



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DIVISIÓN DE CIENCIAS FORESTALES

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN CIENCIAS FORESTALES

**CARACTERÍSTICAS ANATÓMICAS, DENSIDAD DE LA MADERA
Y ESTUDIO FITOQUÍMICO DE LA RAÍZ DE
Fagus grandifolia subsp. *mexicana* (MARTÍNEZ)**

TESIS

Que como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN CIENCIAS FORESTALES

Presenta:

LILIANA CUAPIO HERNÁNDEZ



DIRECCION GENERAL ACADEMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
DIRECCION DE EXAMENES PROFESIONALES

Bajo la supervisión de:

**DR. BENITO REYES TREJO
DRA. MA. AMPARO M. BORJA DE LA ROSA
DR. ANTONIO VILLANUEVA MORALES**

Chapingo, Estado de México, septiembre de 2017.



Tesis realizada por **Liliana Cuapio Hernández** bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN CIENCIAS FORESTALES

DIRECTOR:



Dr. Benito Reyes Trejo

CO-DIRECTORA:



Dra. Ma. Amparo M. Borja De La Rosa

ASESOR:



Dr. Antonio Villanueva Morales

CONTENIDO

LISTA DE CUADROS	VI
LISTA DE FIGURAS	VII
RESUMEN GENERAL.....	XV
General abstract	XVII
1. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	2
2.2 Anatomía de la madera.....	2
2.3 Densidad de la madera.....	4
2.4 Usos de la madera.....	5
2.5 Fitoquímica	5
2.6 Árboles medicinales.....	7
2.7 Área de estudio.....	8
2.8 Literatura citada	10
3. ANATOMÍA DE LA MADERA de <i>Fagus grandifolia</i> subsp. mexicana	14
3.1 Resumen	14
3.2 Introducción	16
3.3 Objetivos.....	17
3.3.1 Objetivo General.....	17
3.3.2 Objetivos particulares.	17
3.4 Materiales y métodos.....	17

3.4.1 Colecta.....	17
3.4.2 Descripción de características anatómicas macroscópicas	19
3.4.3 Análisis de características anatómicas microscópicas	20
3.4.4 Análisis de datos.....	24
3.5 Resultados.....	25
3.5.1 Características macroscópicas	25
3.5.2 Características microscópicas	27
3.6 Discusión	36
3.7 Conclusiones	37
3.7 Literatura citada.....	38
4. DENSIDAD DE LA MADERA de <i>Fagus grandifolia subsp. mexicana</i>	41
4.1 Resumen	41
4.2 Introducción	42
4.3 Objetivos.....	42
4.3.1 Objetivo General.....	42
4.4 Materiales y métodos.....	43
4.4.1 Colecta de material vegetal	43
4.4.2 Obtención de muestras.....	43
4.4.3. Densidad de la madera.....	44
4.5 Resultados y discusión	47
4.6 Discusión	48
4.7 Conclusiones	49

4.7 Literatura citada	49
5. estudio fitoquímico de <i>Fagus grandifolia subsp. mexicana</i>	51
5.1 Resumen	51
5.2 Introducción	52
5.2.1. Análisis espectroscópicos.....	53
5.2.2. Espectrometría de masas	53
5.2.3. Espectroscopia Infrarroja (IR)	54
5.2.4. Resonancia Nuclear Magnética (RMN).....	54
5.3 Objetivos.....	55
5.3.1 Objetivo General.....	55
5.3.2 Objetivos particulares.	55
5.4 Materiales y métodos.....	55
5.4.1 Colecta de material vegetal	55
5.4.2 Secado y molido de las muestras vegetales.....	56
5.4.3 Preparación de extractos	56
5.4.4 Análisis preliminar de compuestos en extractos	58
5.4.5 Aislamiento de metabolitos secundarios.....	61
5.4.6 Purificación de compuestos	64
5.4.7 Identificación de compuestos aislados	65
5.5 Resultados y discusión	66
5.5.1 Aislamiento del β -Sitosterol (1) y estigmasterol (2).....	69
5.5.2 Aislamiento del 3β -hidroxi-24-metilen cicloartano (3)	73

5.5.2 Aislamiento e identificación del estigmast-4-en-3-one (4).....	78
5.5.3 Aislamiento e identificación del glucósido de β -sitosterol (5).....	83
5.6 Conclusiones	86
5.7 Literatura citada	86
6. CONCLUSIONES GENERALES	89
7. APÉNDICES	90

LISTA DE CUADROS

Cuadro 3.1 Árboles muestreados de <i>Fagus grandifolia</i> subsp. <i>mexicana</i>	19
Cuadro 3.2 Valores mensurables de elementos de vaso	31
Cuadro 3.3 Valores mensurables de fibras	33
Cuadro 3.4 Valores mensurables de rayos	34
Cuadro 3.5 Proporción de elementos constitutivos	35
Cuadro 4.1 Valores de densidad de la madera	46
Cuadro 5.1 Cantidad de disolventes utilizados para la maceración	59
Cuadro 5.2 Fases móviles y concentración ensayadas	59
Cuadro 5.3 Cantidad de extracto	64
Cuadro 5.4 Fracciones reunidas de la columna de extracto hexánico de raíz .	67
Cuadro 5.5 Fracciones seleccionadas del extracto hexánico	68
Cuadro 5.6 Metabolitos secundarios aislados e identificados	69

