hyemalis*. No obstante, hemos podido comprobar que en invierno de 2002 los valores obtenidos, relativos a producción de biomasa y a calidad del aceite esencial son, en general, inferiores a los alcanzados en primavera, por lo que parece que las condiciones primaverales son más favorables para el crecimiento de estos tomillos. Por ello, y ya que en 2003 y 2004 se obtiene una sola recolección, se ha estimado oportuno incluir en los resultados de este estudio la siega correspondiente a invierno de 2002 únicamente como referencia en cuanto a producciones, excluyendo las tablas correspondientes a la composición química del aceite esencial.

Aportando únicamente aquellos datos que resultan relevantes, se pretende facilitar la interpretación de tales resultados.

Para la presentación de estos datos, así como para los análisis estadísticos realizados a los mismos, se han seguido las mismas pautas descritas en capítulos anteriores.

III. 3. 1. EFECTO DE LAS SIEGAS SOBRE LA SUPERVIVENCIA DE LAS PLANTAS.

En la Tabla III.3–1 se exponen las marras que se han ocasionado a lo largo de los tres años de estudio.

El escaso porcentaje de marras registrado, notablemente inferior al detectado en las dos especies anteriores, indica que estas plantas están bien adaptadas al cultivo. Esto es lo que cabría esperar, ya que la selección previa asegura la obtención de plantas resistentes a las siegas,

lo que certifica la necesidad de realizar tal selección como paso previo a la plantación.

Tabla III.3-1. Porcentaje de marras ocasionadas a lo largo de los tres años de cultivo.

	% ETo			
	80	60	40	20
	% marras			
2002	7	3	2	2
2003	13	7	8	4
2004	24	18	16	6

Gráficamente, traduciendo estos datos a número de plantas vivas, podemos visualizar mejor cómo afectan los distintos niveles de riego a la supervivencia de estos tomillos (Figura III.3-1).

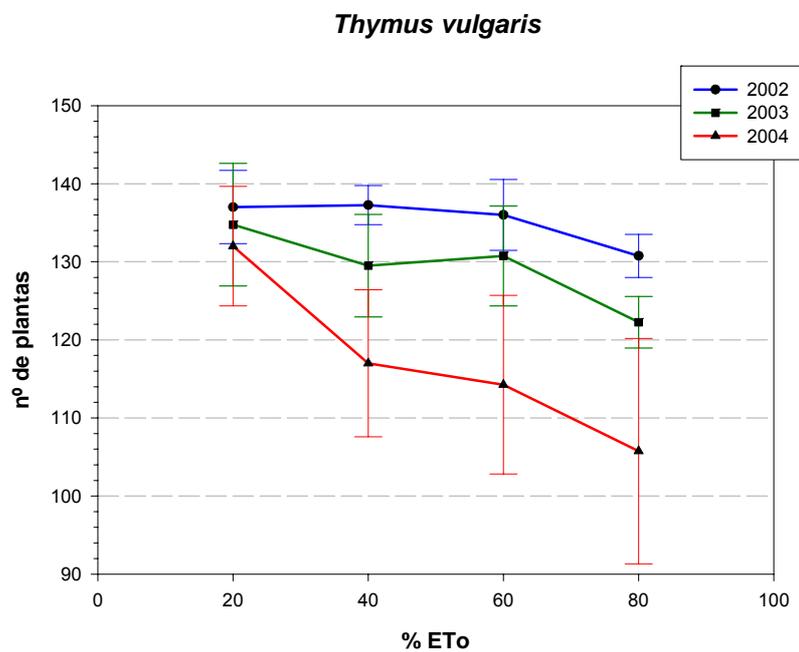


Fig. III.3-1. Número de plantas vivas, en función de la ETo, encontradas en los tres años de estudio.

Tras la recolección de 2003, se acentúa la pérdida de plantas, excepto con el tratamiento correspondiente al 20% de la ETo. El tomillo común de origen comercial, a pesar de ser una planta que responde bien con niveles altos de humedad, manifiesta una reducción más acusada en el número de individuos viables a medida que se eleva la cantidad de agua que reciben las plantas, si estas condiciones hídricas se mantienen durante un tiempo prolongado. Esto se observa con bastante claridad en 2004. Aún así, este descenso es poco pronunciado si se compara con el que se aprecia en el último año de ensayo en plantas de *Th. hyemalis* y *Th. zygis* que han estado recibiendo el riego correspondiente al 80% de la ETo, con una cantidad de tomillos vivos situada entre 34–46 y 47–67 respectivamente.

III. 3. 2. PRODUCCIÓN DE BIOMASA.

La fitomasa producida por esta especie el primer año de estudio, tanto en la recolección de invierno como en la de primavera, se expone en la Tabla III.3–2. Como se puede apreciar, el hecho de estar recibiendo diferentes suplementos hídricos condiciona los resultados obtenidos en la cosecha de invierno. La materia seca generada por esta planta alcanza valores significativamente superiores con el riego correspondiente al 80% de la ETo ($P < 0,05$), proporcionando el resto de tratamientos resultados equivalentes; por lo que respecta a la hoja seca, aplicar el 80 ó el 60% de la ETo no afecta a la producción de esta materia prima.

Sin embargo, en la recolección de mayo de este primer año, realizada tres meses después de la primera cosecha, el rendimiento en material vegetal obtenido a partir de estos tomillos no se ve afectado por el aporte hídrico proporcionado y, además, las producciones son significativamente superiores a las de invierno con el aporte hídrico más bajo, aunque las diferencias entre estaciones no son tan acusadas cuando se incrementa el agua que reciben las plantas.

Tabla III.3–2. Valores de producción, en función de la ETo, correspondientes a 2002.

	Invierno			
	% ETo			
	80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Kg MF/ha	8.502,4 ± 2.056,04 ^a	5.669,8 ± 389,62 ^b	4.789,3 ± 1.895,88 ^b	3.725,2 ± 1.489,58 ^b
% MS	43,32	45,47	44,90	41,67
Kg MS/ha	3.683,2 ± 890,68 ^a	2.578,1 ± 177,16 ^b	2.150,4 ± 851,25 ^b	1.552,3 ± 620,71 ^b
% HS/MS	58,20	66,13	63,63	69,85
Kg HS/ha	2.143,6 ± 518,37 ^a	1.704,9 ± 117,16 ^{ab}	1.368,3 ± 541,65 ^b	1.084,3 ± 433,57 ^b

	Primavera			
	% ETo			
	80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Kg MF/ha	8.566,6 ± 1.147,05	7.338,0 ± 634,96	7.074,2 ± 1.177,20	6.315,4 ± 1.480,85
% MS	38,84	53,05	42,51	53,27
Kg MS/ha	3.327,3 ± 445,52	3.892,8 ± 336,85	3.007,2 ± 500,43	3.364,2 ± 788,85
% HS/MS	57,47	55,55	59,07	57,63
Kg HS/ha	1.912,2 ± 256,04	2.162,4 ± 187,12	1.776,4 ± 295,60	1.938,8 ± 454,61

^{a, b} Valores con distinto superíndice en la misma línea presentan diferencias estadísticamente significativas, de acuerdo con el test de la Menor Diferencia Significativa de Fisher ($P < 0,05$).
± Desviación estándar.

En la segunda cosecha de 2002 no se aprecian diferencias con significación estadística entre tratamientos, de ahí que únicamente se pueda hablar de tendencias; y en este sentido podemos advertir una relación directa entre el tomillo fresco generado y el nivel de agua suministrado a las plantas. No ocurre lo mismo con el producto desecado, ya que los porcentajes tanto de materia como de hoja seca no siguen una pauta clara, lo que se refleja en los resultados finales alcanzados con los kilos de material seco. Esto puede estar relacionado con la estructura morfológica de este tipo de tomillo, bastante leñoso y más parecido en este sentido a *Th. hyemalis* que a *Th. zygis*. Por ello, el rendimiento en materia seca no sigue necesariamente una relación inversamente proporcional al aporte hídrico recibido por las plantas.

También es interesante mencionar que las producciones conseguidas con esta planta superan a las alcanzadas con *Th. hyemalis*, pero quedan por debajo de las proporcionadas por *Th. zygis* en 2002, incluso si consideramos las dos recolecciones en conjunto.

Se pueden encontrar diversas publicaciones que hacen referencia a plantaciones experimentales de este tomillo comercial, como el trabajo de Sánchez Gómez *et al.* (1989), los cuales, con plantas de menos de dos años, obtienen 4.314 Kg/ha de material en fresco, con una densidad de 25.000 plantas/ha. Burillo (1990) cultiva esta planta en cuatro localidades de Aragón y, con 16.600 plantas/ha, consigue unas producciones medias en seis años que oscilan, en función de la zona, entre 1.913 y 1.992 Kg/ha de tomillo fresco. Sotomayor (1998) alcanza, con una densidad de 25.000 plantas/ha, el máximo rendimiento en hoja seca de *Th. vulgaris* comercial de Provenza durante el tercer año de ensayo, con 1.024 Kg/ha, dato que corresponde a la parcela de Torreblanca.

Aportando agua a la plantación, en concreto la necesaria para compensar el 60% de la ETo, este cultivar de origen francés proporciona en la misma parcela de Torreblanca 8.068 Kg/ha de materia fresca, de la que se pueden obtener 1.589 Kg/ha de hoja seca, con plantas de siete meses (Sotomayor *et al.*, 2001). Estos resultados son muy interesantes, ya que reflejan los datos de la primera recolección realizada a las plantas empleadas para la realización de la presente Memoria, y como se puede observar, los valores de producción en fresco son bastante similares a los logrados con este mismo aporte hídrico en la primavera de 2002, transcurridos dos años desde el establecimiento de la plantación. Esto indica que estos tomillos seleccionados están perfectamente adaptados al cultivo, y son capaces de alcanzar producciones importantes en estados muy tempranos de desarrollo, aunque los porcentajes tanto de materia como de hoja secas (40,7 y 48,4% respectivamente) son inferiores a los conseguidos con plantas más maduras.

También hay referencias a cultivos de otras procedencias de *Th. vulgaris*. Piccaglia y Marotti (1991) realizan un trabajo experimental con un ecotipo procedente del norte de Italia obteniendo, con 80.000 plantas/ha, una producción de material en fresco de 4.900 Kg/ha cuando ha transcurrido un año desde la plantación, cantidad que se eleva hasta 14.700 Kg/ha el segundo año, en el que las plantas alcanzan mayor tamaño. Por su parte, Omidbaigi y Rezaei Nejad (2000) establecen un cultivo de esta especie en una estación experimental situada cerca de Teherán (Irán), a partir de semillas procedentes de Alemania. En este ensayo la producción más elevada se logra con plantas que se encuentran en estado de fructificación temprana, con un rendimiento de 1.238,2 Kh/ha de materia seca, que supera significativamente al que se consigue cuando los tomillos están en plena floración (429,7 Kg/ha). Las recolecciones se efectúan el mismo año de la plantación, a la que se aporta agua regularmente, y la densidad poblacional es de 125.000 plantas/ha.

Los resultados de la recolección de la primavera de 2003 del presente ensayo quedan reflejados en la Tabla III.3–3. Tales resultados corresponden a la primera y única cosecha que se contempla en este año, al igual que ocurre en 2004.

Tabla III.3–3. Valores de producción, en función de la ETo, correspondientes a primavera de 2003.

	% ETo			
	80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Kg MF/ha	19.565,4 ± 2.265,62 ^a	16.008,1 ± 3.807,78 ^{ab}	15.329,1 ± 2.000,90 ^b	9.800,7 ± 1.660,20 ^c
% MS	38,32	36,25	36,12	35,50
Kg MS/ha	7.497,5 ± 868,19 ^a	5.802,9 ± 1.380,32 ^b	5.536,9 ± 722,73 ^b	3.479,2 ± 589,37 ^c
% HS/MS	51,47	58,30	51,29	57,89
Kg HS/ha	3.858,9 ± 446,86 ^a	3.383,1 ± 804,73 ^{ab}	2.839,9 ± 370,69 ^b	2.014,1 ± 341,19 ^c

^{a, b, c} Valores con distinto superíndice en la misma línea presentan diferencias estadísticamente significativas, de acuerdo con el test de la Menor Diferencia Significativa de Fisher (P < 0,05).
± Desviación estándar.

En la siega correspondiente al segundo año de estudio las plantas han dispuesto de más tiempo para desarrollarse, al no darse las circunstancias necesarias para poder realizar un primer corte en invierno, encontrando en primavera las condiciones climáticas óptimas para la floración. Por eso las producciones superan a las alcanzadas en esta estación en 2002, llegando a doblarlas con todos los tratamientos, salvo el correspondiente al 20% de la ETo.

Es evidente que los distintos niveles de riego han afectado al rendimiento en fitomasa de estos tomillos. La producción es significativamente peor con el suplemento hídrico más bajo, en tanto que aplicar el tratamiento correspondiente al 80% de la ETo proporciona los mejores resultados, aunque no hay diferencias con el 60% en lo que se refiere al material en fresco y a la hoja seca.

También se puede apreciar que el porcentaje de materia seca que proporcionan las plantas aumenta a medida que se eleva el agua que reciben, lo cual se relaciona, como se apunta anteriormente, con un mayor desarrollo de los tallos en este tipo de tomillo, con una marcada estructura leñosa, y que crece mejor en condiciones de elevada humedad edáfica, lo que se hace más evidente en este segundo año de ensayo.

Los valores alcanzados en la primavera de 2004 aparecen en la Tabla III.3–4. En esta cosecha, los mejores promedios de producción se consiguen con el tratamiento correspondiente al 60% de la ETo aunque, por lo que respecta a la materia seca, no hay diferencias entre regar con el 80, 60 ó 40% de la ETo, siendo significativamente peor el resultado logrado con el 20%. Las diferencias observadas entre los dos tratamientos intermedios en cuanto a producción en fresco quedan compensadas por el porcentaje de materia seca relativamente bajo obtenido con el suministro ajustado al 60% de la ETo, inferior al que se alcanza con el 40%.

Sin embargo, el 60% proporciona un excelente porcentaje de hoja seca, lo que finalmente se traduce, para dicho nivel de riego, en un rendimiento en kilos por hectárea de esta materia prima significativamente superior al conseguido con suplementos hídricos más escasos.

Tabla III.3–4. Valores de producción, en función de la ETo, correspondientes a primavera de 2004.

	% ETo			
	80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Kg MF/ha	12.489,6 ± 2.641,77 ^{ab}	14.703,5 ± 1.706,82 ^a	10.948,1 ± 618,41 ^{bc}	8.055,9 ± 2.768,01 ^c
% MS	36,46	33,18	36,15	32,28
Kg MS/ha	4.553,7 ± 963,19 ^a	4.878,6 ± 566,32 ^a	3.957,8 ± 223,55 ^a	2.600,4 ± 893,51 ^b
% HS/MS	48,94	54,32	50,57	54,19
Kg HS/ha	2.228,6 ± 471,38 ^{ab}	2.650,1 ± 307,63 ^b	2.001,4 ± 113,05 ^a	1.409,2 ± 484,20 ^c

^{a, b, c} Valores con distinto superíndice en la misma línea presentan diferencias estadísticamente significativas, de acuerdo con el test de la Menor Diferencia Significativa de Fisher ($P < 0,05$).
± Desviación estándar.

A la vista de estos resultados, se puede afirmar que este cultivar necesita un riego relativamente alto para proporcionar un óptimo rendimiento. Dado que suministrar el 80% de la ETo acentúa la mortalidad de los tomillos, el 60% parece destacarse como el tratamiento más adecuado para el crecimiento en cultivo de este tomillo.

III. 3. 3. RENDIMIENTO EN ACEITE ESENCIAL.

Th. vulgaris comercial de Provenza no se caracteriza por sintetizar cantidades importantes de aceite esencial, sino más bien al contrario, ya que el contenido en aceite determinado en estas plantas queda bastante por debajo del que presentan *Th. hyemalis* o *Th. zygis*, lo cual se traduce en una menor producción por hectárea de esta sustancia.

A continuación se exponen los resultados obtenidos en la presente Memoria, relativos tanto al contenido en aceite esencial de las plantas recolectadas para su análisis como a la producción por unidad de cultivo.

A) Destilación de las plantas individuales.

Para cumplir los requerimientos de los Estándares Internacionales de Calidad, el contenido mínimo en aceite esencial determinado en plantas desecadas de esta especie debe alcanzar el 0,5% (5 ml/Kg de planta seca) si el aceite se extrae de la planta intacta, y el 0,2% si procede de tomillo molido (McGimpsey, 1993).

El aceite obtenido de estas plantas es de color amarillo pálido, semejante al de *Th. zygis* y, en general, los rendimientos alcanzados en este estudio han oscilado entre 0,7 y 2,0%.

Los resultados correspondientes a las recolecciones de invierno y primavera de 2002 se muestran en la Figura III.3–2.

Como se puede apreciar, en ninguna de las dos recolecciones de 2002 el contenido en aceite esencial de estas plantas está en función del riego aportado a las mismas, oscilando los porcentajes determinados en invierno entre $1,0 \pm 0,09\%$ y $1,4 \pm 0,30\%$ (correspondientes al 60% y 40% de la ETo respectivamente), en tanto que en primavera se consiguen porcentajes más bajos, que se sitúan entre el $0,8 \pm 0,29\%$, obtenido con el 80% ETo, y el $1,1 \pm 0,30\%$ que proporciona el 40%. Es destacable que en la segunda recolección de 2002, el resultado logrado con el menor nivel de agua es idéntico al que se consigue aportando la cantidad máxima ensayada.

Como se viene comentando, estas plantas han sido seleccionadas para la producción de hoja, lo cual no impide que la variabilidad intraespecífica, característica del género *Thymus*, también se manifiesta en este cultivar, por lo que los rendimientos determinados en los tomillos que han estado recibiendo los distintos suplementos hídricos presentan rangos de variación relativamente amplios, impidiendo apreciar el efecto real de tales riegos. Tampoco se distingue una tendencia clara, aunque en ambas estaciones el promedio más alto corresponde al 40% de la ETo.

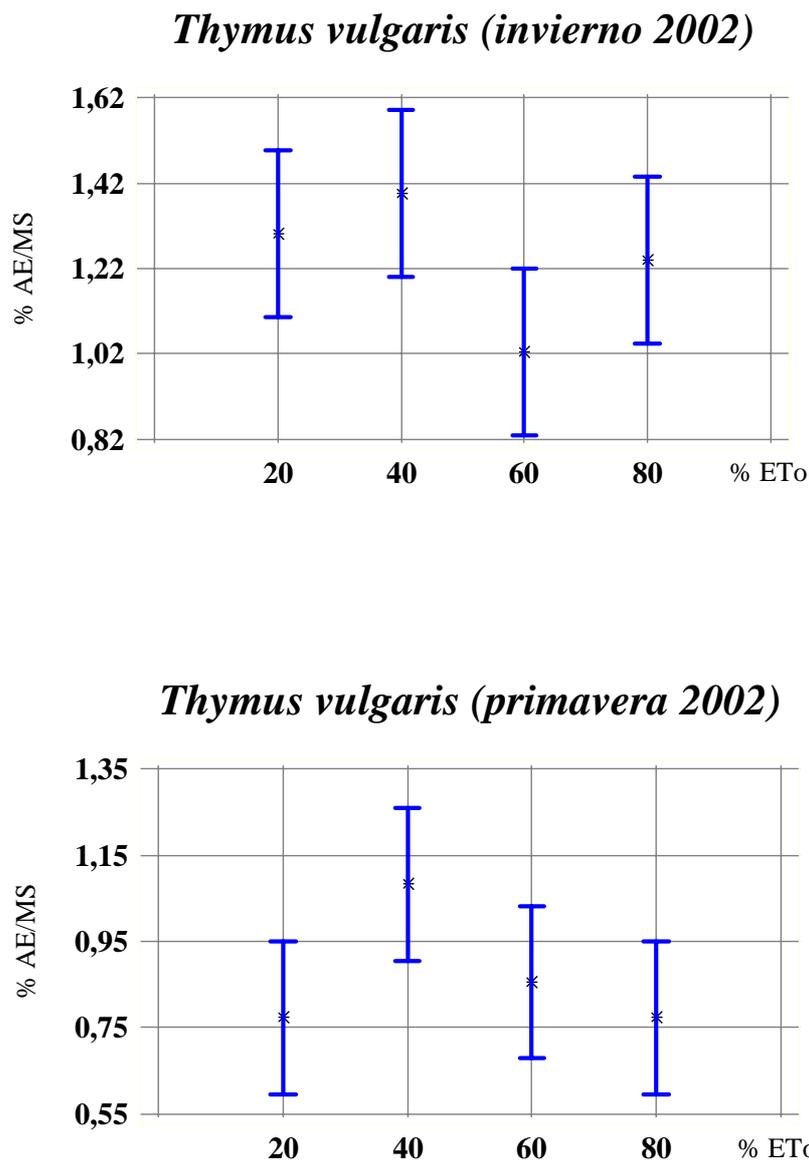


Fig. III.3–2. Rendimiento en aceite esencial, en función del riego, en 2002.