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 Mapa de localización	9
Figura 3.1 Obtención de muestras.....	18
Figura 3.2 Sellado de árbol.....	18
Figura 3.3 Árbol muerto	18
Figura 3.4 Troza de madera	18
Figura 3.5 Marcado de tablillas.....	19
Figura 3.6 Elaboración de tablillas.....	19
Figura 3.7 Corte de laminillas	20
Figura 3.8 Tinción de laminillas.....	20
Figura 3.9 Proceso de deshidratación y lubricación.....	21
Figura 3.10 Preparaciones fijas	21
Figura 3.11 Interfaz del módulo Análisis Imagen LAS 3.8	22
Figura 3.12 Muestras en maceración.....	22
Figura 3.13 Tinción de material disociado	22
Figura 3.14 Montaje de material disociado	23
Figura 3.15. Preparaciones fijas de disociado	23
Figura 3.16 Cortes típicos macroscópicos de la madera.	26
Figura 3.17 Corte tangencial 5x.....	27
Figura 3.18 Corte transversal 5x.....	27
Figura 3.19 Corte radial 10x	27
Figura 3.20 Zona de crecimiento (5x)	28

Figura 3.21 Engrosamiento del rayo (40x).....	28
Figura 3.22 Porosidad difusa (5x).....	28
Figura 3.23 Poros solitarios y agregados (40x).....	28
Figura 3.24 Placa simple (40x)	29
Figura 3.25 Placa escaleriforme (40x)	29
Figura 3.26 E. vaso con placa simple	29
Figura 3.27 E. vaso con placa escaleriforme	29
Figura 3.28 Puntuaciones opuesta (20x)	30
Figura 3.29 Puntuaciones de rayos-vasculares (20x)	30
Figura 3.30 Variabilidad de ápices en elementos de vaso.....	30
Figura 3.31 Tilosis (40x)	32
Figura 3.32 Traqueidas vacicentricas (40x)	32
Figura 33 Fibras. b. Engrosamiento helicoidal.....	33
Figura 3.34 Parenquima	33
Figura 3.35 Rayo heterocelular (20x).....	34
Figura 3.36 Rayos uniseriados biseriados, multiseriados y agregados (5x)	34
Figura 3.37 Cuerpos de sílice (20x)	35
Figura 3.38 Cristales prismáticos (40x).....	35
Figura 4.1 Colecta de madera.....	43
Figura 4.2 Marcado, cortado y saturación de probetas.....	44
Figura 4.3 Peso y volumen de probetas saturadas.....	44
Figura 4.4 Probetas expuestas al medio ambiente del laboratorio.	45
Figura 4.5 Peso y volumen de probetas saturadas.....	45

Figura 5.1 Colecta de corteza y raíz	56
Figura 5.2 Maceración de hojas, corteza y raíz	57
Figura 5.3 Evaporación de disolvente.....	57
Figura 5.4 Aplicación de muestra de extracto en cromoplaca	60
Figura 5.5 Elución de placa en cámara cromatografica	60
Figura 5.6 Cromoplacas observadas en Cámara de luz UV.....	60
Figura 5.7 Cromoplacas reveladas con ácido fosfomolibdico	61
Figura 5.8 Pre-adsorción de extracto.....	62
Figura 5.9 Preparación de columna cromatografica	63
Figura 5.10 Columna cromatografica y obtención de fracciones	64
Figura 5.11 Monitoreo de fracciones con cromatografía de capa delgada	64
Figura 5.12 Cromatografía de fracciones de la columna principal	64
Figura 5.13 Cromoplacas de análisis de extractos	67
Figura 5.14 Espectro de RMN 1H β -sitosterol.....	70
Figura 5.15 Representación de estructura del β -Sitosterol.....	71
Figura 5.16 Espectro de RMN 1H del Estigmasterol	72
Figura 5.17 Representación de estructura del Estigmasterol.....	73
Figura 5.18 Espectro de gases masa del 3 β -Hidroxi-24-metilen cicloartano ...	74
Figura 5.19 Espectro de RMN del 3 β -Hidroxi-24-metilen cicloartano	75
Figura 5.20 Espectro de RMN 13C del 3 β -Hidroxi-24-metilen cicloartano.....	76
Figura 5.21 Espectro DEP del 3 β -Hidroxi-24-metilen cicloartano	77
Figura 5.22 Estructura del 3 β -Hidroxi-24-metilen cicloartano	77

Figura 5.23 Espectro de gases masa del Stigmast-4-en-3-one	78
Figura 5.24 Estructuras de 3 y 7 androstanos	79
Figura 5.25 Espectro de RMN 1H del Stigmast-4-en-3-one.....	79
Figura 5.26 Espectro de RMN 1H Stigmast-4-en-3-one	80
Figura 5.27 Espectro de RMN 13C del Stigmast-4-en-3-one	81
Figura 5.28 Espectro DEP del Stigmast-4-en-3-one	82
Figura 5.29 Estructura del Stigmast-4-en-3-one	82
Figura 5.30 Espectro de RMN 1H del Glucosido de β -sitosterol.....	83
Figura 5.31 Espectro de RMN 13C del Glucosido de β -sitosterol.....	84
Figura 5.32 Espectro DEP del Glucosido de β -sitosterol	85
Figura 5.33 Estructura del Glucosido de β -sitosterol	85

AGRADECIMIENTOS

A Dios en quién creo infinitamente gracias por cada día de vida.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el financiamiento durante mis estudios de maestría.

A la Universidad Autónoma Chapingo mi alma mater y a la División de Ciencias Forestales por otorgarme la oportunidad de realizar mis estudios de maestría y la disponibilidad de recursos e instalaciones para realizar los trabajos de investigación.

A la Asamblea General de Ejidatarios del Ejido La Mojonera por su confianza y facilidades para realizar esta investigación.

Al Ing. Francisco Martínez Pérez por información cartográfica y Programa de Manejo Forestal proporcionado.

Al Dr. Rogelio Flores Velázquez y la Dra. Martha Elena Fuentes López por su apoyo para que iniciara mis estudios de maestría.

Al Dr. Benito Reyes Trejo por la dirección de este trabajo de investigación y su apoyo en la identificación de los compuestos.

A la Dra. Ma. Amparo Borja de la Rosa quién guió el proceso de investigación, de quién recibí sus valiosas aportaciones y compartió conmigo su conocimiento.

Al Dr. Antonio Villanueva su asesoría en el desarrollo de esta investigación

Al Dr. Holber Zuleta por su asesoría y valioso apoyo en la etapa experimental de la investigación.

Al personal del Laboratorio de Tecnología de la Madera y Laboratorio de Productos Naturales por su apoyo y contribución en esta investigación.

A mis profesores de maestría quienes contribuyeron en mi formación

.

DEDICATORIA

Con mucho amor a mi mamá Isidra gracias por confiar en mí y ser mi ejemplo de perseverancia.

A mi abue María Cruz† te quiero, existes por siempre en mi corazón.

A mis hermanos Ana María, Oscar, Mireyda, muy especialmente a mis sobrinos Antonio y Yesenia mis personitas favoritas.

A mis amigos quienes me han brindado su cariño y amistad sincera.

DATOS BIOGRÁFICOS

Liliana Cuapio Hernández es originaria de San Luis Teolocholco Tlaxcala. Estudio la preparatoria y licenciatura en la Universidad Autónoma Chapingo, obtuvo el título de Ingeniero en Planeación y Manejo de Recursos Naturales con la tesis “Propuesta de diagnóstico integral en el Ordenamiento Ecológico del Territorio (Caso de estudio: Cuenca Necaxa-Laxaxalpan, Estado de Puebla)”.

De enero de 2004 a marzo de 2008 se desempeñó como prestador de servicios técnicos profesionales en Proselva Tropical de Quintana Roo S.C., Felipe Carrillo Puerto, Quintana Roo.

De junio de 2008 a mayo de 2011 laboró como prestador de servicios técnicos profesionales en Servicios Forestales de Hidalgo SERFORH S.C., Mineral de la Reforma, Hidalgo.

De junio de 2011 a marzo de 2015 laboró como analista técnico responsable del Programa de Cadenas Productivas Forestales en la Comisión Nacional Forestal - Gerencia Estatal en Hidalgo, Pachuca de Soto, Hidalgo.

En otoño de 2015 ingresó al programa de Maestría en Ciencias en Ciencias Forestales en la Universidad Autónoma Chapingo.

RESUMEN GENERAL

CARACTERÍSTICAS ANATÓMICAS, DENSIDAD DE LA MADERA Y ESTUDIO FITOQUÍMICO DE LA RAÍZ DE *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana* (MARTÍNEZ)

En México el género *Fagus* está representado por *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana* es una especie endémica con distribución en el Bosque Mesófilo de Montaña en los estados de Hidalgo, Nuevo León, Puebla, San Luis Potosí, Tamaulipas y Veracruz. El propósito de esta investigación fue conocer las características anatómicas, densidad de la madera y determinar los metabolitos secundarios del *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*. Se utilizó un método no destructivo, se extrajeron diez virutas a la altura de 1.30m del fuste. También se colectó madera y raíz de un árbol derribado por el viento. La anatomía macroscópica se realizó en probetas de los planos típicos de la madera, la microscópica en preparaciones fijas de cortes típicos y en material disociado. La clasificación de las características anatómicas se hizo en base a IAWA List of microscopic features for hardwood identification. La densidad de la madera se estimó según la NOM EE-117-1981. Los metabolitos secundarios se aislaron del extracto hexánico de raíz, por medio de cromatografía en columna, se identificaron por métodos espectroscópicos. La madera de haya mexicana es de color castaño claro, olor ligero, sabor amargo-astringente, brillo de medio a alto, vetado pronunciado, hilo recto y textura gruesa, se distinguen zonas de crecimiento, porosidad difusa, poros solitarios y agregados, placa simple y escaleriforme, puntuaciones intervasculares aeroladas opuestas, elementos de vaso medianos, tilosis, traqueidas vaciadas, fibras libiformes, parénquima axial apotraqueal difuso y difuso agregado, paratraqueal escaso, rayos heterocelulares de uniseriados a multiseriados y agregados, cristales prismáticos

y cuerpos de sílice. La densidad básica de la madera es de 0.58 g/cm³. Se encontraron cinco compuestos: β -Sitosterol, Estigmasterol, 3 β -Hidroxi-24-metilen cicloartano, Stigmast-4-en-3-one y Glucósido de β -Sitosterol. La madera de haya mexicana puede ser utilizada en la fabricación de pisos, implementos agrícolas entre otros.

Palabras clave: Haya mexicana, anatomía de la madera, propiedad física, metabolitos secundarios.