Estos resultados pueden resultar atípicos, ya que el rendimiento más elevado suele estar asociado al suplemento hídrico más bajo. Sin embargo, en *Th. hyemalis* tampoco se observa esta respuesta en el primer año de ensayo. La adaptación de los tomillos a sus nuevas condiciones de crecimiento podría ser la causa de este comportamiento, aunque, por lo

que respecta a *Th. zygis*, el efecto esperado se manifiesta desde la primera recolección.

Letchamo y Gosselin (1996) trabajando con tomillo común en Canadá, analizan distintos aspectos fisiológicos y morfológicos de plantas que crecen bajo diferentes condiciones de luz y humedad, y observan un contenido en aceite esencial que oscila entre 1,10 y 1,35% (porcentaje respecto al peso seco) con luz natural, correspondiendo el valor más bajo a plantas que se desarrollan con el mayor nivel de agua en el sustrato, pero las diferencias entre los tres suplementos hídricos que ensayan estos autores tampoco son significativas.

Por su parte, Omidbaigi y Rezaei Nejad (2000), determinan en su estudio un rendimiento en aceite esencial de 0,75% cuando las plantas se encuentran en fructificación temprana.

Echeverrigaray *et al.* (2001), con semillas comerciales de *Thymus vulgaris* distinta procedencia, obtienen porcentajes de esta sustancia que oscilan entre 0,47 y 0,64%, siempre respecto al peso seco. Estos autores mencionan que sus rendimientos son más bajos que los presentados por otros investigadores, atribuyendo este hecho a las condiciones de crecimiento de los tomillos y a la constitución genética de los cultivares, factores que influyen tanto en el rendimiento como en la composición química de los aceites esenciales.

En la Figura III.3–3 quedan reflejados los porcentajes obtenidos en la recolección de 2003 del presente estudio, en la que tampoco se detectan diferencias entre riegos, aunque en esta cosecha el mejor resultado se vincula ya con el nivel de agua más bajo, con un contenido en aceite de $1,5 \pm 0,36\%$. Los tratamientos correspondientes al 40, 60 y 80% de la ETo proporcionan resultados bastante semejantes.

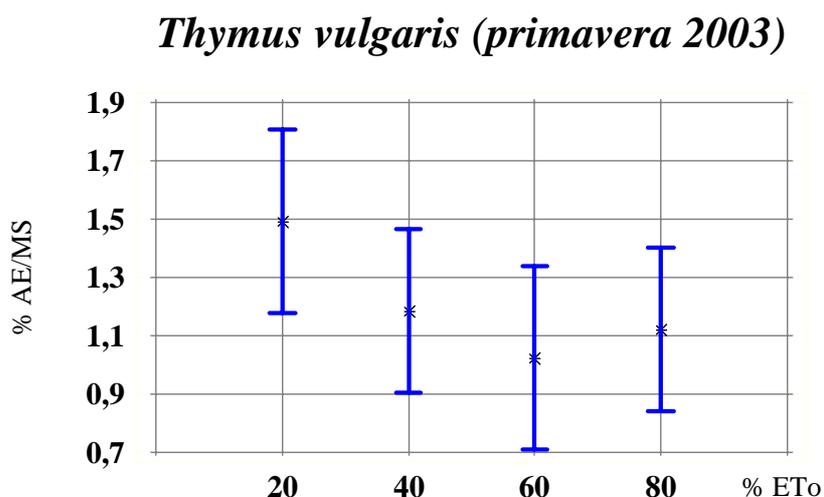


Fig. III.3–3. Rendimiento en aceite esencial, en función del riego, en 2003.

En 2004 (Figura III.3–4) la prueba ANOVA tampoco determina diferencias con significación estadística entre los cuatro suplementos hídricos. En este último año de ensayo, los valores proporcionados por el tratamiento correspondiente al 20% de la ETo ($1,6 \pm 0,60\%$) también se destacan ligeramente del resto, en tanto que los porcentajes más bajos se presentan con el 80% ($1,2 \pm 0,38\%$), tal como cabría esperar.

Con los datos expuestos, queda de manifiesto que la síntesis de aceite esencial por parte de estos tomillos no se ve afectada significativamente por los diferentes niveles de riego aplicados, aunque para este cultivar de la Provenza francesa también se es posible advertir una clara tendencia a aumentar su contenido en aceite con los aportes hídricos más bajos.

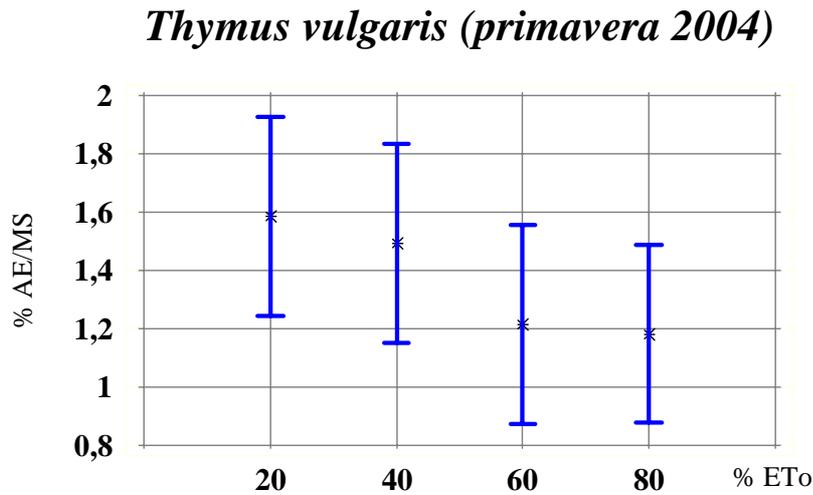


Fig. III.3–4. Rendimiento en aceite esencial, en función del riego, en 2004.

B) Producción por hectárea.

La producción, en litros por hectárea, de aceite esencial está en función de la materia seca generada con cada tratamiento de riego, así como de los porcentajes de dicho aceite que proporcionan las plantas destiladas. La Tabla III.3–5 muestra los resultados obtenidos con *Th. vulgaris* en los tres años de ensayo por lo se refiere a este parámetro.

Respecto a las dos recolecciones de 2002, se detectan diferencias entre riegos sólo en invierno.

En dicha estación, el mejor resultado se consigue con el aporte hídrico más elevado, significativamente superior a los alcanzados con el resto de tratamientos, que no muestran diferencias entre sí. Estos resultados están en consonancia con la producción de materia seca obtenida en esta recolección, que también es sustancialmente mejor con el 80% de la ETo.

En primavera, sin embargo, el rendimiento de aceite por hectárea no se muestra afectado por el nivel de riego aplicado, consiguiéndose en

esta ocasión los mejores promedios con los tratamientos hídricos intermedios (60 y 40% ETo).

Comparando el volumen de producción de ambas estaciones, el resultado conseguido en invierno con el nivel de agua más elevado supera significativamente al de primavera, en tanto que el 60% de la ETo proporciona en la segunda recolección una cantidad de aceite sustancialmente mayor a la de invierno. Las diferencias observadas entre las dos recolecciones al aplicar los suplementos hídricos más bajos no resultan significativas.

Tabla III.3–5. Valores de producción de aceite esencial, en función de la ETo.

		% ETo			
		80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
L AE/ha	2002 (inv)	45,7 ± 11,04 ^a	26,4 ± 1,82 ^b	30,0 ± 11,87 ^b	20,2 ± 8,07 ^b
	2002 (prim)	25,7 ± 3,44	33,3 ± 2,88	32,6 ± 5,42	26,0 ± 6,09
	2003	84,0 ± 9,72 ^a	59,2 ± 14,08 ^b	65,3 ± 8,53 ^b	51,8 ± 8,78 ^b
	2004	53,7 ± 11,37	59,5 ± 6,91	59,0 ± 3,33	41,3 ± 14,21

^{a, b} Valores con distinto superíndice en la misma línea presentan diferencias estadísticamente significativas, de acuerdo con el test de la Menor Diferencia Significativa de Fisher ($P < 0,05$).
± Desviación estándar.

En otros trabajos experimentales, como el desarrollado durante 13 meses por McGimpsey *et al.* (1994) en Nueva Zelanda con plantas de *Th. vulgaris*, se consigue una producción máxima de 22,8 L/ha de aceite esencial, obtenida tras finalizar la floración.

Con el cultivar de Provenza, Sotomayor (1998) alcanza 40,8 L/ha en el tercer año de cultivo en la parcela de Torreblanca.

Este cultivar, cuando han transcurrido tan solo siete meses desde el establecimiento de la plantación, genera 32 L/ha si se aporta al cultivo el riego necesario para compensar el 60% de la ETo, (Sotomayor *et al.*, 2001).

En la recolección de 2003, los análisis estadísticos determinan que con el suplemento hídrico correspondiente al 80% de la ETo se consigue un resultado significativamente mejor al que se obtiene con el resto de tratamientos, que proporcionan cantidades equivalentes de aceite esencial. Esto está en consonancia con el incremento en la producción de materia seca observado en esta cosecha cuando se aplica el riego más elevado (Tabla III.3–3).

Por lo que respecta al último año de ensayo, el rendimiento en aceite esencial del cultivo no se muestra afectado por el nivel de agua que reciben las plantas. Aplicando los tratamientos correspondientes al 60 y 40% de la ETo se obtienen valores muy similares, y el promedio más bajo corresponde al menor aporte hídrico, aunque no es significativamente distinto de los demás. Esto se debe a que el contenido en aceite esencial de las plantas que reciben este suplemento de agua, relativamente mayor que el resto, compensa la menor producción de materia seca alcanzada respecto a suministros hídricos más elevados.

Como ha quedado de manifiesto, estos tomillos no generan cantidades de aceite esencial demasiado abundantes, probablemente debido al proceso de selección que se ha seguido para obtener este cultivar.

En lo que al presente estudio se refiere, al considerar la producción por hectárea es obvio que con los riegos más elevados se consigue mayor cantidad de biomasa, lo que se garantiza la materia prima necesaria para la extracción del aceite esencial. Teniendo esto en cuenta, el aporte hídrico más adecuado para asegurar un buen rendimiento en aceite debería ser, al menos, el correspondiente al 60% de la ETo. No obstante, aplicar tratamientos hídricos más bajos puede compensar la menor producción de fitomasa con el mayor contenido en aceite que muestran las plantas a las que se suministra un escaso nivel de agua.

III. 3. 4. EFECTO DEL RIEGO SOBRE LA EVOLUCIÓN DEL CULTIVO.

En este apartado analizaremos en detalle el efecto de las distintas recolecciones sobre los parámetros analizados previamente. Con el fin de obtener una imagen clara de tales efectos, se representan gráficamente los datos que aparecen en las Tablas III.3–2 a III.3–5, y las Figuras III.3–2 a III.3–4. Con ello es posible apreciar la repercusión que puede tener sobre esta especie seleccionada el hecho de aplicar un tratamiento de riego u otro durante un tiempo prolongado, para corroborar la elección del aporte hídrico más adecuado.

Esta información debe interpretarse teniendo en cuenta el conjunto de factores implicados en los resultados obtenidos, ya que las condiciones climáticas también afectan al desarrollo de estas plantas, y tales condiciones pueden variar, a veces de forma marcada, entre los tres años que comprende el ensayo.

Por otra parte, y ya que las producciones de 2003 y 2004 superan ampliamente a las de 2002 consideradas por separado, se ha estimado oportuno sumar las producciones por hectárea de invierno y primavera del primer año de ensayo, y presentar el total de la producción anual a efectos comparativos.

Por lo que se refiere al rendimiento en aceite esencial de las plantas individuales, de las dos cosechas de 2002 se considera la de primavera en lugar de la de invierno, con el fin de que la comparación entre los tres años se realice contemplando unas condiciones climáticas semejantes.

Con estos datos se realiza la Figura III.3–5, en la cual se refleja la evolución de la producción en función del nivel de agua recibido por las plantas.

En las gráficas correspondientes al producto desecado (Figuras III.3–5a y b), se puede apreciar que los promedios de producción de 2004 son más bajos que los de 2002 y 2003. Esto puede ser debido a que, en

general, los porcentajes, tanto de materia como de hoja secas experimentan un descenso más o menos acusado con todos los suplementos hídricos a medida que transcurren las recolecciones, a lo que se debe sumar el aumento progresivo en las marras contabilizadas.

Por lo que se refiere a la materia seca (Figura III.3–5a), analizando estadísticamente los resultados proporcionados por cada tratamiento, la prueba ANOVA determina que el riego necesario para compensar el 60% de la ETo es el único que permite alcanzar resultados similares en los tres años.

Con el 80% de la ETo, la producción de material desecado es significativamente inferior en 2004 respecto a 2002 y 2003, lo que está relacionado, como se menciona previamente, con el descenso en el número de plantas viables que se aprecia en el último año de ensayo, especialmente marcado con el tratamiento correspondiente al 80% de la ETo. En el caso del 60%, si bien se presenta también una mortalidad más acusada que en 2002 y 2003, parece que tal suministro hídrico beneficia el desarrollo de las plantas supervivientes, que pueden alcanzar un mayor tamaño y compensar su menor número respecto a los dos años anteriores.

Aplicando el nivel de riego correspondiente al 40% ETo, las diferencias se hallan entre 2003 y 2004, con un rendimiento significativamente mejor en el primero. Finalmente, con el aporte de agua más bajo, la heterogeneidad se detecta entre el primer y el último año de ensayo, lográndose una producción anual significativamente superior en 2002.

Al estudiar la evolución de los kilos de hoja seca obtenidos por unidad de superficie (Figura III.3–5b), se comprueba que las diferencias se presentan con todos los suplementos hídricos aplicados.

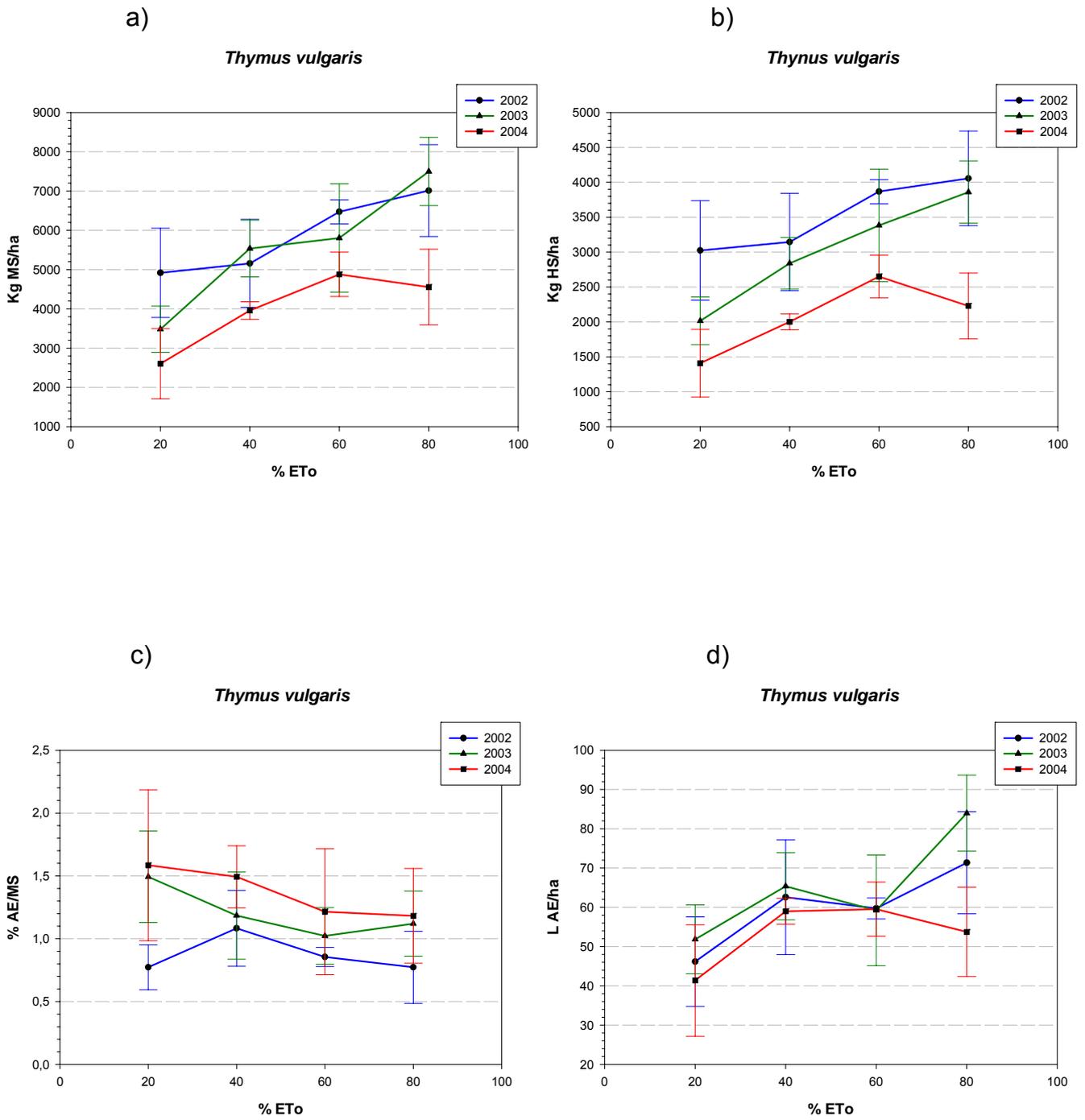


Fig. III.3-5. Evolución de la producción de materias primas durante los tres años de ensayo.

Con el 80 y el 40% de la ETo, la productividad de hoja en 2004 desciende significativamente respecto a los dos años anteriores. Si el riego se reduce al 20%, el rendimiento alcanzado en 2002 supera significativamente tanto al de 2004 como al de 2003. Por su parte, el tratamiento correspondiente al 60% ETo proporciona los dos últimos años del estudio resultados equiparables, aunque la producción de 2002 continúa siendo significativamente superior a la de 2004.

También es interesante analizar el efecto de las repetidas siegas sobre la producción de aceite esencial, a pesar de que esta sustancia no es la materia prima más revelante de las obtenidas de este cultivar.

En la Figura III.3–5c se puede observar la respuesta de las plantas en cuanto a su contenido en aceite esencial a medida que se suceden las recolecciones.

Si bien los promedios alcanzados con todos los tratamientos tienden a aumentar de un año a otro, la prueba ANOVA sólo detecta diferencias entre las tres cosechas en el caso del menor aporte hídrico, con el que el rendimiento alcanzado en la primavera de 2002 es significativamente inferior a los de 2003 y 2004, que presentan resultados similares. Con el resto de niveles de riego, los porcentajes de aceite esencial determinados en los tres años de estudio son equiparables. Es conveniente recordar que los rendimientos de 2002 recogidos en esta figura corresponden a la segunda recolección anual obtenida en dicho año, por lo que los valores alcanzados pueden estar condicionados por este hecho.

Respecto a los litros por hectárea (Figura III.3–5d), la producción que se consigue aplicando el tratamiento correspondiente al 60% de la ETo es prácticamente idéntica en los tres años. De hecho, las diferencias entre recolecciones aparecen sólo cuando se suministra a la plantación el nivel de agua más elevado, con el cual los resultados de 2003 superan significativamente a los de 2004, en tanto que la producción de 2002 no difiere de las de los dos años siguientes.

Estas plantas están seleccionadas en base a su riqueza foliar y, tal como ha quedado de manifiesto, la hoja seca representa la única materia prima que aportando el agua necesaria para compensar el 60% de la ETo no consigue una producción homogénea los tres años de ensayo. Aún así, este nivel de riego parece ser el más adecuado para optimizar la productividad de estos tomillos, al acreditar los datos del presente ensayo que este cultivar de *Th. vulgaris* necesita más humedad para desarrollarse que las dos especies comentadas anteriormente, resultando contraproducente elevar el aporte de agua hasta el 80% de la ETo, habida cuenta del incremento advertido en la mortalidad de las plantas.