GENERAL ABSTRACT

ANATOMICAL CHARACTERISTICS, WOOD DENSITY AND PHYTOCHEMICAL STUDY OF THE ROOT of *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana* (MARTÍNEZ)

In Mexico the genus *Fagus* is represented by *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*, an endemic species distributed in the cloud forest of the states of Hidalgo, Nuevo Leon, Puebla, San Luis Potosí, Tamaulipas and Veracruz, México. The purpose of this research was to know the wood anatomical features, the wood density and to know the secondary metabolites in the species *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*. A non-destructive method was used, ten shavings were extracted at the height of 1.30 m from the stem. Also, wood and root were collected from a tree felled by the wind. The macroscopic anatomical was made with wood specimens of the typical planes of the wood, the microscopic anatomical description was made with permanent slides of typical cuts and dissociated material. The classification of the anatomical features was made according to the IAWA List of microscopic features for hardwood identification. The wood density was determined according to the NOM-EE-167-83 standard. The secondary metabolites were isolated in a hexane extract of root, by column chromatography, and the identification of compounds was performed with spectroscopic methods. The Mexican beech wood is light brown, has a slight odor, bitter-astringent taste, medium to high luster, veining pronounced, straight grained and coarse texture, growth zones boundaries distinct, diffuse porous, vessels solitary and also in small clusters, simple and scalariform perforation plates, intervessel pits opposite, medium vessel element length, tyloses, vasicentric tracheids, libriform fibers, axial parenchyma apotracheal diffuse and diffuse aggregate and scant paratracheal,

heterogeneous rays, from uniseriate to multiseriate and aggregate rays, prismatic crystals and silica bodies present. The wood density is 0.579 g / cm³. Five compounds were isolated: β -Sitosterol, Stigmasterol, Cycloartanol, Stigmast-4-en-3-one and β -Sitosterol glucoside. The Mexican beech wood can be used for the manufacture of floors and agricultural implements, among others.

Key words: Mexican beech, wood anatomy, wood density, secondary metabolites

2

² Tesis de Maestría en Ciencias en Ciencias Forestales, Universidad Autónoma Chapingo
Autor: Lilitiana Cuapio Hernández
Director de tesis: Dr. Benito Reyes Trejo

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

Los recursos forestales son parte de la diversidad que posee el país, en estos habitan plantas, árboles, fauna, insectos, hongos, microorganismos etc. la gran mayoría de estos seres han sido poco estudiados, repercutiendo en un desconocimiento de la importancia ecológica de cada uno. Tal es el caso del haya (*Fagus grandifolia* subsp. *mexicana* Martínez) especie objeto de estudio de esta investigación, el haya es una especie endémica y se encuentra en categoría de protección de acuerdo a la NOM-059-SEMARNAT 2010, las investigaciones sobre la especie se han enfocado hasta el momento en su conservación, regeneración, genética, tamaño y distribución de las poblaciones.

Los bosques de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana* en el país son susceptibles a incendios forestales, deforestación, fragmentación por el cambio de uso del suelo y a otros factores antropogénicos que inciden en el decremento paulatino de la superficie de estos, aunado al desconocimiento del potencial productivo del haya. Otras especies forestales en categorías de protección son aprovechadas bajo esquemas de Planes de Manejo Forestal y Unidades de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre debido a que la madera de esas especies son apreciadas por sus cualidades y poseen un importante valor comercial, por ejemplo el cedro rojo (*Cedrela odorata* L.).

La finalidad de este trabajo de investigación es describir las características anatómicas de la madera, estimar densidad de la madera e identificar metabolitos secundarios en la raíz del *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana* para generar información que contribuya al conocimiento científico, valoración de las cualidades de madera y y en el futuro coadyuve en el diseño de estrategias de manejo y conservación de la especie.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

La especie *Fagus grandifolia* Ehrh. subsp. *mexicana* (Martínez) E. Murray, pertenece al orden de los *Fagales*, familia *Fagaceae*, genero *Fagus*, especie *grandifolia*, subespecie *mexicana*, nombre común haya (Ehnis, 1981). Es una especie endémica y protegida de acuerdo a la NOM-059-SEMARNAT-2010. Los bosques de haya en México están en peligro de extinción, existe un área total menor a 160 ha. y están disminuyendo a nivel nacional. Esta es una razón importante para implementar programas de conservación y manejo de los bosques de haya en México (Rodríguez-Ramírez, Sánchez-González, y Ángeles-Pérez, 2013).

La madera es un material anisotrópico, formada por células individuales, que juntas determinan su morfología. Existe gran variabilidad de las características anatómicas y propiedades físicas, mecánicas y químicas de la madera entre especies e incluso entre individuos de la misma especie como consecuencia de la interacción de los diversos factores ambientales. (Vignote P., Picos M., & Zamora P., 2001). Las características y propiedades físicas, mecánicas y químicas de la madera tienen gran influencia en el proceso de transformación y calidad de productos (Vignote, 2001).

La madera del género *Fagus* en México hasta el momento no ha sido estudiada, en otras regiones del mundo la madera de este género posee gran importancia en aspectos de manejo forestal, producción, transformación y comercialización.

2.2 Anatomía de la madera

Los caracteres anatómicos y organolépticos son útiles para la identificación de la madera y son un auxiliar en la determinación de algunas de sus propiedades físicas y mecánicas (Barañao, Penón, Craig, Cucciuffo, y De Falco, 2008). Las

características anatómicas macroscópicas son: color, olor, sabor, brillo, vetado, hilo y textura. Barin (como se citó en Perez, 1999) menciona que la madera de *Fagus grandifolia* spp. *mexicana* es de color blanco o marrón palido, en ocasiones con tinte rosado, anillos visibles, grano recto, textura fina y uniforme. La madera de *F. grandifolia* (haya americana) varía en color la albura es casi blanca con un tinte rojo, mientras que en el duramen es pardo rojizo en algunos árboles y de color rojo claro a oscuro (Alden, 1995), (Carpenter, 1974), (Bond y Hamner, 2002). No contiene sabor ni olor distinguible, el vetado tiene poca figura y textura uniforme (Southeastern Lumber Manufacturers Association Inc., n.d.).