Por otra parte, se podría revisar el marco de plantación propuesto inicialmente en este estudio (140 plantas por subparcela), dado que no existen diferencias en cuanto a producción en fresco entre los tres años de ensayo cuando se aplica el tratamiento de riego correspondiente al 60% de la ETo. De esta forma, cabe suponer que el número de individuos contabilizados en 2004 con dicho aporte hídrico es adecuado para garantizar un óptimo rendimiento en masa vegetal. Tal número se sitúa aproximadamente entre 105–125 plantas, lo que supondría una densidad media de 73.500 plantas/ha.

III. 3. 5. PERFIL CROMATOGRÁFICO DEL ACEITE ESENCIAL.

A pesar del escaso rendimiento en aceite esencial de este cultivar, la composición química de esta sustancia es siempre un factor de gran importancia, que justifica las numerosas publicaciones en las que se analiza este aspecto.

Th. vulgaris es una especie que muestra un gran polimorfismo químico. Granger y Passet (1973) describen 6 quimiotipos analizando plantas que crecen espontáneas en el sur de Francia: geraniol, linalol, α -

terpineol, carvacrol, timol y el mixto *trans*-hidrato de sabineno/terpinen-4-ol.

Delpit *et al.* (2002) se centran en plantas ricas en hidrato de sabineno procedentes de Francia, que presentan la máxima cantidad de (*E*)-hidrato de sabineno en la recolección de primavera del segundo año de cultivo (39,4–54,8%), en tanto que la forma *cis* del alcohol, menos abundante, alcanza sus porcentajes más altos en los tomillos recolectados en otoño del primer año (7,1–11,8%).

El quimiotipo fenólico es el más habitual en esta especie (Stahl-Biskup, 1991), presentando la mayor parte de estos individuos el timol como componente mayoritario, en tanto que en un porcentaje inferior de la población domina el carvacrol. En este sentido, Morgan (1989), en un trabajo sobre *Th. vulgaris* realizado en Nueva Zelanda, comprueba que el quimiotipo timol es el más frecuente en la zona de estudio, ya que aparece en 53 de los tomillos analizados, con una cantidad relativa para este fenol que se sitúa en $49,7 \pm 9,7\%$. El carvacrol es el constituyente más abundante en 11 de las muestras recolectadas, con una concentración de $48,8 \pm 8,9\%$.

Por su parte, las poblaciones españolas de tomillo común se caracterizan por la presencia abundante de 1,8-cineol en su aceite esencial (García Vallejo *et al.*, 1989). En un trabajo realizado por Guillén y Manzanos (1998), en el que se estudian por separado hojas, flores y tallos de tomillo común español procedente de Zaragoza, se especifica un quimiotipo 1,8-cineol/linalol para estas plantas, revelándose un contenido en hojas y flores para ambos componentes muy superior al encontrado en los tallos:

	Contenido (mg/Kg)		
	Hojas	Flores	Tallos
1,8-Cineol	947	254	13,9
Linalol	441	525	1,8

Jordán *et al.* (2006) analizan la variación estacional en la composición química de nuestro tomillo autóctono, detectando la mayor concentración relativa del éter ($36,4 \pm 1,00\%$) cuando las plantas se encuentran en estado de vegetación.

Por lo que respecta a la presente Memoria, al utilizar un cultivar comercial de Provenza, en todas las plantas se ha determinado un quimiotipo timol simple, pudiendo alcanzarse en algunos individuos concentraciones relativas por encima del 57% para este fenol.

Mirceno, (*E*)-cariofileno, linalol, borneol, terpinen-4-ol, éter metílico de carvacrol, carvacrol y óxido de cariofileno, además de p-cimeno y γ -terpineno, son otros componentes que también destacan por su presencia en estos aceites.

En este capítulo dedicado a *Th. vulgaris*, los resultados se van a exponer sin establecer diferencias entre los tres años de ensayo ya que, al tratarse de un cultivar seleccionado, es de esperar que las plantas presenten una composición química relativamente homogénea. Dado que no se juzga necesario llevar a cabo un estudio de variabilidad, tampoco se ha considerado preciso elevar en 2004 el número de muestras recolectadas respecto a 2002 y 2003, tal como se ha hecho con las dos especies anteriores. Sin embargo, es necesario precisar que la influencia de la variabilidad intraespecífica también es notable en algunos de los componentes descritos en este cultivar.

Por otra parte, se ha decidido no incluir los resultados de la recolección de invierno del primer año de estudio, dado que el aceite esencial muestra un menor contenido fenólico, y por lo tanto, menor calidad, en relación a la recolección de primavera, que manifiesta valores más acordes con los aceites obtenidos en 2003 y 2004. Esto está en consonancia con lo publicado por Baranauskienė *et al.* (2003), los cuales refieren dos cosechas en plantas de *Th. vulgaris* en el mismo año, encontrando condiciones climatológicas más favorables cuando se lleva a cabo la segunda de ellas. El aceite esencial obtenido por estos autores en la segunda recolección presente un contenido sensiblemente mayor de timol que el detectado en la primera.

III. 3. 5. 1. Efecto del riego sobre la composición química del aceite esencial.

En *Th. vulgaris* se han identificado 104 componentes volátiles, los cuales representan aproximadamente el 97,4% del total de picos cromatográficos. Con tales componentes se confeccionan las tablas correspondientes a las recolecciones de 2002 y 2003, en las que podemos encontrar 30 hidrocarburos terpénicos, 24 alcoholes, 14 aldehídos, 13 cetonas, 12 ésteres, siete fenoles, tres epóxidos y un éter.

Entre estos componentes, se observa la presencia de 22 no descritos anteriormente en esta labiada:

- *Hidrocarburo terpénico*: verbeneno.
- *Alcoholes*: butanol, 1-penten-3-ol, 3-penten-2-ol.
- *Aldehídos*: (*E*)-2-butenal, pentanal, furfural, heptanal, benzaldehído, nonanal, decanal, perialdehído.
- *Cetonas*: 3-hexanona, 3-heptanona, verbenona, carvona, (*Z*)-jasmona.

- *Ésteres*: butirato de etilo, acetato de bencilo, caprilato de etilo, caprilato de butilo.
- *Fenol*: metil eugenol.

Determinados constituyentes de este grupo aparecen definidos en el aceite esencial de otras especies del género *Thymus* (Nijssen *et al.*, 1996).

En la tabla que refleja los resultados de la cosecha de 2004 se exponen sólo aquellos componentes cuya concentración iguala o supera el 0,1%, ya que este mismo criterio se ha seguido en las dos especies anteriores. Estos porcentajes se detectan en 41 de los volátiles que integran estos aceites, que constituyen el 96,5% del total.

En general, todos los componentes manifiestan ciertas oscilaciones en sus porcentajes, como se puede apreciar en la desviación estándar que acompaña al promedio obtenido en cada caso.

III. 3. 5. 1. 1. Primavera 2002.

Los análisis cromatográficos efectuados a las muestras de aceite esencial obtenidas en la primavera de 2002 se reflejan en la Tabla III.3–6.

Tras realizar la prueba ANOVA a estos datos, únicamente se aprecian diferencias significativas entre tratamientos en cinco componentes, número notablemente inferior al encontrado en *Th. hyemalis* y *Th. zygis* en el primer año de ensayo. Esto refleja la capacidad de adaptación de estas plantas, diseñadas para su crecimiento en cultivo.

El p-cimeno es el único hidrocarburo terpénico que manifiesta diferencias en su concentración en función del riego, alcanzando con el 80% de la ETo un porcentaje significativamente superior a los otros tres tratamientos, que proporcionan resultados homogéneos. La síntesis del

resto de los componentes de este grupo químico no se ve afectada por el aporte de agua que reciben las plantas, transcurrido cerca de un año desde que comenzara a aplicarse el riego diferenciado.

Varios terpenos, entre los que se encuentran γ -terpineno o mirceno, con cantidades relativas importantes, muestran sus mejores promedios con aportes hídricos bajos; en tanto que un menor número de estos componentes, como (*E*)-cariofileno, presentan su media más elevada cuando se aplica el riego correspondiente al 80% de la ETo. En cualquier caso, esto son únicamente consideraciones realizadas en base a tendencias, ya que en realidad no existen diferencias con significación estadística entre tratamientos.

En ninguno de los alcoholes descritos en esta planta se detecta una concentración condicionada por el riego en la primavera de 2002. Los más abundantes entre estos constituyentes son 1-octen-3-ol, (*E*)-hidrato de sabineno, linalol, borneol y terpinen-4-ol. Los porcentajes medios más altos de todos ellos se logran con aportes hídricos elevados (80 ó 60% ETo), aunque las diferencias con el resto de tratamientos no son importantes. La marcada desviación estándar que se puede observar en algunos casos, especialmente en el borneol, denota que la variabilidad intraespecífica advertida habitualmente en el género *Thymus* afecta también a este cultivar.

En cuanto a los aldehídos, podemos apreciar diferencias en base al suplemento hídrico en el decanal, que se detecta sólo en trazas si se riega con el nivel de agua correspondiente al 80% de la ETo, resultado significativamente inferior al determinado con el resto de tratamientos.

Entre las cetonas, la más abundante es el alcanfor, cuyo mejor promedio corresponde al 40% de la ETo, aunque con una elevada desviación estándar. No hay en este grupo una respuesta dependiente de los distintos suplementos hídricos en ningún caso.

Tabla III.3–6. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. vulgaris*, en función del aporte hídrico (Primavera 2002).

COMPONENTES	I. R.	% ETo			
		80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Hidrocarburos Terpénicos					
Triciclono*	931	0,01 ± 0,00	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,01
α-Tujeno*	940	0,48 ± 0,17	0,70 ± 0,16	0,74 ± 0,26	0,55 ± 0,29
α-Pineno	949	0,44 ± 0,12	0,63 ± 0,16	0,73 ± 0,22	0,55 ± 0,20
Canfeno	969	0,39 ± 0,17	0,39 ± 0,16	0,54 ± 0,30	0,38 ± 0,14
Verbeneno*	976	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
Sabineno	1001	0,01 ± 0,00	tr	0,01 ± 0,00	tr
β-Pineno	1007	0,18 ± 0,03	0,22 ± 0,03	0,24 ± 0,04	0,21 ± 0,06
Mirceno	1026	1,04 ± 0,26	0,98 ± 0,15	1,04 ± 0,18	1,08 ± 0,35
α-Felandreno	1042	0,04 ± 0,01	0,05 ± 0,03	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,03
Δ ₃ -Careno	1048	0,08 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,08 ± 0,02
α-Terpineno	1058	0,54 ± 0,17	0,51 ± 0,30	0,60 ± 0,12	0,55 ± 0,24
p-Cimeno	1068	31,77 ± 0,50 ^a	25,04 ± 3,42 ^b	26,95 ± 3,54 ^b	24,70 ± 2,39 ^b
Limoneno	1073	0,55 ± 0,04	0,52 ± 0,03	0,55 ± 0,02	0,53 ± 0,05
(Z)-β-Ocimeno	1086	tr	tr	tr	tr
(E)-β-Ocimeno*	1097	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01
γ-Terpineno	1109	1,27 ± 0,47	1,67 ± 1,19	1,78 ± 0,66	2,13 ± 1,99
Terpinoleno + (E)-Óxido de linalol	1141	0,15 ± 0,03	0,12 ± 0,03	0,15 ± 0,03	0,14 ± 0,02
α-Copaeno	1378	0,15 ± 0,09	0,07 ± 0,01	0,12 ± 0,07	0,13 ± 0,06
(E)-Cariofileno	1419	2,76 ± 0,63	2,20 ± 0,28	1,92 ± 0,43	2,33 ± 0,61
Calereno	1432	tr	tr	tr	tr
Aromadendreno	1440	tr	tr	tr	tr
α-Humuleno	1457	0,14 ± 0,04	0,10 ± 0,02	0,12 ± 0,03	0,11 ± 0,02
Aloaromadendreno	1465	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,00	0,03 ± 0,01	0,02 ± 0,00
Elemeno*	1481	0,24 ± 0,17	0,14 ± 0,03	0,11 ± 0,02	0,15 ± 0,05
β-Selineno*	1485	0,13 ± 0,05	0,12 ± 0,03	0,20 ± 0,11	0,21 ± 0,05
Valenceno	1510	0,08 ± 0,01	0,07 ± 0,02	0,10 ± 0,03	0,10 ± 0,01
α-Muuroleno*	1516	0,06 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,08 ± 0,03	0,07 ± 0,02
γ-Cadineno*	1537	0,21 ± 0,05	0,18 ± 0,04	0,24 ± 0,11	0,26 ± 0,09
δ-Cadineno	1553	0,32 ± 0,03	0,27 ± 0,05	0,35 ± 0,12	0,39 ± 0,09
Alcoholes					
Butanol	742	tr	tr	tr	tr
1-Penten-3-ol	747	tr	tr	tr	tr
3-Metil-3-buten-1-ol	766	tr	0,01 ± 0,00	0,02 ± 0,02	0,02 ± 0,01
3-Penten-2-ol*	784	tr	tr	tr	tr
(Z)-3-Hexen-1-ol	852	0,01 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,04 ± 0,02	0,02 ± 0,01
Hexanol + m-Xileno	867	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,00	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,00
1-Octen-3-ol	1009	0,69 ± 0,28	0,79 ± 0,15	0,61 ± 0,27	0,53 ± 0,08
3-Octanol	1031	0,11 ± 0,06	0,07 ± 0,03	0,06 ± 0,02	0,07 ± 0,03
(E)-Hidrato de sabineno	1116	0,35 ± 0,39	0,59 ± 0,16	0,48 ± 0,38	0,45 ± 0,14
(Z)-Hidrato de sabineno*	1151	0,17 ± 0,09	0,21 ± 0,01	0,19 ± 0,05	0,19 ± 0,03
Linalol	1152	2,60 ± 0,53	2,33 ± 0,87	2,51 ± 0,35	2,54 ± 0,47
(E)-Pinocarveol	1186	0,03 ± 0,01	0,02 ± 0,00	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01
(Z)-Verbenol	1189	0,06 ± 0,03	0,05 ± 0,01	0,06 ± 0,02	0,05 ± 0,01
(E)-Verbenol*	1197	0,03 ± 0,02	0,03 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,01

Tabla III.3-6 (continuación)

COMPONENTES	I. R.	% ETo			
		80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Alcoholes (continuación)					
Isoborneol	1203	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
Borneol	1211	1,49 ± 1,08	0,91 ± 0,61	0,92 ± 0,59	1,24 ± 0,88
Terpinen-4-ol	1220	1,14 ± 0,50	0,96 ± 0,15	1,09 ± 0,37	1,04 ± 0,17
p-Cimen-8-ol	1227	0,13 ± 0,02	0,11 ± 0,01	0,15 ± 0,03	0,11 ± 0,03
α-Terpineol	1231	0,20 ± 0,02	0,25 ± 0,01	0,28 ± 0,07	0,30 ± 0,06
Carveol	1252	0,01 ± 0,00	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,00	0,04 ± 0,00
Nerol + Citronelol	1260	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,00	0,02 ± 0,01
Geraniol + Acetato de linalilo	1281	0,21 ± 0,13	0,14 ± 0,03	0,16 ± 0,06	0,18 ± 0,09
Espatuleno	1640	0,05 ± 0,03	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01
Aldehídos					
(<i>E</i>)-2-butenal*	735	tr	tr	tr	tr
Pentanal	754	tr	tr	tr	tr
Hexanal + Butirato de etilo	802	tr	tr	tr	tr
Furfural	832	tr	tr	tr	tr
(<i>E</i>)-2-Hexenal	849	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
Heptanal	904	tr	tr	tr	tr
Benzaldehído	987	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
Nonanal	1157	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,00	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01
Mirtenal + Dihidrocarvona	1235	0,13 ± 0,06	0,12 ± 0,02	0,13 ± 0,02	0,11 ± 0,02
Decanal	1243	tr ^a	0,02 ± 0,00 ^b	0,02 ± 0,00 ^b	0,02 ± 0,00 ^b
Cuminaldehído	1268	0,03 ± 0,02	0,01 ± 0,00	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,01
Neral + Carvona	1270	tr	tr	tr	tr
Geranial + Perialdehído	1292	0,05 ± 0,04	0,05 ± 0,03	0,06 ± 0,04	0,05 ± 0,02
Cetonas					
3-Hexanona	795	tr	tr	tr	tr
3-Heptanona*	888	tr	tr	tr	tr
3-Octanona	1019	0,06 ± 0,06	0,04 ± 0,01	0,04 ± 0,02	0,11 ± 0,10
β-Tujona	1158	0,01 ± 0,00	0,02 ± 0,03	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
Alcanfor	1193	0,36 ± 0,21	0,39 ± 0,06	0,69 ± 0,39	0,25 ± 0,15
Pinocarvona*	1208	0,03 ± 0,01	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,00
Verbenona	1245	0,03 ± 0,03	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,00
Timoquinona	1276	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,00	0,03 ± 0,02	0,02 ± 0,00
(<i>Z</i>)-Jasmona	1399	0,13 ± 0,14	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,07 ± 0,03
α-Ionona	1428	0,07 ± 0,03	0,06 ± 0,01	0,07 ± 0,02	0,09 ± 0,02
β-Ionona	1497	0,03 ± 0,00	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01
Ésteres					
Acetato de etilo	732	tr	tr	tr	tr
2-Metilbutirato de metilo*	791	0,10 ± 0,09	0,12 ± 0,05	0,13 ± 0,05	0,11 ± 0,05
Acetato de bencilo	1214	0,13 ± 0,05	0,10 ± 0,02	0,10 ± 0,03	0,12 ± 0,02
Caprilato de etilo	1239	0,02 ± 0,02	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00
Acetato de bornilo	1302	0,39 ± 0,12 ^a	0,22 ± 0,02 ^b	0,26 ± 0,04 ^b	0,29 ± 0,06 ^{ab}
Acetato de terpenilo	1353	0,04 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,00
Acetato de timilo*	1356	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,00	0,02 ± 0,02	0,02 ± 0,01
Acetato de nerilo	1366	tr	tr	tr	tr

Tabla III.3-6 (continuación)

COMPONENTES	I. R.	% ETo			
		80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Ésteres (continuación)					
Acetato de geranilo	1385	0,11 ± 0,05	0,07 ± 0,01	0,09 ± 0,02	0,14 ± 0,04
Caprilato de butilo	1388	0,05 ± 0,03	0,04 ± 0,01	0,05 ± 0,02	0,05 ± 0,02
Fenoles					
Éter metílico de timol	1265	0,08 ± 0,02	0,07 ± 0,01	0,09 ± 0,02	0,08 ± 0,01
Éter metílico de carvacrol	1272	1,14 ± 1,08	0,86 ± 0,48	1,46 ± 0,92	0,89 ± 0,19
Timol	1308	39,42 ± 3,25 ^a	44,82 ± 4,38 ^{ab}	49,24 ± 4,21 ^b	47,11 ± 3,56 ^b
Carvacrol	1314	2,77 ± 0,43	2,89 ± 0,22	2,50 ± 0,44	2,89 ± 0,18
Eugenol	1358	0,06 ± 0,03	0,07 ± 0,02	0,08 ± 0,03	0,07 ± 0,03
Metil eugenol	1408	0,14 ± 0,21	0,03 ± 0,02	0,04 ± 0,02	0,11 ± 0,04
(E)-Isoeugenol	1453	tr	tr	tr	tr
Epóxidos					
(Z)-Óxido de linalol	1123	0,03 ± 0,01	0,02 ± 0,00	0,03 ± 0,01	0,02 ± 0,01
Óxido de cariofileno	1650	1,58 ± 0,53 ^a	1,26 ± 0,21 ^{ab}	0,91 ± 0,10 ^b	1,13 ± 0,12 ^b
Éter					
1,8-Cineol	1076	0,48 ± 0,09	0,64 ± 0,11	0,84 ± 0,59	0,94 ± 0,47

^{a,b} Valores con distinto superíndice en la misma línea presentan diferencias estadísticamente significativas, de acuerdo con el test de la Menor Diferencia Significativa de Fisher ($P < 0,05$).

± Desviación estándar.

* Identificación tentativa.

I. R. Índices de Kovats (HP-5).

tr = trazas ($< 0,01\%$).

El acetato de bornilo, uno de los ésteres más destacados en el aceite esencial de esta labiada, es otro de los componentes para los que los análisis estadísticos efectuados detectan diferencias en base al riego. En dicho éster, el resultado obtenido con el 80% de la ETo es significativamente superior a los alcanzados con el 60 y 40%, aunque no difiere del porcentaje determinado para el 20%. El resto de los integrantes de esta categoría química presentan concentraciones homogéneas con todos los tratamientos.

Respecto al contenido fenólico, es importante destacar el comportamiento del timol, dado que se trata del constituyente más valorado en estas labiadas. En la recolección que nos ocupa, este fenol disminuye significativamente su presencia en el aceite esencial cuando las

plantas reciben el mayor aporte hídrico, obteniéndose con el 60, 40 y 20% de la ETo porcentajes semejantes. La proporción relativa de timol oscila entre $39,4 \pm 3,25\%$ (correspondiente al 80% ETo) y $49,2 \pm 4,21$ (alcanzada con el 40% ETo). Letchamo y Gosselin (1995) ensayan en Canadá tres niveles diferentes de riego (90, 70 y 50% de contenido en agua del sustrato), encontrando la mayor concentración de timol (85,5%) en las plantas que crecen con el nivel intermedio de humedad, y bajo un régimen de luz natural suplementada con luz artificial. Por su parte, Baranauskienė *et al.* (2003), trabajando con *Th. vulgaris* en Lituania, refieren porcentajes de timol que alcanzan el 58,1%, resultado que, como en nuestro caso, corresponde a la segunda recolección del segundo año de cultivo.

Por lo que se refiere a los epóxidos, el más abundante es el óxido de cariofileno, cuyo porcentaje se eleva significativamente con el aporte hídrico correspondiente al 80% de la ETo, aunque tal porcentaje no es diferente del alcanzado con el 60%.

Finalmente, la cantidad de 1,8-cineol es equivalente con todos los tratamientos de riego, obteniéndose el mejor promedio con el correspondiente al 20% de la ETo.

Como se puede deducir de estos resultados, la calidad de estos aceites, determinada por su contenido en timol, no se ve afectada con aportes bajos de agua, resultando incluso perjudicial un suplemento hídrico muy elevado.

III. 3. 5. 1. 2. Primavera 2003.

La Tabla III.3–7 refleja las concentraciones relativas determinadas para los constituyentes del aceite esencial extraído a las plantas recolectadas el tercer año de cultivo.

En esta recolección, los análisis estadísticos detectan diferencias significativas en base al aporte hídrico suministrado en cuatro componentes, los cuales no coinciden en ningún caso con aquellos que manifestaban tales diferencias en 2002.

En 2003 no hay respuesta condicionada por el riego entre los terpenos. El p-cimeno, en esta cosecha, presenta su mejor promedio con el nivel de agua más elevado, al igual que en 2002, pero las diferencias con el resto de tratamientos ya no son tan notables. A pesar de tratarse de plantas seleccionadas, algunos componentes, como γ -terpineno, muestran una elevada desviación estándar, lo cual complica la interpretación del efecto real de los distintos niveles de riego.

En cuanto a los alcoholes, que en 2002 no presentaban diferencias en sus concentraciones al comparar los distintos tratamientos, se detectan en 2003 dos casos en los que sí se manifiestan esas diferencias. Se trata del 3-octanol, cuyos porcentajes mejoran significativamente si la plantación recibe los suplementos hídricos correspondientes al 80 y 60% de la ETo; y el (*E*)-verbenol, que se detecta sólo en trazas cuando el riego aplicado es el más bajo de los ensayados, siendo este valor significativamente inferior al que se logra con el 60 y 40% de la ETo.

Entre los aldehídos, sin embargo, no se aprecian diferencias significativas entre tratamientos en esta recolección. El decanal incrementa su presencia en el aceite respecto a 2002 con el 80% de la ETo, pasando de trazas a un promedio de 0,02%, por lo que las diferencias detectadas en el primer año de ensayo quedan compensadas.

Lo mismo ocurre con las cetonas, que presentan unos resultados bastante similares a los de 2002. El alcanfor eleva sus promedios respecto al año anterior con todos los suplementos hídricos, salvo el correspondiente al 80% de la ETo, pero mantiene una marcada desviación estándar.

Tabla III.3–7. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. vulgaris*, en función del aporte hídrico (Primavera 2003).

COMPONENTES	I. R.	% ETo			
		80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Hidrocarburos Terpénicos					
Triciclono*	931	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,02 ± 0,01
α-Tujeno*	940	0,90 ± 0,18	0,79 ± 0,23	0,83 ± 0,07	0,85 ± 0,42
α-Pineno	949	0,74 ± 0,15	0,70 ± 0,16	0,80 ± 0,13	0,71 ± 0,18
Canfeno	969	0,47 ± 0,17	0,59 ± 0,24	0,78 ± 0,28	0,61 ± 0,24
Verbeneno*	976	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
Sabineno	1001	tr	tr	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
β-Pineno	1007	0,25 ± 0,03	0,23 ± 0,05	0,25 ± 0,04	0,24 ± 0,05
Mirceno	1026	1,42 ± 0,19	1,24 ± 0,36	1,40 ± 0,13	1,49 ± 0,38
α-Felandreno	1042	0,10 ± 0,03	0,06 ± 0,02	0,10 ± 0,01	0,12 ± 0,05
Δ ₃ -Careno	1048	0,09 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,09 ± 0,00	0,09 ± 0,02
α-Terpineno	1058	0,90 ± 0,27	0,57 ± 0,26	0,74 ± 0,11	0,95 ± 0,39
p-Cimeno	1068	25,59 ± 3,75	23,70 ± 3,52	21,77 ± 3,07	20,83 ± 4,02
Limoneno	1073	0,54 ± 0,02	0,51 ± 0,06	0,52 ± 0,05	0,53 ± 0,03
(Z)-β-Ocimeno	1086	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,03 ± 0,03	0,01 ± 0,00
(E)-β-Ocimeno*	1097	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,01
γ-Terpineno	1109	4,97 ± 2,78	1,95 ± 1,27	3,64 ± 1,08	6,83 ± 3,82
Terpinoleno + (E)-Óxido de linalol	1141	0,15 ± 0,02	0,16 ± 0,03	0,14 ± 0,02	0,13 ± 0,04
α-Copaeno	1378	0,10 ± 0,05	0,08 ± 0,01	0,12 ± 0,06	0,13 ± 0,06
(E)-Cariofileno	1419	2,15 ± 0,75	1,82 ± 0,30	1,91 ± 0,78	2,27 ± 0,22
Calereno	1432	tr	tr	tr	tr
Aromadendreno	1440	tr	tr	tr	tr
α-Humuleno	1457	0,11 ± 0,04	0,08 ± 0,01	0,11 ± 0,05	0,12 ± 0,03
Aloaromadendreno	1465	0,03 ± 0,01	0,01 ± 0,00	0,03 ± 0,02	0,04 ± 0,02
Elemeno*	1481	0,10 ± 0,04	0,13 ± 0,02	0,11 ± 0,01	0,19 ± 0,07
β-Selineno*	1485	0,13 ± 0,08	0,17 ± 0,07	0,14 ± 0,05	0,16 ± 0,04
Valenceno	1510	0,07 ± 0,02	0,07 ± 0,01	0,08 ± 0,02	0,09 ± 0,02
α-Muuroleno*	1516	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,02	0,05 ± 0,01
γ-Cadineno*	1537	0,22 ± 0,10	0,16 ± 0,03	0,23 ± 0,12	0,22 ± 0,10
δ-Cadineno	1553	0,25 ± 0,06	0,24 ± 0,02	0,27 ± 0,08	0,28 ± 0,05
Alcoholes					
Butanol	742	tr	tr	tr	tr
1-Penten-3-ol	747	tr	tr	tr	tr
3-Metil-3-buten-1-ol	766	0,01 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01
3-Penten-2-ol*	784	tr	tr	tr	tr
(Z)-3-Hexen-1-ol	852	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,02 ± 0,01
Hexanol + m-Xileno	867	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,01
1-Octen-3-ol	1009	0,85 ± 0,32	1,05 ± 0,40	0,63 ± 0,31	0,45 ± 0,05
3-Octanol	1031	0,08 ± 0,01 ^a	0,09 ± 0,04 ^a	0,05 ± 0,02 ^b	0,04 ± 0,02 ^b
(E)-Hidrato de sabineno	1116	0,84 ± 0,20	0,73 ± 0,04	0,82 ± 0,11	0,97 ± 0,28
(Z)-Hidrato de sabineno*	1151	0,17 ± 0,04	0,17 ± 0,03	0,17 ± 0,02	0,17 ± 0,04
Linalol	1152	2,54 ± 0,37	2,53 ± 1,29	2,13 ± 0,21	2,21 ± 0,50
(E)-Pinocarveol	1186	0,02 ± 0,00	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,02 ± 0,00
(Z)-Verbenol	1189	0,03 ± 0,01	0,06 ± 0,04	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,02
(E)-Verbenol*	1197	0,02 ± 0,01 ^{ab}	0,03 ± 0,01 ^a	0,04 ± 0,01 ^a	tr ^b

Tabla III.3-7 (continuación)

COMPONENTES	I. R.	% ETo			
		80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Alcoholes (continuación)					
Isoborneol	1203	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
Borneol	1211	1,06 ± 0,62	1,16 ± 0,69	1,41 ± 0,97	1,87 ± 1,95
Terpinen-4-ol	1220	0,64 ± 0,15	0,79 ± 0,17	0,61 ± 0,05	0,54 ± 0,15
p-Cimen-8-ol	1227	0,13 ± 0,03	0,17 ± 0,06	0,13 ± 0,03	0,09 ± 0,06
α-Terpineol	1231	0,26 ± 0,07	0,22 ± 0,04	0,24 ± 0,05	0,23 ± 0,07
Carveol	1252	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,00
Nerol + Citronelol	1260	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
Geraniol + Acetato de linalilo	1281	0,12 ± 0,04	0,12 ± 0,05	0,14 ± 0,05	0,15 ± 0,07
Espatulanol	1640	0,04 ± 0,04	0,03 ± 0,01	0,04 ± 0,03	0,02 ± 0,02
Aldehídos					
(E)-2-butenal*	735	tr	tr	tr	tr
Pentanal	754	tr	tr	tr	tr
Hexanal + Butirato de etilo	802	tr	tr	tr	tr
Furfural	832	tr	tr	tr	tr
(E)-2-Hexenal	849	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,00
Heptanal	904	tr	tr	tr	tr
Benzaldehído	987	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,00	tr
Nonanal	1157	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,01
Mirtenal + Dihidrocarvona	1235	0,11 ± 0,03	0,13 ± 0,05	0,12 ± 0,01	0,07 ± 0,06
Decanal	1243	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,00
Cuminaldehído	1268	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,02	0,02 ± 0,01	0,04 ± 0,00
Neral + Carvona	1270	tr	tr	tr	tr
Geranial + Perialdehído	1292	0,04 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,04 ± 0,01
Cetonas					
3-Hexanona	795	tr	tr	tr	tr
3-Heptanona*	888	tr	tr	tr	tr
3-Octanona	1019	0,06 ± 0,02	0,04 ± 0,02	0,04 ± 0,03	0,04 ± 0,04
β-Tujona	1158	0,01 ± 0,00	0,02 ± 0,02	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,01
Alcanfor	1193	0,23 ± 0,23	0,68 ± 0,56	0,86 ± 0,69	0,34 ± 0,28
Pinocarvona*	1208	0,03 ± 0,00	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01
Verbenona	1245	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,00	0,01 ± 0,00
Timoquinona	1276	0,01 ± 0,01	0,04 ± 0,02	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,02
(Z)-Jasmona	1399	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,00	0,02 ± 0,01
α-Ionona	1428	0,04 ± 0,02	0,05 ± 0,02	0,05 ± 0,01	0,06 ± 0,02
β-Ionona	1497	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00
Ésteres					
Acetato de etilo	732	tr	tr	tr	tr
2-Metilbutirato de metilo*	791	0,20 ± 0,10	0,17 ± 0,06	0,13 ± 0,01	0,11 ± 0,08
Acetato de bencilo	1214	0,13 ± 0,02 ^a	0,11 ± 0,01 ^{ab}	0,09 ± 0,03 ^b	0,13 ± 0,01 ^a
Caprilato de etilo	1239	0,03 ± 0,02	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,01 ± 0,00
Acetato de bornilo	1302	0,27 ± 0,10	0,28 ± 0,05	0,26 ± 0,05	0,28 ± 0,05
Acetato de terpenilo	1353	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,01
Acetato de timilo*	1356	0,03 ± 0,02	0,04 ± 0,03	0,02 ± 0,00	0,03 ± 0,03
Acetato de nerilo	1366	tr	tr	tr	tr

Tabla III.3-7 (continuación)

COMPONENTES	I. R.	% ETo			
		80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Ésteres (continuación)					
Acetato de geranilo	1385	0,05 ± 0,02	0,06 ± 0,02	0,05 ± 0,01	0,08 ± 0,03
Caprilato de butilo	1388	0,03 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,03 ± 0,02	0,02 ± 0,01
Fenoles					
Éter metílico de timol	1265	0,06 ± 0,01 ^a	0,07 ± 0,01 ^a	0,09 ± 0,02 ^b	0,07 ± 0,02 ^a
Éter metílico de carvacrol	1272	0,82 ± 0,70	1,28 ± 0,43	1,41 ± 0,61	0,84 ± 0,44
Timol	1308	44,24 ± 5,09	49,03 ± 2,84	49,20 ± 5,38	46,74 ± 2,93
Carvacrol	1314	2,57 ± 0,34	2,84 ± 0,40	2,36 ± 0,38	2,58 ± 0,48
Eugenol	1358	0,04 ± 0,02	0,04 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01
Metil eugenol	1408	0,01 ± 0,01	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,01	tr
(<i>E</i>)-Isoeugenol	1453	tr	tr	0,02 ± 0,02	tr
Epóxidos					
(<i>Z</i>)-Óxido de linalol	1123	0,03 ± 0,01	0,04 ± 0,02	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,02
Óxido de cariofileno	1650	0,98 ± 0,42	1,24 ± 0,47	0,81 ± 0,14	0,93 ± 0,37
Éter					
1,8-Cineol	1076	0,91 ± 0,55	0,40 ± 0,42	0,74 ± 0,46	0,81 ± 0,51

^{a,b} Valores con distinto superíndice en la misma línea presentan diferencias estadísticamente significativas, de acuerdo con el test de la Menor Diferencia Significativa de Fisher ($P < 0,05$).

± Desviación estándar.

* Identificación tentativa.

I. R. Índices de Kovats (HP-5).

tr = trazas (< 0.01%).

Otro de estos compuestos, la (*Z*)-jasmona, experimenta una evolución contraria, disminuyendo sus porcentajes medios en la recolección de 2003 con todos los niveles de agua.

Con relación a los ésteres, en esta cosecha se ve afectada por el riego la síntesis de acetato de bencilo, resultando el 40% de la ETo el tratamiento significativamente menos favorable. Como se puede observar, los resultados que se derivan de la aplicación de los suplementos hídricos extremos (80 y 20% ETo) son muy similares. Por su parte, el acetato de bornilo no modifica sus porcentajes en base al riego, como sucede en 2002. Dicho éster presenta unas cantidades relativas bastante uniformes en la primavera de 2003.

Algo parecido ocurre con el timol, cuyas proporciones oscilan entre la obtenida con el 80% de la ETo ($44,2 \pm 5,09\%$), y la correspondiente al 40% ($49,2 \pm 5,38\%$). Como se puede apreciar, tales cantidades no difieren excesivamente, lo que indica que se ha atenuado el efecto del riego que provocaba las diferencias observadas en 2002 con este fenol. Sin embargo, tales diferencias se observan en 2003 con el éter metílico de timol, que mejora significativamente su concentración con el 40% de la ETo, obteniéndose valores equiparables con los otros tres tratamientos hídricos.

Respecto a los epóxidos, no hay respuesta dependiente del riego en 2003, como tampoco la hay con el 1,8-cineol, que muestra también una considerable desviación estándar.

En este segundo año de ensayo, por lo observado con el timol, es indiferente regar con más o menos agua para garantizar la calidad del aceite esencial.

III. 3. 5. 1. 3. Primavera 2004.

Con *Th. vulgaris*, como se ha venido mencionando, en 2004 se analiza el mismo número de plantas que en los dos años anteriores (48 en total, 12 por tratamiento). En el caso de este cultivar, la finalidad de la recolección de 2004 es realizar un seguimiento de la respuesta de las plantas ante un nuevo ciclo de desarrollo.

En la Tabla III.3–8 se presentan los resultados de esos análisis para los 41 componentes incluidos en la misma.

Son 18 los hidrocarburos terpénicos cuya concentración supera o iguala el 0,1%, de los cuales sólo uno, el elemeno, presenta diferencias en función del riego en el último año de ensayo. Este componente alcanza

con el tratamiento correspondiente al 20% de la ETo un porcentaje significativamente superior a los conseguidos con el 80, 60 y 40%, iguales entre sí. Sus cantidades relativas, en general, se reducen respecto a las de 2002 y 2003.

Dentro de este grupo químico destacan por su presencia en el aceite esencial analizado en 2004 componentes como α -tujeno, mirceno, α -terpineno, p-cimeno, γ -terpineno y (*E*)-cariofileno. El contenido en p-cimeno disminuye de un año a otro con todos los tratamientos, en tanto que con γ -terpineno, su precursor en la ruta que conduce a la síntesis de timol y carvacrol, ocurre lo contrario.

En los tres años de ensayo, la producción de terpenos no se ha visto afectada en exceso por el riego, ya que tan solo uno de estos componentes muestra una respuesta condicionada por el mismo en 2002 (p-cimeno), en tanto que ninguno de ellos presenta tal respuesta en 2003.

Sólo en un alcohol, el (*E*)-hidrato de sabineno, la prueba ANOVA determina la existencia de diferencias entre tratamientos en 2004 y, tras aplicar el test de Fisher, comprobamos que regar con el menor suplemento hídrico eleva significativamente el porcentaje alcanzado respecto al 60 y 40% de la ETo. Dicho componente es uno de los alcoholes más abundantes, y en general los promedios obtenidos este año se incrementan respecto a los dos años precedentes, especialmente si se comparan con los de 2002. Los dos integrantes más importantes de este grupo químico, linalol y borneol, no se han visto afectados por el riego en ninguna recolección, y sus porcentajes no varían demasiado de una recolección a otra.

Mirtenal, que eluye junto a dihidrocarvona, y alcanfor son los únicos representantes de aldehídos y cetonas considerados en 2004. En ninguno de ellos se aprecian diferencias con significación estadística en base al tratamiento hídrico aplicado en este año, como tampoco las hay en 2002 ni 2003. El alcanfor se caracteriza por la elevada desviación estándar que lo acompaña en todos casi los casos.

Tabla III.3–8. Composición porcentual del aceite esencial de *Th. vulgaris*, en función del aporte hídrico (Primavera 2004).