En la madera de *F. grandifolia* los caracteres microscópicos indican que no existe una línea clara de demarcación entre el duramen y la albura. La albura puede tener de 2 a 5 pulgadas de grosor (Carpenter, 1974), (Southeastern Lumber Manufacturers Association Inc., n.d.). Anillos de crecimientos distintos, porosidad es difusa, poros pequeños, solitarios y en múltiplos y racimos irregulares, numerosos y uniformemente distribuidos en la mayor parte del anillo; estrechos pero distintos en cada anillo debido a la disminución del tamaño del poro. Los rayos son gruesos de 15-25 seriados y uniseriados (Bond y Patrick., 2013), (Bond y Hamner, 2002), parénquima apotraqueal en bandas y ausencia de tilosis (Bond y Patrick, 2013).

Las características anatómicas macroscópicas de la madera de *Fagus sylvatica* son: color rosa blanquecino a marrón claro rojizo, brillo medio, olor y sabor no distinguible, grano recto a ligeramente irregular y textura media (Kribs, 1968). La madera *F. sylvatica*, presenta las siguientes características microscópicas: porosidad difusa semicircular, poros solitarios y agrupados (Schweingruber, 1982), proporción de vasos variable entre 90-150 vasos/mm², diámetro entre 50 y 60 μm , punteaduras areoladas sencillas (Vignote et al. 2001), placa simple y ocasionalmente escaleriforme, frecuentemente poros con tilosis, rayos heterogéneos y homogéneos, uniseriados y multiseriados. fibras libiformes.

(Schweingruber, 1982), diámetro y grosor oscila entre 20-25 μm . y 8-10 μm . respectivamente.

2.3 Densidad de la madera

La densidad de la madera es la propiedad física de la madera de mayor importancia, debido a que influye de forma directa en casi la totalidad de las características físicas y mecánicas (Vignote, *et al.*, 2001). El peso específico aparente (densidad) de un cuerpo es la relación entre su peso y volumen. La madera al ser un cuerpo higroscópico y poroso, su volumen varía debido al contenido de humedad (Kollmann, 1959). Dadas las características de la madera, la densidad de la madera deberá expresar el contenido de humedad (CH) como puede ser: el 0% de CH se denomina densidad anhidra, 12% de CH es la densidad normal. La densidad básica de una madera es la relación entre el peso anhidro y volumen de la madera cuando el contenido de humedad es superior al punto de saturación de la fibra. (Vignote y Jiménez, 1996).

La densidad básica de la madera es un indicador de gran relevancia de muchas de las propiedades de la madera, debido a que presenta una buena correlación con otras características y propiedades como son: la estructura anatómica, contenido de humedad y relación albura y duramen en cada especie. (Tamarit-Urias y Fuentes-Salinas, 2003)

La NOM EE-117-1981 establece los métodos de prueba para determinar el peso específico aparente de la madera en la fabricación de envases y embalajes. Especifica los aparatos, equipos y dimensión de las muestras (2 cm x 2 cm x 2cm) para estimar el peso específico. Describe los métodos para determinar el volumen de la probeta e indica las expresiones matemáticas para realizar los cálculos del peso específico aparente.

La densidad de la madera para *F. grandifolia* es de 0.64 con un contenido de humedad al 12% (Bond y Hamner, 2002), (Alden, 1995) y (Southeastern Lumber Manufacturers Association Inc., n.d.). Por otra parte (Carpenter, 1974) menciona que la gravedad específica es de 0.56.

La especie *F. sylvatica* tiene una densidad normal de 0.772 g/cm³ clasificándola como semipesada de acuerdo a la norma UNE 56.540 (Vignote, Picos, y Zamora, 2001)

2.4 Usos de la madera

La madera de haya está clasificada como pesada, dura, fuerte, alta en resistencia al choque y muy adecuada para doblar al vapor, es una madera excelente para girar, se desgasta bien y es bastante fácil de tratar con preservativos (Southeastern Lumber Manufacturers Association Inc., n.d.), es de fácil terminado con pintura o acabados transparentes (Carpenter, 1974). La madera generalmente se utiliza en pisos, muebles, manijas, chapa, y contenedores. Cuando es tratado, es conveniente para los lazos ferroviarios (Southeastern Lumber Manufacturers Association Inc., n.d.). El haya ha incrementado uso para la fabricación de partes curvas en sillas, también puede utilizarse como reemplazo parcial de maderas coníferas en la fabricación del grado de viscosa de la pulpa disolvente (Carpenter, 1974).

2.5 Fitoquímica

La fitoquímica es una parte de la química que permite aislar e identificar los principios activos de las plantas con actividad biológica. Estudia la variedad de sustancias orgánicas elaboradas y acumuladas por las plantas, determina la

estructura y biosíntesis, para derivar en su posible uso industrial, medicinal o alimenticio (Carrizales y Soto, 1979).

La separación de componentes de una mezcla generalmente se realiza con técnicas de cromatografía. La cromatografía es un método físico –químico de separación de componentes de una mezcla, se fundamenta en dos fases estacionaria y móvil, la estacionaria es un área de gran superficie consiste en un sólido poroso o un líquido retenido en un soporte sólido. La fase móvil generalmente es un fluido (líquido o gas) que pasa a través de la fase estacionaria. Esta técnica de separación permite identificar y medir la cantidad del compuesto. La cromatografía en capa delgada se basa en una fase estacionaria extendida en un soporte generalmente una placa (gel de sílice, alúmina o celulosa) en la que se sitúa la disolución de la muestra y una fase móvil que fluye a través de ella. La fase móvil siempre es un líquido mientras que la fase estacionaria puede ser un líquido o sólido adsorbente. El flujo de la fase móvil se produce por capilaridad y/o gravedad (Valcárcel y Gómez, 1988). La elección de la fase móvil se realiza de forma empírica, hay que estudiar la polaridad del componente y probar con solventes cada vez menos polares y que generen una mejor elución (Carrión y García, 2010).