COMPONENTES	I. R.	% ETo			
		80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
Hidrocarburos Terpénicos					
α -Tujeno*	940	0,59 \pm 0,31	0,84 \pm 0,47	0,92 \pm 0,01	0,54 \pm 0,46
α -Pino	949	0,43 \pm 0,22	0,63 \pm 0,37	0,75 \pm 0,04	0,36 \pm 0,30
Canfeno	969	0,35 \pm 0,22	0,61 \pm 0,43	0,76 \pm 0,26	0,24 \pm 0,15
β -Pino	1007	0,17 \pm 0,06	0,20 \pm 0,08	0,21 \pm 0,03	0,16 \pm 0,08
Mirceno	1026	1,23 \pm 0,42	1,22 \pm 0,40	1,45 \pm 0,05	1,27 \pm 0,44
α -Felandreno	1042	0,12 \pm 0,05	0,10 \pm 0,04	0,14 \pm 0,01	0,14 \pm 0,05
α -Terpino	1058	0,91 \pm 0,41	0,68 \pm 0,33	0,92 \pm 0,14	1,05 \pm 0,39
p-Cimeno	1068	16,90 \pm 3,20	19,13 \pm 4,28	15,32 \pm 1,37	13,70 \pm 2,03
Limoneno	1073	0,44 \pm 0,10	0,46 \pm 0,06	0,48 \pm 0,03	0,42 \pm 0,07
γ -Terpino	1109	7,78 \pm 5,05	4,03 \pm 2,59	6,29 \pm 2,30	10,00 \pm 3,63
Terpinoleno + (E)-Óxido de linalol	1141	0,12 \pm 0,02	0,14 \pm 0,02	0,12 \pm 0,01	0,10 \pm 0,02
(E)-Cariofileno	1419	2,84 \pm 1,20	2,02 \pm 0,27	1,84 \pm 0,58	3,51 \pm 0,92
α -Humuleno	1457	0,16 \pm 0,06	0,09 \pm 0,02	0,11 \pm 0,04	0,18 \pm 0,04
Elemeno*	1481	0,10 \pm 0,03 ^a	0,09 \pm 0,03 ^a	0,09 \pm 0,02 ^a	0,17 \pm 0,03 ^b
β -Selineno*	1485	0,12 \pm 0,07	0,09 \pm 0,01	0,11 \pm 0,02	0,14 \pm 0,03
Valenceno	1510	0,08 \pm 0,03	0,08 \pm 0,02	0,07 \pm 0,02	0,10 \pm 0,01
γ -Cadineno*	1537	0,18 \pm 0,06	0,13 \pm 0,02	0,17 \pm 0,11	0,29 \pm 0,17
δ -Cadineno	1553	0,22 \pm 0,07	0,20 \pm 0,03	0,21 \pm 0,04	0,27 \pm 0,02
Alcoholes					
1-Octen-3-ol	1009	0,65 \pm 0,19	0,77 \pm 0,40	0,43 \pm 0,14	0,41 \pm 0,10
(E)-Hidrato de sabineno	1116	0,95 \pm 0,14 ^{ab}	0,76 \pm 0,21 ^{bc}	0,67 \pm 0,15 ^c	1,07 \pm 0,15 ^a
(Z)-Hidrato de sabineno*	1151	0,13 \pm 0,04	0,12 \pm 0,04	0,08 \pm 0,02	0,13 \pm 0,06
Linalol	1152	2,37 \pm 0,35	2,36 \pm 1,20	2,12 \pm 0,53	2,09 \pm 0,50
Borneol	1211	1,25 \pm 0,64	1,38 \pm 0,60	1,34 \pm 0,92	1,02 \pm 0,61
Terpino-4-ol	1220	0,54 \pm 0,09	0,70 \pm 0,12	0,61 \pm 0,06	0,50 \pm 0,15
p-Cimeno-8-ol	1227	0,09 \pm 0,04	0,12 \pm 0,05	0,09 \pm 0,01	0,09 \pm 0,09
α -Terpineol	1231	0,25 \pm 0,05	0,19 \pm 0,04	0,21 \pm 0,06	0,23 \pm 0,13
Geraniol + Acetato de linalilo	1281	0,08 \pm 0,02	0,08 \pm 0,02	0,08 \pm 0,07	0,11 \pm 0,08
Aldehídos					
Mirtenal + Dihidrocarvona	1235	0,11 \pm 0,04	0,12 \pm 0,04	0,09 \pm 0,01	0,09 \pm 0,04
Cetonas					
Alcanfor	1193	0,25 \pm 0,22	0,55 \pm 0,55	0,87 \pm 0,71	0,27 \pm 0,25
Ésteres					
2-Metilbutirato de metilo*	791	0,09 \pm 0,04	0,15 \pm 0,06	0,11 \pm 0,02	0,09 \pm 0,07
Acetato de bencilo	1214	0,12 \pm 0,02 ^a	0,10 \pm 0,02 ^a	0,06 \pm 0,01 ^b	0,12 \pm 0,03 ^a
Acetato de bornilo	1302	0,21 \pm 0,09	0,16 \pm 0,04	0,16 \pm 0,02	0,15 \pm 0,04
Fenoles					
Éter metílico de timol	1265	0,06 \pm 0,01	0,07 \pm 0,02	0,08 \pm 0,01	0,08 \pm 0,04
Éter metílico de carvacrol	1272	0,92 \pm 0,45 ^{ab}	1,64 \pm 0,74 ^a	1,42 \pm 0,53 ^a	0,50 \pm 0,42 ^b
Timol	1308	50,90 \pm 5,82	52,49 \pm 5,54	55,31 \pm 2,89	52,04 \pm 2,70
Carvacrol	1314	2,62 \pm 0,52	2,35 \pm 0,19	2,12 \pm 0,48	2,60 \pm 0,47
Epóxidos					
Óxido de cariofileno	1650	1,05 \pm 0,76	1,03 \pm 0,39	0,57 \pm 0,17	0,82 \pm 0,56

Tabla III.3-8 (continuación)

COMPONENTES	I. R.	% ETo			
		80 (81)	60 (63)	40 (44)	20 (30)
<i>Éter</i>					
1,8-Cineol	1076	0,70 ± 0,39	0,35 ± 0,34	0,42 ± 0,37	0,99 ± 0,96

^{a,b,c} Valores con distinto superíndice en la misma línea presentan diferencias estadísticamente significativas, de acuerdo con el test de la Menor Diferencia Significativa de Fisher ($P < 0,05$).

± Desviación estándar.

* Identificación tentativa.

I. R. Índices de Kovats (HP-5).

Entre los ésteres, encontramos que el acetato de bencilo presenta en el último año de estudio un porcentaje significativamente inferior con el tratamiento correspondiente al 40% de la ETo, en tanto que 80, 60 y 20% resultan ser igualmente efectivos para la síntesis de este componente. Dicho éster también muestra diferencias en función del aporte hídrico en 2003, con una tendencia similar a la de 2004. Por lo que respecta al más abundante de estos constituyentes, el acetato de bornilo, sus proporciones relativas descienden respecto a las de 2002 y 2003, siendo este descenso menos acusado con el 80% de la ETo.

El comportamiento frente al riego de los ésteres parece mostrar una cierta pauta ya que, en los casos en los que existen diferencias entre tratamientos, el resultado es mejor con los aportes hídricos extremos (80 y 20% de la ETo), lo que podría implicar una activación de la síntesis de estos componentes como respuesta al estrés hídrico, por exceso o por defecto. No obstante, considerando que la concentración de la mayor parte de estos constituyentes del aceite esencial no se ve afectada por el riego, además de que la variabilidad química que muestran estas plantas puede estar interfiriendo en los valores obtenidos con los mismos, esta tendencia debe ser contrastada con nuevos análisis.

De los cuatro fenoles incluidos en la tabla anterior, únicamente con el éter metílico de carvacrol se aprecia una conducta condicionada por la cantidad de agua aplicada, determinándose que regar con el menor

suplemento hídrico proporciona una concentración relativa de este componente significativamente inferior a las que se obtienen con el 60 y 40% de la ETo. Con el 20%, este fenol reduce su presencia en el aceite esencial respecto a 2002 y 2003.

El timol, por su parte, alcanza en 2004 el mejor promedio con el 40% de la ETo, pero no hay diferencias entre los cuatro niveles de humedad en lo que respecta a la síntesis de este componente, como ya ocurriera en 2003.

Dada la importancia de este fenol, y a pesar de que no se ha llevado a cabo un estudio de variabilidad con este cultivar, se ha realizado un examen de su contenido entre las distintas plantas analizadas, el cual aparece reflejado en la Figura III.3–6.

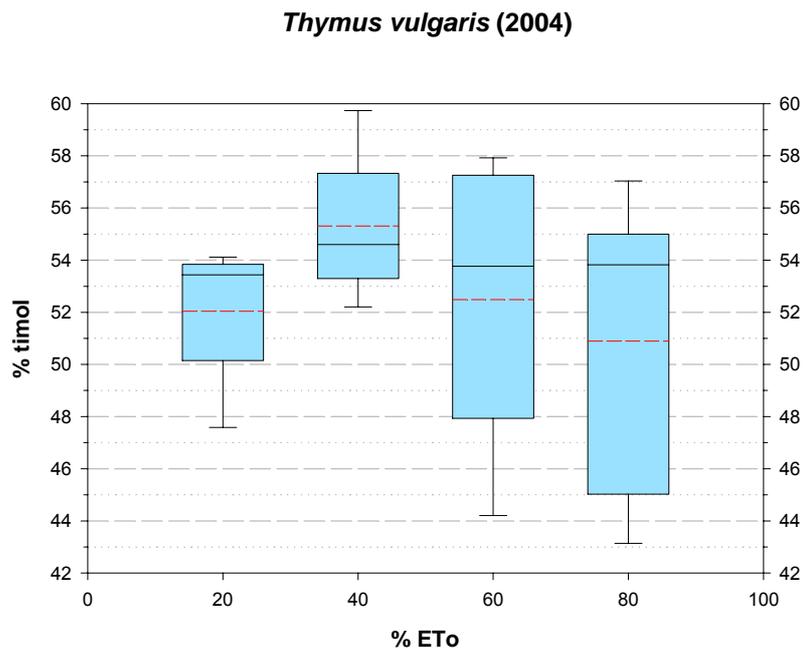


Fig. III.3–6. Distribución de las plantas según su contenido en timol.

Se puede advertir que, el promedio más bajo, representado por una línea roja discontinua, corresponde al 80% de la ETo. Sin embargo, con este tratamiento, el 50% de las plantas presentan una concentración relativa de timol igual o inferior a 53,8%. Este valor de la mediana es muy

similar al que se obtiene con el 60%, y sólo ligeramente superior del que se deriva de aplicar el menor suplemento hídrico (53,4%). Por lo que respecta al 40% ETo, la mediana (54,6%) está por encima de lo observado en el resto de tratamientos. Esto indica que entre las plantas que han estado recibiendo el agua necesaria para compensar el 40% de la ETo, se detectan porcentajes de timol que pueden superar el 55% en un número superior al que podemos encontrar en las parcelas regadas con el 80, 60 ó 20%, aunque la diferencia no resulte ser significativa.

El carvacrol, componente que también destaca por su importancia, no presenta una respuesta condicionada por el riego en ninguna recolección.

Finalmente, señalar que en 2004 ni los epóxidos más abundantes en esta labiada, ni el único éter identificado, se muestran afectados por el suplemento hídrico aplicado.

De todo lo expuesto se deduce que no es necesario procurar niveles elevados de agua a este cultivar para garantizar la calidad de su aceite esencial, llegando incluso a mejorar el contenido en timol con aportes hídricos relativamente bajos. No obstante, considerando que estas plantas han sido seleccionadas en base a su producción de biomasa, lo que justifica el escaso rendimiento en aceite que se obtiene a partir de las mismas, no parece oportuno reducir el aporte hídrico hasta valores inferiores a los necesarios para compensar el 60% de la ETo, ya tal reducción podría afectar a la generación de material vegetal.

Por otra parte, al tratarse de plantas generadas para su desarrollo en cultivo, no se manifiesta en ellas el proceso de adaptación que se observa en *Th. hyemalis* y *Th. zygis* en 2003 y 2004 respecto a 2002, que presentan un número sensiblemente inferior de componentes afectados por el riego en los dos últimos años de ensayo. En el caso de *Th. vulgaris*, tan solo un escaso número de constituyentes volátiles responde aumentando o disminuyendo significativamente su concentración relativa ante los distintos suministros de agua en cualquiera de las recolecciones

estudiadas. Es un hecho que una adecuada selección puede proporcionar individuos que toleran bien distintas condiciones de crecimiento, lo cual contribuye a asegurar el éxito del cultivo.

Como punto final, nos detendremos en analizar si el transcurso de las recolecciones influye en la síntesis de los principales componentes del aceite esencial de estas plantas, al igual que se ha hecho con las dos especies anteriores.

Para ello, se representan gráficamente los porcentajes correspondientes a timol y carvacrol que aparecen reflejados en las Tablas III.3–6 a III.3–8, con el fin de examinar el comportamiento de tales componentes en los tres años de estudio con cada uno de los aportes hídricos suministrados. Los resultados de este análisis conjunto aparecen en la Figura III.3–7.

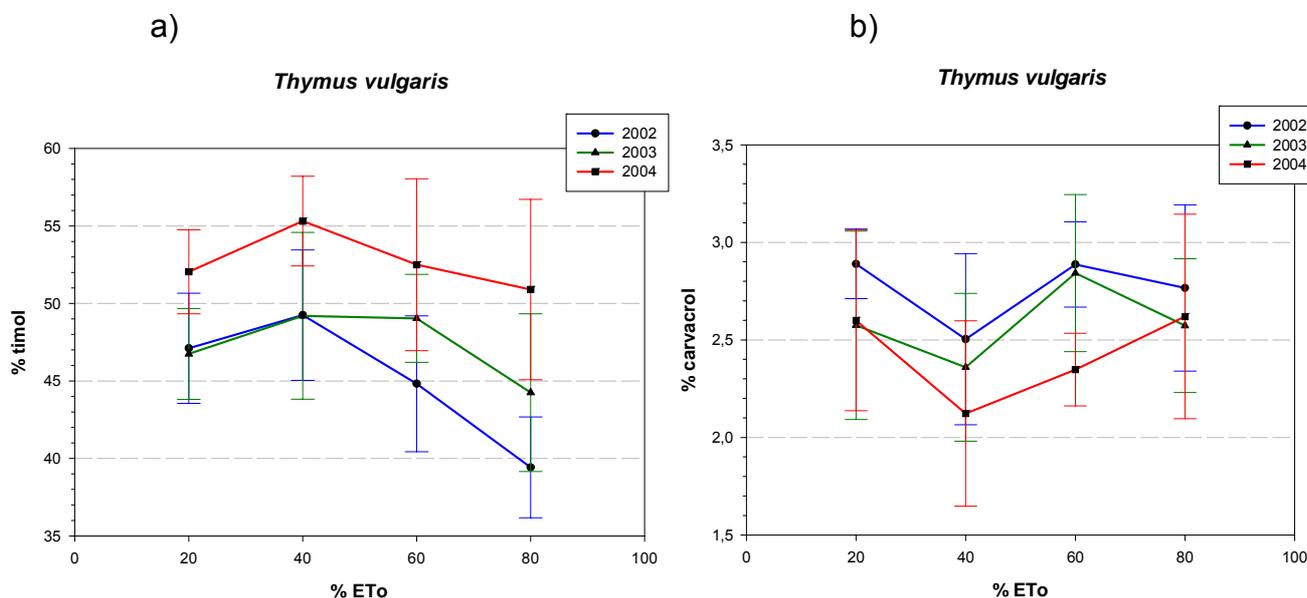


Fig. III.3–7. Evolución de la síntesis de compuestos fenólicos.

El contenido en timol (Figura III.3–7a), en general, tiende a aumentar con el transcurso de las recolecciones, lo cual es importante considerando que se trata del componente más valioso de estos aceites. Analizando estadísticamente este hecho, comprobamos que las diferencias entre los tres años sólo son sustanciales si el nivel de agua suministrado es el necesario para compensar el 80% de la ETo. Con dicho riego, los porcentajes de timol determinados en 2004 superan significativamente a los de 2002, no apreciándose diferencias entre estas dos cosechas y la de 2003.

Por último, el carvacrol (Figura III.3–7b), únicamente muestra diferencias entre las tres cosechas si el aporte hídrico administrado corresponde al 60% de la ETo. Con esta cantidad de agua, las recolecciones de 2002 y 2003 proporcionan concentraciones del fenol que superan significativamente a las de 2004. La aplicación de los otros tratamientos conduce a resultados homogéneos al comparar todas las siegas.

IV. CONCLUSIONES

PRIMERA. *Thymus hyemalis* y *Th. zygis* subsp. *gracilis* no requieren para su adecuado desarrollo una excesiva cantidad de agua, debiéndose señalar además que un riego abundante puede acabar originando un descenso en la productividad de estos tomillos, al incrementar su mortalidad. Tal incremento es menos acusado en *Th. vulgaris*.

SEGUNDA. La baja tasa de mortalidad detectada en el cultivar empleado como referencia agronómica confirma la necesidad de llevar a cabo una selección de las especies autóctonas en base a su resistencia a las siegas, así como a su producción de fitomasa y al rendimiento y calidad de su aceite esencial.

TERCERA. Partiendo de plantas seleccionadas, es factible aumentar el marco de plantación, reduciendo la densidad poblacional propuesta inicialmente en este ensayo. Los tomillos cultivados en estas condiciones podrían alcanzar mayor tamaño, por lo que no se originarían mermas en la producción.

CUARTA. Se ha comprobado que el porcentaje de aceite esencial respecto al peso seco, calculado tras la destilación de las plantas individuales, mejora sustancialmente con aportes hídricos bajos.

QUINTA. Respecto a la composición química de tales aceites, destaca la notable variabilidad intraespecífica detectada en estas labiadas. El proceso de síntesis de los constituyentes de los aceites esenciales se traduce en porcentajes de los mismos que oscilan en márgenes más o menos amplios.

Si se modifica el medio en el que crecen, las plantas responden aumentando o disminuyendo la producción de algunos de sus componentes volátiles. No obstante, transcurrido un tiempo, se impone la predeterminación genética, mostrando los tomillos una importante capacidad de adaptación que conduce a la recuperación de los niveles de síntesis habituales en cada especie.

SEXTA. En la recolección de invierno de *Th. hyemalis*, suministrar a la plantación el riego necesario para compensar el 20% de la ETo es suficiente para obtener una excelente producción de biomasa, y un aceite esencial provechoso en cuanto a rendimiento y calidad, ya que a medida que transcurren las recolecciones, la síntesis de timol y carvacrol se ve favorecida con suministros de agua escasos.

SÉPTIMA. En la segunda recolección anual de esta especie, la correspondiente a primavera, mantener el riego equivalente al 40% de la ETo sería lo más conveniente, con el fin de facilitar el rebrote y la consecución de una buena cosecha, tanto en cantidad de fitomasa como, transcurrido un tiempo, en calidad del aceite esencial.

OCTAVA. Respecto a *Th. zygis* subsp. *gracilis*, en lo que se refiere a la producción de material en fresco, esta labiada manifiesta un comportamiento en cultivo que implica unos mayores requerimientos hídricos durante el primer año de explotación, aunque tales requerimientos se reducen si consideramos el rendimiento en material desecado, más importante a nivel comercial. Un riego equivalente al 40% de la ETo es suficiente para asegurar una óptima cosecha en todos los ámbitos, incluida la calidad de su aceite esencial, que queda garantizada con suplementos hídricos reducidos. La aplicación de niveles de agua elevados no mejora las concentraciones relativas que alcanzan los componentes más relevantes de dichos aceites.

NOVENA. El riego más indicado para el cultivar de *Th. vulgaris* ensayado es el necesario para compensar el 60% de la ETo, ya que dicho aporte hídrico mejora la producción por hectárea de las diferentes materias primas sin provocar un incremento excesivo de la mortalidad de las plantas. A pesar de que estas labiadas tampoco precisan grandes cantidades de agua para asegurar la calidad de su aceite esencial, el 60% de la ETo parece ser también un nivel de humedad adecuado en este

aspecto, al proporcionar desde el primer año de ensayo porcentajes de timol equiparables con los obtenidos en años posteriores.

DÉCIMA. Las condiciones medioambientales de la Región de Murcia son adecuadas para desarrollar con éxito el cultivo de distintas especies del género *Thymus*, especialmente tomillos autóctonos como *Th. hyemalis* o *Th. zygis* subsp. *gracilis*. Su excelente adaptación a suplementos hídricos mínimos favorece la implantación de ambos como alternativa a los cultivos tradicionales en nuestra Región, cuyas condiciones semiáridas aconsejan el desarrollo de plantaciones que no conlleven un excesivo consumo de agua. Por esta misma razón, el cultivo de *Th. vulgaris* comercial de Provenza no es lo más conveniente en esta zona, habida cuenta de que los tomillos autóctonos se desarrollan satisfactoriamente con niveles bajos de humedad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adzet, T., Granger, R., Passet, J., San Martín, R., Simón, M. (1976a). Les huiles essentielles de *Thymus vulgaris* L. spontané de France et d'Espagne. *Pharmacia mediterranea*, XI.

Adzet, T., Granger, R., Passet, J., San Martín, R., Simón, M. (1976b). Chimiotypes de *Thymus hyemalis* Lange. *Plantes Medicinales et Phytothérapie*, vol. X (1): 6-15.

Aeschbach, R., Löliger, J., Scott, B. C., Murcia, A., Butler, J., Halliwell, B., Aruoma, O. I. (1994). Antioxidant actions of thymol, carvacrol, 6-gingerol, zingerone and hydroxytyrosol. *Food and Chemical Toxicology*, vol. 32 (1): 31-36.

Alcaraz, F., Sánchez-Gómez, P., Correal, E. (1989). Catálogo de plantas aromáticas, condimentarias y medicinales de la Región de Murcia. Monografía INIA nº 67: 156 pp.

Alzoreky, N. S., Nakahara, K. (2003). Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. *International Journal of Food Microbiology*, vol. 80 (3): 223-230.

Amiot, J., Salmon, Y., Collin, C., Thompson, J. D. (2005). Differential resistance to freezing and spatial distribution in a chemically polymorphic plant *Thymus vulgaris*. *Ecology Letters*, vol. 8 (4): 370-377.