La cromatografía en columna es una técnica de separación en donde la fase estacionaria (sílica gel) está contenida dentro de en un tubo de vidrio vertical. La muestra es aplicada líquida y sólida (absorbida) por la fase estacionaria. La fase móvil (eluyente) se agrega por la parte superior del tubo cromatográfico y se filtra a lo largo del lecho estacionario fluyendo por gravedad. Las muestras son colectan en la parte inferior, de esta manera se separan los componentes de la muestra.(Martínez, Valencia, Jimenez, Mesa, y Galeano, 2008).

La identificación compuestos se realiza con métodos espectroscópicos (masas, infrarrojo, Resonancia Magnética de protón (RMN-¹H), Resonancia Magnética de Carbono (RMN-¹³C).

Las propiedades químicas del haya hacen que sea una fuente importante de varios productos químicos ampliamente utilizados. Es una madera excepcional para la producción de metanol, acetato y alquitrán de madera. La creosota hecha de alquitrán de haya es considerada la mejor para fines médicos.(Carpenter, 1974). Yamamoto, Inciong, Davin, y Lewis (1990) demostraron la formación de Z-coniferina en corteza de *Fagus grandifolia*, la corteza de haya acumula exclusivamente cis-monolignoles y sus conjugados glucosídicos. La acumulación de Z-monolignoles es una prueba de que los monolignoles cis están implicados en la formación de lignina en estos tejidos vegetales.

Los metabolitos secundarios funcionan como alternativa para la prevención y tratamiento de algunos padecimientos que actualmente tiene mucha significancia en la mortalidad de la población (Rosales, 2005).

2.6 Árboles medicinales

Las plantas de México son utilizadas para una gran variedad de propósitos, entre los que se incluyen los usos medicinales, comestibles, colorantes, aromatizantes, maderables, combustibles, materias primas, adhesivos y otros usos diversos. (Caballero, Casas, Cortés, y Mapes, 1998). Entre estas plantas se encuentran especies de árboles de gran importancia en la medicina tradicional y en la moderna, tal es el caso del tepezcohuite, cuachalalate y árbol del tejo. El Tepezcohuite (*Mimosa tenuiflora*) conocido como “árbol de la piel” a la corteza de este árbol se le atribuyen efectos analgésicos, antiinflamatorios y capacidad de acelerar la cicatrización. El cuachalalate (*Amphiptherygium adstringens*) tiene propiedades curativas como: reduce el colesterol, antiinflamatorias y agente antiulceroso (Olivera, *et al.*, 1999), es usado en el tratamiento de enfermedades gastrointestinales. El árbol del tejo (*Taxus spp.*) contiene en el follaje y corteza taxoides, son metabolitos secundarios de gran importancia comercial debido a la

actividad anticancerígena, el taxol funciona como un potente agente quimioterapéutico aprovechado en el tratamiento de una gran variedad de tipos de cáncer: seno, pulmón y ovario, principalmente (Barrales-Cureño y Soto-Hernández, 2012).

Otras especies forestales como el encino o pino son de gran importancia socioeconómica por el valor comercial de su madera, sin embargo especies del género *Quercus* son empleadas en infusiones para el tratamiento de enfermedades. La corteza y hojas de *Q. acatenangensis* se emplea para el tratamiento de heridas, llagas y granos infectados e infecciones vaginales. La corteza seca y molida de *Q. acutifolia* se utiliza en las quemaduras de piel. Las especies *Q. conspersa* y *Q. crassifolia* se le atribuyen propiedades desinflamatorias y se utilizan en padecimientos de encías y amígdalas inflamadas. Además la especie *Q. crassifolia* se utiliza en combinación con otras plantas en el temazcal para bañar a las mujeres después del parto (Luna, Montalvo y Rendón, 2003)

Los aceites esenciales de *Liquidámbar styraciflua* y *Pinus gregii* poseen propiedades para combatir insectos Los extractos etanólicos de las especies *Bursera simaruba*, *Cedrela odorata* tienen actividad antibacteriana (Villavicencio-Nieto y Pérez-Escandón, 2010)

2.7 Área de estudio

El área de estudio es el bosque de haya ubicado en Ejido La Mojonera, municipio de Zacualtipán, estado de Hidalgo (Figura 2.1). El bosque de haya de haya comprende 43 ha. (Martínez, 2014) se ubicación geográfica es 20°38'0.3322 latitud norte, 98° 36'51.8" longitud oeste, el estrato arbóreo superior se encuentra dominado por *F. grandifolia* subsp. *mexicana* en el que se asocian en menor grado especies como *Magnolia schiedeana* Schlecht., *Clethra macrophylla* M.

Martens y Galeotti y especies del genero *Quercus* sp. (Rodríguez-Ramírez et al., 2013).