Angelini, L. G., Carpanese, G., Cioni, P. L., Morelli, I., Macchia, M., Flamini, G. (2003). Essential oils from Mediterranean Lamiaceae as weed germination inhibitors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 51: 6158-6164.

Asllani U., Toska, V. (2003). Chemical composition of Albanian thyme oil (*Thymus vulgaris* L.). *Journal of Essential Oil Research*, vol. 15 (3): 165-167.

Aydin, S., Bařaran, A., Bařaran, N. (2005). The effects of thyme volatiles on the induction of DNA damage by the heterocyclic amine IQ and mitomycin C. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, vol. 581 (1-2): 43-53.

Bagamboula, C. F., Uyttendaele, M., Debevere, J. (2004). Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. *Food Microbiology*, vol. 21 (1): 33-42.

Bandoni, A. L. (1994). Genetic botanical resources: a challenge for man. *Chronica Horticulturae*, vol. 34 (2): 6-7.

Baranauskienė, R., Venskutonis, P. R., Viřkelis, P., Dambrauskienė, E. (2003). Influence of nitrogen fertilizers on the yield and composition of thyme (*Thymus vulgaris*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 51: 7751-7758.

Bellardi, M. G., Rubies-Autonell, C. (2001). First report of *Broad bean wilt virus* on Thyme (*Thymus vulgaris* L.). *Plant Disease*, vol. 85: 99.

Bennet, R. N., Wallsgrove, R. M. (1994). Secondary metabolism in plant defence mechanisms. *New Phytologist*, vol. 127: 617-633.

Bhaskara Reddy, M. V., Angers, P., Gosselin, A. and Arul, J. (1998). Characterization and use of essential oil from *Thymus vulgaris* against *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer* in strawberry fruits. *Phytochemistry*, vol. 47 (8): 1515-1520.

Blanco, J., Vázquez, F. M., Ruiz, T. (2007). Revisión de los géneros *Thymbra* L. y *Thymus* L. (Lamiaceae) en Extremadura (España). *Folia Botanica Extremadurensis*, vol 1: 27-53.

Blanquer, A., Boira, H., Soler, V., Pérez, I. (1998). Variability of the essential oil of *Thymus piperella*. *Phytochemistry*, vol. 47 (7): 1271-1276.

Boira, H., Blanquer, A. (1998). Environmental factors affecting chemical variability of essential oils in *Thymus piperella* L. *Biochemical Systematics and Ecology*, vol. 26: 811-822.

Buchanan, R. L., Doyle, M. P. (1997). Food borne disease significance of *Escherichia coli* O157:H7 and other enterohemorrhagic *E. coli*. *Food Technology*, vol. 51 (10): 69-76.

Burillo, J. (1990). Desarrollo experimental de las plantas aromáticas y medicinales en la Comunidad Autónoma de Aragón. Departamento de Agricultura, Ganadería y Montes. Diputación General de Aragón. Zaragoza.

Burt, S. A., Reinders, R. D. (2003). Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. *Letters in Applied Microbiology*, vol. 36: 162-167.

Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. A review. *International Journal of Food Microbiology*, vol. 94 (3): 223-253.

Burt, S. A., Vlieland, R., Haagsman, H. P., Veldhuizen, E. J. (2005). Increase in activity of essential oil components carvacrol and thymol against *Escherichia coli* O157:H7 by addition of food stabilizers. *Journal of Food Protection*, vol. 68 (5): 919-926.

Buttery, R. G., Guadagny, D. G., Ling, L.C., Seifert, R. M., Lipton, W. (1976). Additional volatile components of cabbage, broccoli and cauliflower. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 24: 829-835.

Cabo, J., Crespo, M. E., Jiménez, J., Navarro, C. (1986). A study of the essences from *Thymus hyemalis* collected in three different localities. *Fitoterapia*, vol. 57 (1): 117-119.

Cabo, J., Crespo, M. E., Jiménez, J., Navarro, C., Risco, S. (1987). Seasonal variation of essential oil yield and composition of *Thymus hyemalis*. *Planta Medica*, vol. 53 (4): 380-382.

Cabo, M. M., Cabo, J., Castillo, M. J., Cruz, T., Jiménez, J. (1989). Estudio de la esencia de *Thymus baeticus* Boiss. Actas I Jornadas Ibéricas de Plantas Medicinales, Aromáticas y de Aceites Esenciales. M. A. P.A. Madrid. pp: 269-275.

Cabo, J., Jiménez, J., Revert, A., Bravo, L. (1991). Influencia de factores ecológicos (altitud) en el contenido y composición de la esencia de dos muestras de *Thymus zygis* L. recolectadas en distintas localidades. *Ars Pharmaceutica*, vol. XXII, 2: 187-194.

Carmona, M., Valero, A., Zalacaín, I., Zalacaín, A., Salinas, M. R., (2002). Influencia del timol en la puesta de cría de la abeja melífera. *Vida Apícola*, nº 113.

Carrol, K. K., Kurowska, E. M. Guthrie, N. (1999). Use of Citrus limonoids and flavonoids as well as tocotrienols for the treatment of cancer. Int. Patent WO 9915167.

Castillo, M. J., Cabo, M. M., Cruz, T., Jiménez, J. (1991). *Thymus baeticus* Boiss.: aportación al conocimiento del polimorfismo químico de sus esencias. Actas II Jornadas Ibéricas de Plantas Medicinales, Aromáticas e Óleos essenciais, vol. 2: 201-205. Instituto Nacional de Engenharia e Tecnologia Industrial. Lisboa 1994.

Chumillas, M. (1986). Evaluación del potencial productivo de plantas aromático-medicinales en el noroeste de la Región de Murcia. Memoria de las VI Jornadas Nacionales de Plantas Medicinales, Aromáticas y Condimentarias, vol. 2: 385-395. Junta de Castilla y León. León.

Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente de la Región de Murcia. (2003). Decreto nº 50/2003, de 30 de mayo por el que se crea el Catálogo Regional de Flora Silvestre Protegida de la Región de Murcia y se dictan normas para el aprovechamiento de diversas especies forestales. BORM nº 131, martes 10 de junio de 2003. pp: 11615-11624.

Cozzi, R., Ricordy, R., Aglitti, T., Gatta, V., Perticone, P., De Salvia, R. (1997). Ascorbic acid and β -carotene as modulators of oxidative damage. *Carcinogenesis*, vol. 18 (1): 223-228.

Daferera, D. J., Ziogas, B. N., Polissiou, M. G. (2000). GC/MS Analysis of essential oils from some greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 48: 2576-2581.

Daferera, D. J., Ziogas, B. N., Polissiou, M. G. (2003). The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Crop Protection*, vol. 22 (1): 39-44.

Deans, S. G., Simpson, E., Noble, R. C., MacPherson, A., Penzes, L. (1993). Natural antioxidants from *Thymus vulgaris* (thyme) volatile oil: the beneficial effects upon mammalian lipid metabolism. *Acta Horticulturae (ISHS)* 332: 177-182.

Delpit, B., Lamy, J., Rolland, F., Chalchat, J. C., Garry, R. P. (2000). Clonal selection of sabinene hydrate-rich thyme (*Thymus vulgaris*).

Yield and chemical composition of essential oils. *Journal of Essential Oil Research*, vol. 12: 387-391.

Díaz-Maroto, M. C., Díaz-Maroto, I. J., Sánchez-Palomo, E., Pérez-Coello, M. S. (2005). Volatile components and key odorants of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) oil extracts obtained by simultaneous distillation-extraction and supercritical fluid extraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 53 (13): 5385-5389.

Di Pasqua, R., De Feo, V., Villani, F., Mauriello, G. (2005). In vitro antimicrobial activity of essential oils from Mediterranean Apiaceae, Verbenaceae and Lamiaceae against foodborne pathogens and spoilage bacteria. *Annals of Microbiology*, vol. 55 (2): 139-143.

Di Pasqua, R., Hoskins, N., Betts, G., Mauriello, G. (2006). Changes in membrane fatty acids composition of microbial cells induced by addition of thymol, carvacrol, limonene, cinnamaldehyde, and eugenol in the growing media. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 54: 2745-2749.

Dixon, R. A. (2005). Engineering of plant natural product pathways. *Current Opinion in Plant Biology*, vol. 8 (3): 329-336.

Domingo, D., López-Brea, M. (2003). Revisión: plantas con acción antimicrobiana. *Revista Española de Quimioterapia*, vol. 16 (4): 385-393.

Dorman, H. J. D., Deans, S. G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, vol. 88: 308-316.

Dorman H. J. D., Peltoketo A., Hiltunen R., Tikkanen M. J. (2003). Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous

extracts from selected Lamiaceae herbs. *Food Chemistry*, vol 83 (2): 255-262.

Dragland, S., Senoo, H., Wake, K., Holte, K., Blomhoff, R. (2003). Several culinary and medicinal herbs are important sources of dietary antioxidants. *Journal of Nutrition*, vol. 133 (5): 1286-1290.

Dudareva, N., Cseke, L., Blanc, V. M., Pichersky, E. (1996). Evolution on floral scent in *Clarkia*: novel patterns of S-Linalool synthase gene expression in the *C. breweri* flower. *The Plant Cell*, vol. 8: 1137-1148.

Dudareva, N., Pichersky, E. (2000). Biochemical and molecular genetic aspects of floral scents. *Plant Physiology*, vol. 122: 627-633.

Echeverrigaray, S., Agostini, G., Atti-Serfini, L., Paroul, N., Pauletti, G. F., Atti dos Santos, A. C. (2001). Correlation between the chemical and genetic relationships among commercial thyme cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 49: 4220-4223.

Elena-Roselló, J. A. (1984). Variabilidad de los quimiotipos de algunas poblaciones españolas de *Thymus* L. *Studia Oecologica*, vol. V: 259-266.

ESTACOM. Estadísticas de comercio exterior. (2005). Bases de datos ICEX. <http://www.icex.es>.

European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (EMA). *Veterinary Medicines Evaluation Unit*. (1996). Thymol Summary Report.

European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (EMA). *Veterinary Medicines Evaluation Unit*. (1998). Thymi aetheroleum Summary Report.

European Pharmacopeia. (1990). 2ª De. I, Vol I, V. 4.5.8. Consejo de Europa. Ministerio de Sanidad y Consumo. Madrid.

Evans, J. D., Martin, S. A. (2000). Effects of thymol on ruminal microorganisms. *Current Microbiology*, vol. 41: 336-340.

Faleiro, L., Miguel, G. M., Guerrero, C. A. C., Brito, J. M. C. (1999). Antimicrobial activity of essential oils of *Rosmarinus officinalis* L., *Thymus mastichina* (L) L. ssp *mastichina* and *Thymus albicans* Hoffmanns & Link. *Acta Horticulturae (ISHS)* 501: 45-48.

Font Quer, F. (1982). Diccionario de Botánica. Editorial Labor, S. A. Barcelona.

Fujita, M., Shiota, S., Kuroda, T., Hatano, T., Yoshida, T., Mizushima, T., Tsuchiya, T. (2005). Remarkable synergies between baicalein and tetracycline, and baicalein and beta-lactams against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Microbiology and Immunology*, vol. 49 (4): 391-396.

García Vallejo, M. C., García Martín, D., Muñoz, F. (1984). Avance de un estudio sobre las esencias de *Thymus mastichina* L. español (mejorana de España). *Anales INIA – Serie Forestal*, vol. 8: 201-218. Madrid.

García Vallejo, M. C., Rebollar, M. P., García Martín, D. (1989). Composición química del aceite esencial de *Thymus vulgaris* L. en la Comunidad de Madrid. *Actas I Jornadas Ibéricas de Plantas Medicinales, Aromáticas y de Aceites Esenciales*: 221-232. M. A. P. A. 1992. Madrid.

Gil García, M. (2001). Mercado de especias en EEUU. Embajada de España. Oficina Económica y Comercial. Informe técnico. 69 pp.

Golec, M., Skorska, C., Mackiewicz, B., Gora, A., Dutkiewicz, J. (2005). Respiratory effects of exposure to dust from herbs. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, vol. 12 (1): 5-10.

Gómez Orea *et al.* (1999). Las Plantas de Extractos. Bases para un Plan de Desarrollo del Sector. Fundación Alfonso Martín Escudero. 539 pp. ISBN: 84-7114-827-7.

Goodner, K. L., Mahattanatawee, K., Plotto, A., Sotomayor, J. A., Jordán, M. J. (2006). Aromatic profiles of *Thymus hyemalis* and Spanish *Thymus vulgaris* essential oils by GC-MS/GC-O. *Industrial Crops & Products*, vol. 24 (3): 264-268.

Granger, R., Passet, J. (1973). *Thymus vulgaris* spontané de France: races chimiques et chémotaxonomie. *Phytochemistry*, vol. 12: 1683-1691.

Grassmann, J., Hippeli, S., Elstner, E. F. (2002). Plant's defence and its benefits for animals and medicine: role of phenolics and terpenoids in avoiding oxygen stress. Review. *Plant Physiology and Biochemistry*, vol. 40 (6-8): 471-478.

Grillo, C. A., Dulout, F. N. (1997). The effect of butylated hydroxytoluene on the chromosomal damage induced by bleomycin in Chinese hamster ovary cells. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, vol. 375 (1): 83-89.

Guillén, M. D., Manzanos, M. J. (1998). Study of the composition of the different parts of a Spanish *Thymus vulgaris* L. plant. *Food Chemistry*, vol. 63 (3): 373-383.

Guynot, M. E., Ramos, A. J., Seto, L., Purroy, P., Sanchis, V. and Marin, S. (2003). Antifungal activity of volatile compounds generated by

essential oils against fungi commonly causing deterioration of bakery products. *Journal of Applied Microbiology*, vol. 94 (5): 893-899.

Haraguchi, H., Saito, T., Ishikawa, H., Date, H., Kataoka, S., Tamura, Y., Mizutani, K. (1996). Antiperoxidative components in *Thymus vulgaris*. *Planta Medica*, vol. 62: 217-221.

Hawthorne, S. B., Rickkola, M. L., Screnius, K., Holm, Y., Hiltunen, R., Hartonen, K. (1993). Comparison of hydrodistillation and supercritical fluid extraction for the determination of essential oils in aromatic plants. *Journal of Chromatography A*, vol. 634 (2): 297-308.

Higes, M., Llorente J. (1996). Ensayo de la eficacia del timol en el control de la varroasis de *Apis Mellifera* en colmenas en producción. *Agricultura Ecológica y Desarrollo Rural*. II Congreso de la Sociedad Española de Agricultura Ecológica. Pamplona-Iruña, sept. 1996.

Horváth, G., Kocsis, B., Botz, L., Németh, J., Szabó, LG. (2002). Antibacterial activity of *Thymus* phenols by Direct Bioautography. *Acta Biologica Szegediensis*, vol. 46 (3-4): 145-146.

Hudaib, M., Speroni, E., Di Pietra, A. M., Cavrini, V. (2002). GC/MS Evaluation of thyme (*Thymus vulgaris* L.) oil composition and variations during the vegetative cycle. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, vol 29: 691-700.

Ikken, Y., Morales, P., Martínez, A., Marín, M. L., Haza, A. I., Cambero, M. I. (1999). Antimutagenic effect of fruit and vegetable ethanolic extracts against N-nitrosamines evaluated by the Ames test. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, vol. 47: 3257-3264.

ISO Technical Committees. ISO/TC 54 (Essential Oils) Business Plan. (2004). Standardization of methods of analysis and specifications for essential oils. <http://www.iso.org>.

Jiménez, J., Navarro, C., Arrebola, M. L. (1989). Estudio botánico-farmacológico de *Thymus hyemalis* Lange. Actas I Jornadas Ibéricas de Plantas Medicinales, Aromáticas y de Aceites Esenciales, pp: 149-161. M.A.P.A. Madrid.

Jordán, M. J. (1999). Constituyentes aromáticos del zumo de naranja. Efecto del procesado industrial. *Tesis Doctoral*. Universidad de Murcia. 346 pp.

Jordán, M. J., Martínez, R. M., Goodner, K. L., Baldwin, E. A., Sotomayor, J. A. (2006). Seasonal variation of *Thymus hyemalis* Lange and Spanish *Thymus vulgaris* L. essential oils composition. *Industrial Crops & Products*, vol. 24 (3): 253-263.

Juven, B. J., Kanner, J., Schved, F., Weisslowicz, H. (1994). Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. *Journal of Applied Bacteriology*, vol. 76 (6): 626-631.

Kalembe, D. and Kunicka, A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*, vol. 10 (10): 813-829.

Karaman, S., Digrak, M., Ravid, U., Ilcim, A. (2001). Antibacterial and antifungal activity of the essential oils of *Thymus revolutus* Celak from Turkey. *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 76: 183-186.

Kawaii, S., Tomono, Y., Katase, E., Ogawa, K., Yano, M. (1999). HL-60 Differentiating activity and flavonoid content of the readily extractable

fraction prepared from *Citrus* juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 47: 128-135.

Lambert, R. J. W., Skandamis, P. N., Coote, P. J., Nychas, G.-J. E. (2001) A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*, vol. 91: 453-462.

Lax, V., Jordán, M. J., Martínez, C., Moñino, M. I., Martínez, R. M., Sotomayor, J. A. (2007). Chemical variability and radical scavenging activity of *Thymus hyemalis* L. essential oil cultivated at the Region of Murcia (Spain). 38th International Symposium on Essential Oils. Graz (Austria).

Lee, K., Shibamoto, T. (2002). Determination of antioxidant potential of volatile extracts isolated from various herbs and spices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 50: 4947-4952.

Lee, S., Umano, K., Shibamoto, T., Lee, K. (2005). Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidants properties. *Food Chemistry*, vol. 91 (1): 131-137.

Lemberkovics, E., Kery, Kakasy, A., Szoke, E., Simai, B. (2003) Effect of extraction methods on the composition of essential oils. *Acta Horticulturae (ISHS)* 597: 49-56.

Letchamo, W., Gosselin, A. (1995). Effects of HPS 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*, vol. 75 (1): 231-238.

Letchamo, W., Gosselin, A. (1996). Transpiration, essential oil glands, epicuticular wax and morphology of *Thymus vulgaris* are influenced by light intensity and water supply. *Journal of Horticultural Science*, vol. 71 (1): 123-134.

Likens, S. T., Nickerson, G. B. (1964). Detection of certain hop oil constituents in brewing products. *American Society of Brewing Chemists Proceedings*: 5-13.

Lindenschmidt, R. C., Tryka, A. F., Goad, M. E., Witschi, H. P. (1986). The effects of dietary butylated hydroxitoluene on liver and colon tumor development in mice. *Toxicology*, vol. 38 (2): 151-160.

López Miralles, F. J. (2003). Influencia del ácido indolbutírico y ácido naftalenacético sobre el enraizamiento de estacas de tres especies del Género *Thymus*. *Trabajo Fin de Carrera*. Universidad Miguel Hernández. Escuela Politécnica Superior de Orihuela. 112 pp.

Ložienė, K., Vaičiūnienė, J., Venskutonis, P. R. (2003). Chemical composition of the essential oil of different varieties of thyme (*Thymus pulegioides*) growing wild in Lithuania. *Biochemical Systematics and Ecology*, vol. 31 (3): 249-259.

Ložienė, K., Venskutonis, P. R. (2005). Influence of environmental and genetic factors on the stability of essential oil composition of *Thymus pulegioides*. *Biochemical Systematics and Ecology*, vol. 33: 517-525.

Lucchesi, M. E., Chemat, F., Smadja, J. (2004). Solvent-free microwave extraction: an innovative tool for rapid extraction of essential oil from aromatic herbs and spices. *Journal of Microwave Power and Electromagnetic Energy*, vol. 39 (3-4): 135-139.

Lucchesi, M. E., Smadja, J., Bradshaw, S., Louw, W., Chemat, F. (2007). Solvent-free microwave extraction of *Elletaria cardamomum* L.: A multivariate study of a new technique for the extraction of essential oil. *Journal of Food Engineering*, vol. 79 (3): 1079-1086.

Maarse, H., Kepher, R. E. (1970). Change in composition of volatile terpenes in Douglas fir needles during maturation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 18: 1095-1101.

Martínez, R. M., Jordán, M. J., Quílez, M., Sotomayor, J. A. (2005). Effects of edaphoclimatic conditions on *Thymus hyemalis* L. essential oil yield and composition. *Journal of Essential Oil Research*, vol. 17: 614-618.

Masango, P. (2005). Cleaner production of essential oils by steam distillation. *Journal of Cleaner Production*, vol. 13 (8): 833-839.

McGimpsey, J. A. (1993). Thyme - *Thymus vulgaris*. *Crop and Food Research Broadsheet* N° 22. 4 pp (New Zealand Institute for Crop & Food Research Ltd).

McGimpsey, J. A., Douglas, M. H., Van Klink, J. W., Beauregard, D. A., Perry, N. B. (1994). Seasonal variation in essential oil yield and composition from naturalised *Thymus vulgaris* L. in New Zealand. *Flavour and Fragrance Journal*, vol. 9 (6): 347-352.

Mendes, M. L., Romano, A. (1999). In Vitro cloning of *Thymus mastichina* L. field-grown plants. *Acta Horticulturae (ISHS)* 502: 303-306.

Mesa Arango, A. C., Bueno Sánchez, J. G., Betancur Galvis, L. A. (2004). Productos naturales con actividad antimicótica. *Revista Española de Quimioterapia*, vol. 17 (4): 325-331.

Miguel, M. G., Duarte, J., Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., Pedro, L. G. (2005). *Thymus carnosus* Boiss.: effect of harvesting period, collection site and type of plant material on essential oil composition. *Journal of Essential Oil Research*, vol. 17: 422-426.

Mirza, M., Baher, Z. F. (2003). Chemical composition of essential oil from *Thymus vulgaris* hybrid. *Journal of Essential Oil Research*, vol. 15 (6): 404-405.

Miura, K., Kikuzaki, H., Nakatani, N. (2002). Antioxidant activity of chemical components from sage (*Salvia officinalis* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) measured by the oil stability index method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 50: 1845-1851.

Mockute, D., Bernotiene, G. (1999). The main citral-geraniol and carvacrol chemotypes of the essential oil of *Thymus pulegioides* L. growing wild in Vilnius District (Lithuania). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 47: 3787-3790.

Mockute, D., Bernotiene, G. (2001). The α -terpenyl acetate chemotype of essential oil of *Thymus pulegioides* L. *Biochemical Systematics and Ecology*, vol. 29: 69-76.

Moldão-Martins, M., Bernardo-Gil, M. G., Beirão da Costa, M. L., Rouzet, M. (1999). Seasonal variation in yeald and composition of *Thymus zygis* L. subsp. *sylvestris* essential oil. *Flavour and Fragrance Journal*, vol. 14: 177-182.

Moldão-Martins, M., Bernardo-Gil, M. G., Beirão da Costa, M. L. (2002). Sensory and chemical evaluation of *Thymus zygis* L. essential oil and compressed CO₂ extracts. *European Food Research and Technology*, vol. 214: 207-211.

Morales, R. (1986). Taxonomía de los géneros *Thymus* (excluida la Sección *Serpyllum*) y *Thymbra* en la Península Ibérica. Ruizia, tomo 3. Monografías del Real Jardín Botánico. 324 pp.

Morales, R. (1989). Los tomillos españoles. *Quercus*, vol. 46: 25-35.

Morales, A. J. (2002). Biogeografía y aprovechamiento de la flora autóctona valenciana. El caso de las plantas aromáticas y medicinales. *Tesis doctoral*. Universidad de Valencia. 712 pp.

Morgan, R. K. (1989). Chemotypic characteristics of *Thymus vulgaris* L. in Central Otago, New Zealand. *Journal of Biogeography*, vol. 16: 483-491.

Muñoz, F. (1987). Plantas medicinales y aromáticas. Estudio, cultivo y procesado. Ediciones Mundi-Prensa. 365 pp. ISBN: 84-7114-175-2.

Nijssen, L. M., Visscher, C. A., Maarse, H., Willemsens, L. C., Boelens, M. H. (1996). Thyme (43). In *Anonymous volatile compounds in food - qualitative and quantitative data*. 7th edition; TNO Nutrition and food research institute: Zeist, The Netherlands.

Omidbaigi, R., Rezaei Nejad, A. (2000). The influence of nitrogen-fertilizer and harvest time on the productivity of *Thymus vulgaris* L. *International Journal of Horticultural Science*, vol. 6 (3): 43-46.

Okazaki, K., Kawazoe, K., Takaishi, Y. (2002). Human platelet aggregation inhibitors from thyme (*Thymus vulgaris* L.). *Phytotherapy Research*, vol. 16 (4): 398-399.

Park, B. S., Choi, W. S., Kim, J. H., Kim, K. H., Lee, S. E. (2005). Monoterpenes from thyme (*Thymus vulgaris*) as potential mosquito repellents. *Journal of the American Mosquito Control Association*, vol. 21 (1): 80-83.

Pascual, P. M. (2000). Mercado en Alemania para plantas aromáticas, medicinales y aceites esenciales. Oficina Económica y Comercial de España en Düsseldorf. 17 pp.

Pellín Martínez, P. P., Mesas Villegas, R., Gutiérrez Carretero, L., Martínez Lirola, M. J., Domene Ruiz, M. A., Gurrea Guerrero, M. M. (1991). Aprovechamiento sostenible de plantas aromáticas en la provincia de Almería. Actas II Jornadas Ibéricas de Plantas Medicinales, Aromáticas e Óleos essenciais, vol. I: 89-95. Instituto Nacional de Engenharia e Tecnologia Industrial. Lisboa 1994.

Pereira, S. I., Santos, P. A. G., Barroso, J. G., Figueiredo, A. C., Pedro, L. G., Salgueiro, L. R., Deans, S. G. and Scheffer, J. J. C. (2000). Chemical polymorphism of the essential oils from populations of *Thymus caespitosus* grown on the island S. Jorge (Azores). *Phytochemistry*, vol. 55: 241-246.

Piccaglia, R., Marotti, M. (1991). Composition of the essential oil of an Italian *Thymus vulgaris* L. ecotype. *Flavour and Fragrance Journal*, vol. 6: 241-244.

Piccaglia, R., Marotti, M. (1993). Characterization of several aromatic plants grown in northern Italy. *Flavour and Fragrance Journal*, vol. 8: 115-122.

Pichersky, E., Gang, D. R. (2000). Genetics and biochemistry of secondary metabolites in plants: an evolutionary perspective. *Trends in Plant Science*, vol. 5 (10): 439-445.

Pinto, E., Pina-Vaz, C., Salgueiro, L., Gonçalves, M. J., Costa de Oliveira, S., Cavaleiro, C., Palmeira, A., Rodrigues, A., Martinez de Oliveira, J. (2006). Antifungal activity of the essential oil of *Thymus pulegioides* on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species. *Journal of Medical Microbiology*, vol. 55: 1367-1373.

Priestley, C. M., Williamson, E. M., Wafford, K. A., Sattelle, D. B. (2003). Thymol, a constituent of thyme essential oil, is a positive allosteric modulator of human GABA (A) receptors and a homo-oligomeric GABA receptor from *Drosophila melanogaster*. *British Journal of Pharmacology*, vol. 140 (8): 1363-1372.

Rasooli, I., Mirmostafa, S. A. (2003). Bacterial susceptibility to and chemical composition of essential oils from *Thymus kotschyanus* and *Thymus persicus*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 51 (8): 2200-2205.

Rasooli, I. (2005). Antibacterial and chemical properties of *Thymus persicus* essential oils at pre and flowering stages. *Acta Horticulturae (ISHS)* 678: 139-147.

Reiter, M., Brandt, W. (1985). Relaxant effects on tracheal and ileal smooth muscles of the guinea pig. *Arzneimittel-Forschung*, vol. 35: 408-414.

Rivas-Martínez, S. (2004). Global Bioclimatics (Clasificación Bioclimática de la Tierra). <http://www.globalbioclimatics.org>.

Römer, G., Renner, E. (1974). Simple methods for the isolation and enrichment of flavour materials from food. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A*, vol 156 (6): 329-325.

Rosa, M., Mendonça-Filho, R., Bizzo, H., Rodrigues, I., Soares, R., Souto-Padrón, T., Alviano, C., Lopes, A. (2003). Antileishmanial activity of a linalool-rich essential oil from *Croton cajucara*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 47 (6): 1895-1901.

Rota, M. C., Herrera, A., Martínez, R. M., Sotomayor, J. A., Jordán, M. J. (2008) Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. *Food Control*, vol. 19 (7): 681-687.

Rout, G. R., Samantaray, S., Das, P. (2000). In vitro manipulation and propagation of medicinal plants. *Biotechnology Advances*, vol. 18 (2): 91-120.

Sáez, F. (1995a). Essential oil variability of *Thymus zygis* growing wild in Southeastern Spain. *Phytochemistry*, vol. 40 (3): 819-825.

Sáez, F. (1995b). Essential oil variability of *Thymus hyemalis* growing wild in Southeastern Spain. *Biochemical Systematics and Ecology*, vol. 23: 431-438.

Sáez, F. (1996). El género *Thymus* en el Sureste Ibérico: estudios biológicos y taxonómicos. *Tesis Doctoral*. Universidad de Murcia. 1088 pp.

Sáez, F. (1999). Essential oil variability of *Thymus baeticus* growing wild in southeastern Spain. *Biochemical Systematics and Ecology*, vol. 27: 269-276.

Sáez, F. (2001). Volatile oil variability in *Thymus serpylloides* ssp. *gadorensis* growing wild in Southeastern Spain. *Biochemical Systematics and Ecology*, vol. 29 (2): 189-198.

Sagdic, O., Yasar, S., Kisioglu, A. N. (2005). Antibacterial effects of single or combined plant extracts. *Annals of Microbiology*, vol. 55 (1): 67-71.

Salgueiro, L. R., Roque, O. R., Proença da Cunha, A. (1993). Contribution to the standardization of a thymol type essential oil of *Thymus zygis* subsp. *zygis* from Portugal. *Acta Horticulturae (ISHS)* 333: 245-248.

Salgueiro, L. R., Vila, R., Tomàs, X., Cañigüeral, S., Proença da Cunha, A., Adzet, T. (1997a). Composition and variability of the essential oils of *Thymus* species from Section *Mastichina* from Portugal. *Biochemical Systematics and Ecology*, vol. 25 (7): 659-672.

Salgueiro, L. R., Vila, R., Tomàs, X., Cañigüeral, S., Proença da Cunha, A., Adzet, T. (1997b). Essential oil of *Thymus villosus* subsp. *villosus* and its chemical polymorphism. *Flavour and Fragrance Journal*, vol. 12: 117-122.

Salgueiro, L. R., Vila, R., Tomi, F., Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., Cañigüeral, S., Casanova, J., Proença da Cunha, A., Adzet, T. (1997c). Variability of essential oils of *Thymus caespitius* from Portugal. *Phytochemistry*, vol. 45 (2): 307-311.

Salgueiro, L. R., Vila, R., Tomi, F., Tomàs, X., Cañigüeral, S., Casanova, J., Proença da Cunha, A., Adzet, T. (1997d). Composition and infraespecific variability of essential oil from *Thymus camphoratus*. *Phytochemistry*, vol. 45 (6):1177-1183.

Salgueiro, L. R., Vila, R., Tomàs, X., Cañigüeral, S., Paiva, J., Proença da Cunha, A., Adzet, T. (2000a). Essential oil composition and variability of *Thymus lotocephalus* and *Thymus x mourae*. *Biochemical Systematics and Ecology*, vol. 28: 457-470.

Salgueiro, L. R., Vila, R., Tomàs, X., Cañigüeral, S., Paiva, J., Proença da Cunha, A., Adzet, T. (2000b). Chemotaxonomic study on *Thymus villosus* from Portugal. *Biochemical Systematics and Ecology*, vol. 28: 471-482.

Samejima, K., Kanazawa, K., Ashida, H., Danno, G. (1995). Luteolin: a strong antimutagen against dietary carcinogen, Trp-P-2, in peppermint, sage and thyme. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 43: 410-414.

Sánchez- Gómez, P., Soriano, M. C., Correal, E. (1989). Tomillos del Sureste Ibérico. Su aprovechamiento y posibilidades de cultivo. Actas I Jornadas Ibéricas de Plantas Medicinales, Aromáticas y de Aceites Esenciales. M.A.P.A. Madrid. pp:75-84.

Sánchez- Gómez, P., Soriano, M. C., Sotomayor, J. A., Correal, E. (1991). Perspectivas de cultivo en secano de algunas especies aromáticas en la Región de Murcia. Actas II Jornadas Ibéricas de Plantas Medicinales, Aromáticas e Óleos essenciais, vol. 2: 75-86. Instituto Nacional de Engenharia e Tecnologia Industrial. Lisboa 1994.

Sánchez-Gómez, P., Sotomayor, J. A., Soriano, M. C., Correal, E., García-Vallejo, M. C. (1995). Chemical composition of the essential oil of *Thymus zygis* subsp. *gracilis* c.v. "linalool type", and its performance under cultivation. *Journal of Essential Oil Research*, vol 7: 399-402.

Scheffer, J. J. C. (1993). The isolation of essential oils. Factors influencing the oil composition. *Acta Horticulturae (ISHS)* 344: 2-8.

Schwarz, K., Ernst, H. (1996). Evaluation of antioxidative constituents from thyme. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol 70: 217-223.

Shapiro, S., Guggenheim, B. (1995). The action of thymol on oral bacteria. *Oral Microbiology and Immunology*, vol. 10 (4): 241-246.

Singh, A., Singh, R. K., Bhunia, A. K., Singh, N. (2003). Efficacy of plant essential oils as antimicrobial agents against *Listeria monocytogenes* in hotdogs. *Food Science and Technology*, vol. 36 (8): 787-794.

Skold, K., Twetman, S., Hallgren, A., Yucel-Lindberg, T., Modeer, T. (1998). Effect of a chlorhexidine/thymol-containing varnish on prostaglandin E₂ levels in gingival crevicular fluid. *European Journal of Oral Science*, vol. 106: 571-575.

Slater, T. F., Cheeseman, K. H., Davies, M. J., Proudfoot, K., Xin, W. (1987). Free radical mechanism in relation to tissue injury. *Proceedings of the Nutrition Society*, vol. 46 (1): 1-12.

Soares, J. R., Dinis, T. C., Cunha, A. P., Almeida, L. M. (1997). Antioxidant activities of some extracts of *Thymus zygis*. *Free Radical Research*, vol. 26 (5): 469-478.

Sokmen, A., Gulluce, M., Akpulat, H. A., Daferera, D., Tepe, B., Polissiou, M., Sokmen, M., Sahin, F. (2004). The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. *Food Control*, vol. 15 (8): 627-634.

Soriano, M. C., Sotomayor, J. A., Correal, E., Sánchez-Gómez, P., Garcia-Vallejo, M. C. (1997). Chemical composition of the essential oil of *Thymus x arandanus* Wilk. and its parents *T. mastichina* L. and *T. baeticus* Boiss ex Lacaetia. *Journal of Essential Oil Research*, vol 9: 593-594.

Sotomayor, J. A. (1998). Estudio sobre Plantas Aromáticas de los géneros *Salvia* y *Thymus*, espontáneas en el SE Ibérico, para su

establecimiento como cultivo. *Tesis Doctoral*. Universidad de Murcia. 272 pp.

Sotomayor, J. A., Berná, J. M., Alcaraz, M. J., García-Moya, A. J., Correal, E. (2001). Rendimientos en hoja y aceite esencial de tres especies de tomillo cultivadas en regadío. *Actas de Horticultura. IV Congreso Ibérico de Ciencias Hortícolas*. Tomo IV: 2084-2089. ISBN: 84-8107-0424.

Stahl-Biskup, E. (1991). The chemical composition of *Thymus* oils: a review of the literature 1960-1989. *Journal of Essential Oil Research*, vol. 3: 61-82.

Strehle, K. R., Rösch, P., Berg, D., Schulz, H., Popp, J. (2006). Quality control of commercially available essential oils by means of Raman Spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 54: 7020-7026.

Tabak, M., Armon, R., Potasman, I., Neeman, I. (1996). In vitro inhibition of *Helicobacter pylori* by extracts of thyme. *Journal of Applied Bacteriology*, vol. 80 (6): 667-672.

Tepe, B., Sokmen, M., Akpulat, H. A., Daferera, D., Polissiou, M., Sokmen, A. (2005). Antioxidative activity of the essential oils of *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *sipyleus* and *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *rosulans*. *Journal of Food Engineering*, vol. 66 (4): 447-454.

Theis, N., Lerda, M. (2003). The evolution of function in plant secondary metabolites. *International Journal of Plant Sciences*, vol. 164 (3): S93-S102.

Torrente, F. (1985). El tomillo. Aprovechamiento y cultivo. Hojas Divulgadoras Ministerio Agricultura, 17/85.

Ultee, A., Slump, R. A., Steging, G., Smid, E. J. (2000). Antimicrobial activity of carvacrol toward *Bacillus cereus* on rice. *Journal of Food Protection*, vol. 63 (5): 620-624.

Ultee, A., Bennik, M. H. J., Moezelaar, R. (2002). The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 68 (4): 1561-1568.

Urbanczyk, J., Hanczakowska, E., Swiatkiewicz, M. (2002). Herb mixture as an antibiotic substitute in pig feeding. *Medycyna Weterynaryjna*, vol. 58 (11): 887-889.

Vainstein, A., Lewinsohn, E., Pichersky, E., Weiss, D. (2001). Floral fragrance. New inroads into an old commodity. *Plant Physiology*, vol. 127: 1383-1389.

Van den Broucke, C. O., Lemli, J. A. (1983). Spasmolytic activity of the flavonoids from *Thymus vulgaris*. *Pharmaceutisch Weekblad, scientific edition*, vol. 5: 9-14.

Vardar-Ünlü, G., Candan, F., Sökmen, A., Daferera, D., Polissiou, M., Sökmen, M., Dönmez, E., Tepe, B. (2003). Antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil and methanol extracts of *Thymus pectinatus* Fisch. et Mey. Var. *pectinatus* (Lamiaceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 51 (1): 63-67.

Vasala, A., Isomäki, R., Myllykoski, L., Alatossava, T. (1999). Thymol-triggered lysis of *Escherichia coli* expressing *Lactobacillus* phage LL-H muramidase. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, vol. 22 (1): 39-43.

Velasco Negueruela, A., Pérez Alonso, M. J. (1984). Aceites esenciales de tomillos ibéricos. III. Contribución al estudio de quimiotipos en el grupo *Thymus zygis* L. *Anales de Bromatología*, vol. XXXVI-2: 301-308.

Velasco Negueruela, A., Pérez Alonso, M. J. (1986). Aceites esenciales de tomillos ibéricos. IV. Contribución al estudio quimiotaxonómico (Terpenoides) del género *Thymus* L. *Trabajos Dept. Botánica* 13: 115-133. Universidad de Granada.

Venskutonis, P. R. (1997). Effect of drying on the volatile constituents of thyme (*Thymus vulgaris* L.) and sage (*Salvia officinalis* L.). *Food Chemistry*, vol. 59 (2): 219-227.

Venskutonis, P. R., Gruzdiene, D., Tirzite, D., Tirzitis, G. (2005). Assessment of antioxidant activity of plant extracts by different methods. *Acta Horticulturae (ISHS)* 677: 99-107.

Vernet, Ph., Gouyon, P. H. (1979). Le polymorphisme chimique de *Thymus vulgaris*. *Parfums, cosmétiques, arômes*, vol. 30: 31-45.

World Health Organization. (1999). *Herba Thymi*. WHO Monographs on Selected Medicinal Plants. WHO Graphics, Geneva, pp: 259-266.

Yanishlieva, N. V., Marinova, E. M., Gordon, M. H. and Raneva, V. G. (1999). Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. *Food Chemistry*, vol. 64: 59-66.

Youdim, K. A., Deans, S. G. (1999a). Dietary supplementation of thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oil during the lifetime of the rat: its effects on the antioxidant status in liver, kidney and heart tissues. *Mechanisms of Ageing and Development*, vol. 109 (3): 163-175.

Youdim, K. A., Deans, S. G. (1999b). Beneficial effects of thyme oil on age-related changes in the phospholipid C20 and C22 polyunsaturated fatty acid composition of various rat tissues. *Biochimica et Biophysica Acta*, vol. 1438 (1): 140-146.

Youdim, K. A., Deans, S. G., and Finlayson H. J. (2002). The antioxidant properties of thyme (*Thymus zygis* L.) essential oil: an inhibitor of lipid peroxidation and a free radical scavenger. *Journal of Essential oil Research*, vol. 14 (3): 210-215.