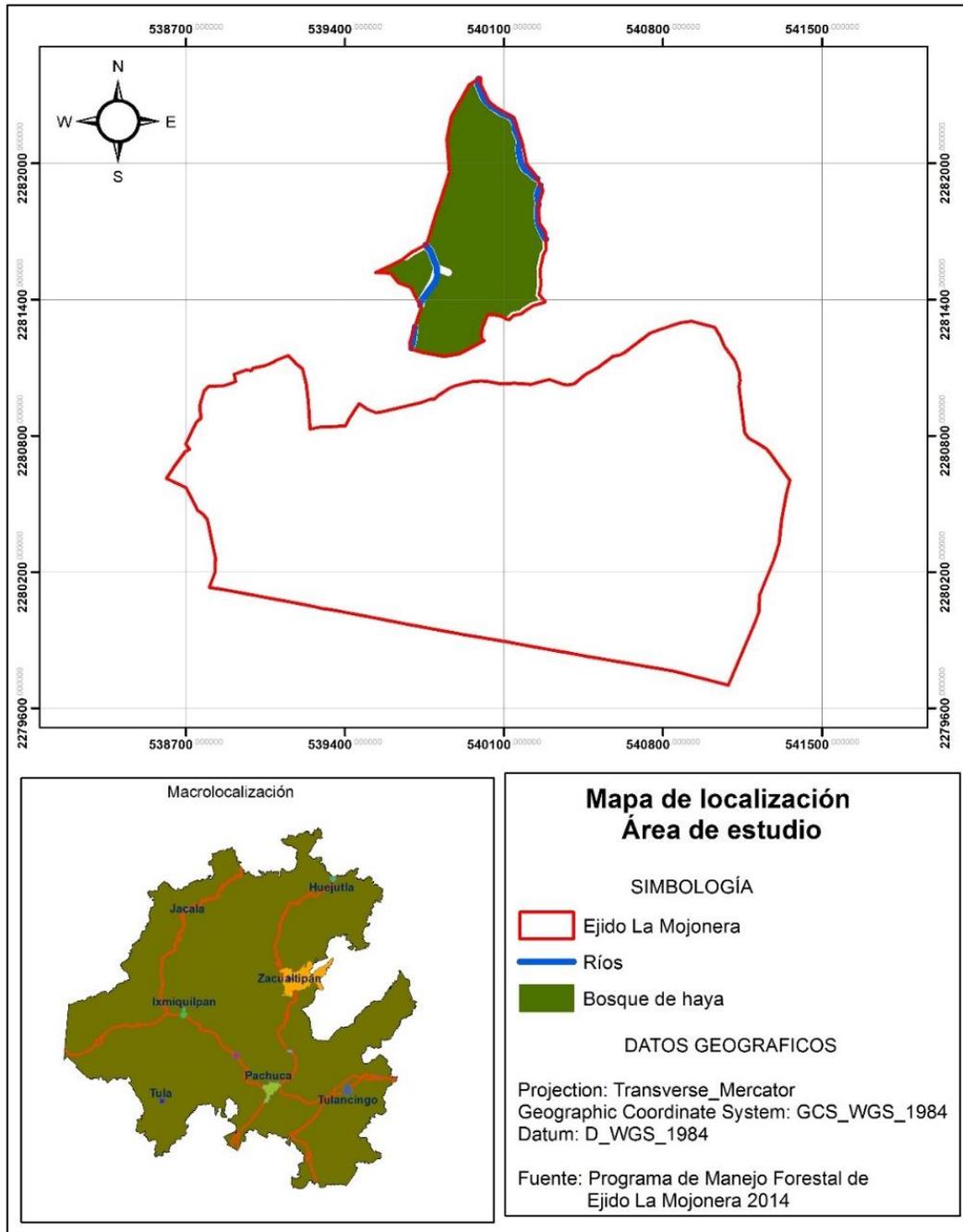


Figura 2.1 Mapa de localización del bosque de haya en el Ejido La Mojonera, Hgo.

2.8 Literatura citada

- Alden, H. A. (1995). *Hardwoods of North America*. Gen. Tech. Rep. FPL–GTR–83. Department of Agriculture, Forest Service, Forest Products Laboratory. Madison, Wi. U.S.
- Baraño, J. J., Penón, E. A., Craig, E., Cucciúfo, E., y De Falco, P. (2008). Manual para la identificación de maderas con aumentos de hasta 10x. Departamento de Tecnología. Universidad Nacional de Luján, Buenos Aires Argentina., 57. <http://doi.org/10.1016/j.tvjl.2011.06.036>
- Barrales-Cureño, H. J., y Soto-Hernández, R. M. (2012). Taxoides: metabolitos secundarios del árbol del tejo (*Taxus spp.*). *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, XVIII(2), 207–218. <http://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2011.02.017>
- Bond, B., y Hamner, P. (2002). PB1692 Wood Identification for Hardwood and Softwood Species Native to Tennessee. The University of Tennessee Agricultural Extension Service. The University of Tennessee Agricultural Extension Service, PB1692-1.5M-2/02 E12-4915-00-010-002. http://trace.tennessee.edu/utk_agexfores/10
- Bond, B., y Patrick., R. (2013). Wood Identification for Species Native to Virginia (Publicatio). Virginia Cooperative Extension. Virginia Tech. Virginia State University. https://pubs.ext.vt.edu/content/dam/pubs_ext_vt_edu/ANR/ANR-64/ANR-64_PDF.pdf
- Caballero, J., Casas, A., Cortés, L., y Mapes, C. (1998). Patrones en el conocimiento, uso y manejo de plantas en pueblos indígenas de México. *Estudios Atacameños*, 16, 181–195. <http://www.jstor.org/stable/25674716>