Yucel-Lindberg, T., Twetman, S., Skold-Larsson, K., Modeer, T. (1999). Effect of an antibacterial dental varnish on the levels of prostanoids, leukotriene B4, and interleukin-1 beta in gingival crevicular fluid. *Acta Odontologica Scandinavica*, vol. 57: 23-27.

Zambonelli, A., Zechini, D., Aulerio, A., Bianchi, A., Albasini, A. (1996). Effects of essential oils on phytopathogenic fungi in vitro. *Journal of Phytopathology*, vol. 144 (9/10): 491-494.

Zhao, J., Davis, L. C., Verpoorte, R. (2005). Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. *Biotechnology Advances*, vol. 23 (4): 283-333.

Zheng, Z., Shetty K. (2000). Azo dye-mediated regulation of total phenolics and peroxidase activity in thyme (*Thymus vulgaris* L.) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) clonal lines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 48 (3): 932-937.

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla I-1. Propiedades del aceite esencial.....	25
Tabla I-2. Normativa UNE 84303 para el aceite esencial de <i>Th. zygis</i> , tipo timol.....	27
Tabla I-3. Composición porcentual del aceite esencial de <i>Th. vulgaris</i>	43
Tabla I-4. Composición porcentual del aceite esencial de <i>Th vulgaris</i> (español).....	44
Tabla I-5. Composición porcentual del aceite esencial de <i>Th. zygis</i> subsp <i>gracilis</i> (quimiotipo timol).....	49
Tabla I-6. Composición porcentual del aceite esencial de <i>Th. zygis</i> subsp <i>sylvestris</i>	50
Tabla I-7. Composición porcentual del aceite esencial de <i>Th. hyemalis</i> en dos localidades de Murcia.....	54
Tabla I-8. Composición porcentual del aceite esencial de <i>Th. baeticus</i>	57
Tabla I-9. Composición porcentual del aceite esencial de <i>Th. camphoratus</i>	58
Tabla I-10. Composición porcentual del aceite esencial de <i>Th. mastichina</i>	59
Tabla I-11. Composición porcentual del aceite esencial de <i>Th. piperella</i>	61
Tabla I-12. Composición porcentual del aceite esencial de <i>Th. caespititius</i>	63
Tabla I-13. Composición porcentual del aceite esencial de <i>Th. pulegioides</i>	65
Tabla I-14. Composición porcentual del aceite esencial de <i>Th. villosus</i>	66
Tabla I-15. Composición porcentual del aceite esencial de <i>Th. lotocephalus</i>	67

Tabla I-16. Composición porcentual del aceite esencial de <i>Th. serpylloides</i>	69
Tabla I-17. Comercio exterior de aceites esenciales.....	72
Tabla I-18. Procedencia y valor de las importaciones de tomillo en EEUU.....	77
Tabla I-19. Rendimientos medios obtenidos en hoja seca y aceite esencial para distintas especies de tomillo en secano.....	106
Tabla I-20. Rendimientos medios obtenidos en hoja y aceite esencial para distintas especies de tomillo en regadío.....	107
Tabla II-1. Valores de temperatura y radiación en Torreblanca.....	113
Tabla II-2. Tratamientos de riego aplicados.....	121
Tabla II-3. Especies objeto de investigación.....	122
Tabla II-4. Calendario de recolecciones.....	124
Tabla III.1-1. Porcentaje de marras ocasionadas a lo largo de los tres años de cultivo (<i>Th. hyemalis</i>).....	142
Tabla III.1-2. Valores de producción, en función de la ETo, correspondientes a invierno de 2002 (<i>Th. hyemalis</i>)	144
Tabla III.1-3. Valores de producción, en función de la ETo, correspondientes a invierno de 2003 (<i>Th. hyemalis</i>)	146
Tabla III.1-4. Valores de producción, en función de la ETo, correspondientes a invierno de 2004 (<i>Th. hyemalis</i>)	147
Tabla III.1-5. Valores de producción, en función de la ETo, correspondientes a primavera de 2002 (<i>Th. hyemalis</i>).....	149
Tabla III.1-6. Valores de producción, en función de la ETo, correspondientes a primavera de 2004 (<i>Th. hyemalis</i>)	150
Tabla III.1-7. Análisis estadístico de las recolecciones de invierno y primavera (<i>Th. hyemalis</i>)	152

Tabla III.1–8. Valores de producción de aceite esencial, en función de la ETo, correspondientes a las recolecciones de invierno (<i>Th. hyemalis</i>).....	157
Tabla III.1–9. Valores de producción de aceite esencial, en función de la ETo, correspondientes a las recolecciones de primavera (<i>Th. hyemalis</i>).....	161
Tabla III.1–10. Análisis estadístico de las recolecciones de invierno y primavera (<i>Th. hyemalis</i>).....	162
Tabla III.1–11. Composición porcentual del aceite esencial de <i>Th. hyemalis</i> , en función del aporte hídrico (Invierno 2002).....	177
Tabla III.1–12. Composición porcentual del aceite esencial de <i>Th. hyemalis</i> , en función del aporte hídrico (Primavera 2002).....	185
Tabla III.1–13. Análisis estadístico comparativo invierno/primavera 2002 (<i>Th. hyemalis</i>)	190
Tabla III.1–14. Composición porcentual del aceite esencial de <i>Th. hyemalis</i> , en función del aporte hídrico (Invierno 2003).....	195
Tabla III.1–15. Quimiotipos determinados y porcentaje de los mismos en la población (<i>Th. hyemalis</i>)	202
Tabla III.1–16. Composición porcentual del aceite esencial de <i>Th. hyemalis</i> , quimiotipo timol, en función del aporte hídrico (Invierno 2004).....	206
Tabla III.1–17. Composición porcentual del aceite esencial de <i>Th. hyemalis</i> , quimiotipo timol, en función del aporte hídrico (Primavera 2004).....	211
Tabla III.1–18. Análisis estadístico comparativo invierno/primavera 2004 (<i>Th. hyemalis</i>)	214
Tabla III.1–19. Composición porcentual del aceite esencial de <i>Th. hyemalis</i> , quimiotipo mixto α -terpineol/timol.....	221
Tabla III.1–20. Composición porcentual del aceite esencial de <i>Th. hyemalis</i> , quimiotipo linalol.....	222
Tabla III.1–21. Composición porcentual del aceite esencial de <i>Th. hyemalis</i> , quimiotipo carvacrol.....	224

Tabla III.1–22. Composición porcentual del aceite esencial de <i>Th. hyemalis</i> , quimiotipo mixto borneol/timol.....	225
Tabla III.1–23. Composición porcentual del aceite esencial de <i>Th. hyemalis</i> , quimiotipo mixto linalol/timol.....	227
Tabla III.1–24. Composición porcentual del aceite esencial de <i>Th. hyemalis</i> , quimiotipo α -terpineol.....	228
Tabla III.1–25. Composición porcentual del aceite esencial de <i>Th. hyemalis</i> , quimiotipo 1,8-cineol.....	230
Tabla III.1–26. Composición porcentual del aceite esencial de <i>Th. hyemalis</i> , quimiotipo mixto carvacrol/(E)-hidrato de sabineno.....	230
Tabla III.1–27. Composición porcentual del aceite esencial de <i>Th. hyemalis</i> , quimiotipo mixto linalol/ α -terpineol.....	231
Tabla III.1–28. Composición porcentual del aceite esencial de <i>Th. hyemalis</i> , quimiotipo mixto linalol/hidrato de sabineno.....	232
Tabla III.2–1. Porcentaje de marras ocasionadas a lo largo de los tres años de cultivo (<i>Th. zygis</i> subsp. <i>gracilis</i>).....	236
Tabla III.2–2. Valores de producción, en función de la ETo, correspondientes a primavera de 2002 (<i>Th. zygis</i> subsp. <i>gracilis</i>).....	239
Tabla III.2–3. Valores de producción, en función de la ETo, correspondientes a primavera de 2003 (<i>Th. zygis</i> subsp. <i>gracilis</i>)... ..	241
Tabla III.2–4. Valores de producción, en función de la ETo, correspondientes a primavera de 2004 (<i>Th. zygis</i> subsp. <i>gracilis</i>).....	243
Tabla III.2–5. Valores de producción de aceite esencial, en función de la ETo (<i>Th. zygis</i> subsp. <i>gracilis</i>).....	249
Tabla III.2–6. Composición porcentual del aceite esencial de <i>Th. zygis</i> subsp. <i>gracilis</i> , en función del aporte hídrico (Primavera 2002).....	259
Tabla III.2–7. Composición porcentual del aceite esencial de <i>Th. zygis</i> subsp. <i>gracilis</i> , en función del aporte hídrico (Primavera 2003).....	267

Tabla III.2–8. Composición porcentual del aceite esencial de <i>Th. zygis</i> subsp. <i>gracilis</i> , en función del aporte hídrico (Primavera 2004).....	267
Tabla III.2–9. Composición porcentual del aceite esencial de <i>Th. zygis</i> subsp. <i>gracilis</i> , quimiotipo timol (2004).....	284
Tabla III.3–1. Porcentaje de marras ocasionadas a lo largo de los tres años de cultivo (<i>Th. vulgaris</i>).....	289
Tabla III.3–2. Valores de producción, en función de la ETo, correspondientes a 2002 (<i>Th. vulgaris</i>).....	291
Tabla III.3–3. Valores de producción, en función de la ETo, correspondientes a primavera de 2003 (<i>Th. vulgaris</i>).....	293
Tabla III.3–4. Valores de producción, en función de la ETo, correspondientes a primavera de 2004 (<i>Th. vulgaris</i>).....	295
Tabla III.3–5. Valores de producción de aceite esencial, en función de la ETo (<i>Th. vulgaris</i>).....	301
Tabla III.3–6. Composición porcentual del aceite esencial de <i>Th. vulgaris</i> , en función del aporte hídrico (Primavera 2002).....	313
Tabla III.3–7. Composición porcentual del aceite esencial de <i>Th. vulgaris</i> , en función del aporte hídrico (Primavera 2003).....	318
Tabla III.3–8. Composición porcentual del aceite esencial de <i>Th. vulgaris</i> , en función del aporte hídrico (Primavera 2004).....	323

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. I-1. Detalle de fragmento de tallo (a) y envés de hoja (b) de <i>Th. vulgaris</i>	17
Fig. I-2. Detalle de glándulas esenciales y estructuras pilosas en <i>Th. hyemalis</i>	18
Fig. I-3. Detalle de inflorescencia (a) y flor (b) de <i>Th. hyemalis</i>	19
Fig. I-4. Distribución geográfica del género <i>Thymus</i>	22
Fig. I-5. Estructuras químicas de algunos componentes identificados en los aceites esenciales de tomillo.....	37
Fig. I-6. Distribución en la Península Ibérica de <i>Th. vulgaris</i>	38
Fig. I-7. Detalle de inflorescencia (a), flor (b), hoja (c) y glándulas oleíferas (d) de <i>Th. vulgaris</i>	39
Fig. I-8. Distribución en la Península Ibérica de <i>Th. zygis</i> subsp. <i>gracilis</i>	46
Fig. I-9. Detalle de hojas (a y b), y flores (c y d) de <i>Th. zygis</i> subsp. <i>gracilis</i>	47
Fig. I-10. Distribución en la Península Ibérica de <i>Th. hyemalis</i>	52
Fig. I-11. Detalle de inflorescencia (a), flores (b), y hojas ciliadas en su base (c y d) de <i>Th. hyemalis</i>	53
Fig. I-12. Producción mundial estimada de aceites esenciales (%).....	72
Fig. I-13. Balance del comercio exterior de tomillo sin triturar 1990–2000 (toneladas de hoja).....	76
Fig. I-14. Balance del comercio exterior de tomillo sin triturar 2003–2006 (toneladas de hoja).....	78
Fig. I-15. Estructura química de timol, carvacrol y p-cimeno.....	85
Fig. II-1. Parcela de Torreblanca.....	111
Fig. II-2. Disposición de las repeticiones en la parcela.....	114
Fig. II-3. Apero utilizado para la colocación de tuberías y plásticos.....	117
Fig. II-4. Vista esquemática de la disposición de las plantas.....	118

Fig. II-5. Vista real de la distribución de las plantas en las subparcelas.....	119
Fig. II-6. Sistema Clevenger empleado en la extracción del aceite esencial.....	129
Fig. III.1-1. Número de plantas vivas, en función de la ETo, encontradas en los tres años de estudio (<i>Th. hyemalis</i>).....	142
Fig. III.1-2. Rendimiento en aceite esencial, en función del riego, en invierno de 2002 (<i>Th. hyemalis</i>).....	154
Fig. III.1-3. Rendimiento en aceite esencial, en función del riego, en invierno de 2003 (<i>Th. hyemalis</i>)	155
Fig. III.1-4. Rendimiento en aceite esencial, en función del riego, en invierno de 2004 (<i>Th. hyemalis</i>)	155
Fig. III.1-5. Rendimiento en aceite esencial, en función del riego, en primavera de 2002 (<i>Th. hyemalis</i>)	159
Fig. III.1-6. Rendimiento en aceite esencial, en función del riego, en primavera de 2004 (<i>Th. hyemalis</i>)	160
Fig. III.1-7. Evolución de la producción de materias primas, en la recolección de invierno, durante los tres años de ensayo (<i>Th. hyemalis</i>)	166
Fig. III.1-8. Evolución de la producción de materias primas, en la recolección de primavera, durante los dos años considerados (<i>Th. hyemalis</i>)	169
Fig. III.1-9. Distribución de las plantas según su contenido en timol (<i>Th. hyemalis</i> , invierno 2004)	208
Fig. III.1-10. Estudio comparativo del comportamiento del timol y sus precursores, en función del aporte hídrico (<i>Th. hyemalis</i>).....	209
Fig. III.1-11. Distribución de las plantas según su contenido en timol (<i>Th. hyemalis</i> , primavera 2004).....	213
Fig. III.1-12. Evolución de la síntesis de compuestos fenólicos (<i>Th. hyemalis</i> , invierno).....	216
Fig. III.1-13. Evolución de la síntesis de compuestos fenólicos (<i>Th. hyemalis</i> , primavera).....	218

Fig. III.2–1. Número de plantas vivas, en función de la ETo, encontradas en los tres años de estudio (<i>Th. zygis</i> subsp. <i>gracilis</i>).....	237
Fig. III.2–2. Rendimiento en aceite esencial, en función del riego, en 2002 (<i>Th. zygis</i> subsp. <i>gracilis</i>).....	245
Fig. III.2–3. Rendimiento en aceite esencial, en función del riego, en 2003 (<i>Th. zygis</i> subsp. <i>gracilis</i>).....	247
Fig. III.2–4. Rendimiento en aceite esencial, en función del riego, en 2004 (<i>Th. zygis</i> subsp. <i>gracilis</i>).....	247
Fig. III.2–5. Evolución de la producción de materias primas durante los tres años de ensayo (<i>Th. zygis</i> subsp. <i>gracilis</i>).....	252
Fig. III.2–6. Distribución de las plantas según su contenido en timol (<i>Th. zygis</i> subsp. <i>gracilis</i> , primavera 2004).....	279
Fig. III.2–7. Evolución de la síntesis de compuestos fenólicos (<i>Th. zygis</i> subsp. <i>gracilis</i>).....	281
Fig. III.3–1. Número de plantas vivas, en función de la ETo, encontradas en los tres años de estudio (<i>Th. vulgaris</i>).....	289
Fig. III.3–2. Rendimiento en aceite esencial, en función del riego, en 2002 (<i>Th. vulgaris</i>).....	297
Fig. III.3–3. Rendimiento en aceite esencial, en función del riego, en 2003 (<i>Th. vulgaris</i>).....	299
Fig. III.3–4. Rendimiento en aceite esencial, en función del riego, en 2004 (<i>Th. vulgaris</i>).....	300
Fig. III.5–5. Evolución de la producción de materias primas durante los tres años de ensayo (<i>Th. vulgaris</i>).....	305
Fig. III.3–6. Distribución de las plantas según su contenido en timol (<i>Th. vulgaris</i> , primavera 2004).....	325
Fig. III.3–7. Evolución de la síntesis de compuestos fenólicos (<i>Th. vulgaris</i>).....	327

RESUMEN/SUMMARY

El género *Thymus*, con numerosas especies espontáneas en la Región de Murcia, representa una fuente natural de materias primas, especialmente hoja seca y aceite esencial, con propiedades confirmadas a través de múltiples publicaciones. Destaca en este sentido la capacidad como agente antibacteriano y antioxidante del aceite extraído de estas plantas, cuya eficacia está en función de su composición química.

La demanda cada vez mayor de sustancias naturales por parte de la sociedad justifica la necesidad de ofrecer productos de calidad contrastada, que sólo es posible garantizar si tales productos provienen de plantas desarrolladas en parcelas controladas, en contraste con los tomillos recolectados en el monte, práctica tradicionalmente empleada para obtener estos arbustos.

Con el objeto de promover el establecimiento de cultivos basados en el aprovechamiento de tomillos, se lleva a cabo un estudio que pretende determinar los requerimientos hídricos más convenientes para el óptimo desarrollo de plantaciones de tres especies de este género (*Thymus hyemalis* Lange, *Thymus zygis* Loefl. ex L. y *Thymus vulgaris* L.), en el cual se fundamenta esta Tesis Doctoral.

Los resultados obtenidos indican que dos de las especies ensayadas, *Th. hyemalis* y *Th. zygis*, autóctonas de nuestra zona, ofrecen un rendimiento en fitomasa y aceite esencial excelente con un escaso nivel de riego, en tanto que el cultivar empleado de *Th. vulgaris*, de origen comercial, precisa para su adecuado crecimiento un aporte de agua más elevado.

Respecto al perfil volátil de estos aceites, los análisis cromatográficos efectuados constatan la existencia de una acusada variabilidad intraespecífica en este género, con considerables fluctuaciones en la composición cuantitativa de su aceite esencial.

De las tres especies analizadas, *Th. hyemalis* o tomillo de invierno ha resultado ser la más compleja químicamente, presentando un porcentaje mayoritario de las plantas estudiadas un quimiotipo timol simple, pero determinándose también quimiotipos diferentes en un número importante de individuos. Por su parte, en *Th. zygis* y *Th. vulgaris* aparece el timol como constituyente más abundante en todos los casos.

Actualmente, este fenol es el componente más apreciado por parte de las industrias relacionadas con la explotación de plantas aromáticas, pudiéndose observar que su síntesis se ve favorecida por suplementos hídricos bajos.

Todo lo expuesto pone de manifiesto que el cultivo de especies espontáneas de tomillo en la Región de Murcia puede ser una alternativa a los cultivos tradicionales, dada la escasez de agua de esta zona y el óptimo rendimiento que ofrecen estas plantas aportándoles un mínimo riego.

In the Region of Murcia, the genus *Thymus*, with a great diversity of spontaneous species, represents a natural source of raw materials, especially both dry leaf and essential oil, with properties that have been confirmed through several publications. It stands out the capability as antibacterial and antioxidant agent of thyme essential oil, whose effectiveness has been related to with its chemical composition.

The increasing demand for natural substances by society justifies the need to provide tested quality products, which can only be guaranteed if these products come from plants developed in controlled crops, in contrast to the thymes collected in mountain, the practice which is traditionally used to get these shrubs.

To promote the establishment of crops based on the use of thyme, a study that aims determining the most suitable water requirements for the optimum development of plantations derived from three species of this genus (*Thymus hyemalis* Lange, *Thymus zygis* Loefl. ex L. and *Thymus vulgaris* L.) is carried out, in which it is found this Doctoral Thesis.

The results indicate that two of the species tested, *Th. hyemalis* and *Th. zygis*, native to our area, offer an excellent yield in both phytomass and essential oil with a low level of watering, while the cultivar of *Th. vulgaris* used, which have a commercial origin, needs for its optimal growth a higher water supply.

Regarding the volatile profile of these oils, chromatographic analyses carried out confirm the existence of a marked intraspecific variability in this genus, with considerable fluctuations in the quantitative composition of its essential oil.

Within the three species under research, *Th. hyemalis*, also known as winter thyme, has proved to be the most chemically complex, showing the majority of the plants studied thymol chemotype, but different chemotypes were also determined in a significant number of individuals. Furthermore, in both *Th. zygis* and *Th. vulgaris* thymol appears as most abundant constituent in all cases.

Currently, this phenol is the most appreciated component by the industries related to the exploitation of aromatic plants, being able to see that their synthesis is favoured by low water supplements.

All of this shows that the cultivation of spontaneous species of thyme in the region of Murcia can be an alternative to traditional crops because of the shortage of water in this area, and the optimal yield offered by these plants by providing them a minimum irrigation.