- Carpenter, R. D. (1974). American Beech. U.S. Department of Agriculture american Woods. https://pubs.ext.vt.edu/content/dam/pubs_ext_vt_edu/ANR/ANR-64/ANR-64_PDF.pdf
- Carrión J., A. V., y García G., C. F. (2010). Preparación de extractos vegetales: determinación de eficiencia de metódica. Tesis Licenciatura. Facultad de Bioquímica y Farmacia. Universidad de Cuenca. Cuenca, Ecuador.
- Carrizales S., S., y Soto R., M. (1979). La fitoquímica en la investigación forestal. *Ciencia Forestal*, 4(22), 3–20. <http://cienciasforestales.inifap.gob.mx/editorial/index.php/Forestales/article/view/786/784>.
- Ehnis Dunke, E. (1981). *Fagus mexicana* Martínez, su Ecología e Importancia. Tesis Profesional. Universidad Autónoma de México. México D.F., 123.
- Kollmann, F. (1959). Tecnología de la madera y sus aplicaciones. Ministerio de Agricultura. Instituto Forestal de Investigaciones y Experiencias y Servicio de La Madera. Madrid, España., 675.
- Kribs, D. A. (1968). Commercial foreign woods on the American Market. Dover Publications, Inc. New York. USA., 241.
- Caballero, J., Casas, A., Cortés, L., y Mapes, C. (1998). Patrones en el conocimiento, uso y manejo de plantas en pueblos indígenas de México. *Estudios Atacameños*, 16, 181–195. <http://www.jstor.org/stable/25674716>
- Martinez, A., Valencia, G. A., Jimenez, N., Mesa, M., y Galeano, E. (2008). Manual de Prácticas de Laboratorio de Farmacognosia y Fitoquímica. Departamento de Farmacia. Facultad de Química Farmacéutica. Universidad de Antioquia. Medellín Colombia., 1–96.

- Martínez P., F. (2014). Programa de Manejo Forestal nivel avanzado para el aprovechamiento de los recursos forestales maderables. Servicios Forestales de Hidalgo SERFORH S.C., Pachuca de Soto, Hidalgo., 121.
- Olivera O., A. G., Soto H., M., Martínez V., M., Terrazas S., T., y Solares A., F. (1999). Phytochemical study of cuachalalate (*Amphiptherygium adstringens*, Schiede ex Schlecht). *Journal of Ethnopharmacology*, 68(1–3), 109–113. [http://doi.org/10.1016/S0378-8741\(99\)00047-1](http://doi.org/10.1016/S0378-8741(99)00047-1)
- Perez R., P. M. (1999). Las hayas de México. Monografía de *Fagus grandifolia* spp. Mexicana. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Edo. de México., 51.
- Rodríguez-Ramírez, E. C., Sánchez-González, A., y Ángeles-Pérez, G. (2013). Current distribution and coverage of Mexican beech forests *Fagus grandifolia* subsp . mexicana in Mexico. *Endangered Species Res*, 20, 205–216. <http://doi.org/10.3354/esr00498>
- Rosales L., M. C. (2005). Extracción , separación e identificación de algunos fitoesteroles , saponinas y flavonoides presentes en el frijol negro (*Phase vulgaris*). Tesis de Maestría. Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey. Monterrey N.L. Méx., 99. <http://hdl.handle.net/11285/567288>
- Schweingruber, F. H. (1982). Mikroskopische Holzanatomie. Anatomie microscopique du bois. Microscopic Wood Anatomy. Birmensdorf Kommissionsverlag Zürcher AG. Birmensdorf, Suiza, 226.
- Southeastern Lumber Manufacturers Association Inc. (n.d.). The Hardwood Handbook, an Illustrated Guide to Appalachian and Southern Lumber.
- Tamarit-Urias, J. C., y Fuentes-Salinas, M. (2003). Parámetros de humedad de

63 maderas latifoliadas mexicanas en función de su densidad básica.
Revista Chapingo, Serie Ciencias Forestales y del Ambiente, 9(2), 155–164.

Valcárcel Cases, M., y Gómez Hens, A. (1988). Técnicas analíticas de separación. Barcelona, España.: Reverté, S.A.

Vignote P., S., Picos M., J., y Zamora P., R. (2001). Características de las principales maderas utilizadas en Bizkaia. Tecnología y aplicaciones. Departamento de Agricultura de la diputación Foral de Bizkaia. España, 292.

Vignote, S., y Jiménez, F. (1996). Tecnología de la madera. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid, España. 606 p.

Villavicencio-Nieto, M. Á., & Pérez-Escandón, B. E. (2010). Flora útil de la Huasteca y la Zona Otomí-Tepehua del Estado de Hidalgo. Ciencia Universitaria, (1), 23–33.

Yamamoto, E., Inciong, E. J., Davin, L. B., y Lewis, N. G. (1990). Formation of cis-coniferin in cell-free extracts of *Fagus grandifolia* Ehrh bark. *Plant Physiol*, 94, 209–213. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=11537477

3. ANATOMÍA DE LA MADERA DE FAGUS GRANDIFOLIA SUBSP. MEXICANA

3.1 Resumen

En México el género *Fagus* está representado por *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana* que es una especie endémica con una distribución restringidas a los estados de Hidalgo, Nuevo León, Puebla, San Luis Potosí, Tamaulipas y Veracruz . El propósito de esta investigación fue conocer las características anatómicas de la madera *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana* mediante un método no destructivo, que consistió en la extracción de virutas de la sección transversal del fuste y madera obtenida de un árbol derribado por el viento. La descripción anatómica macroscópica se realizó con probetas de los planos típicos de la madera (tangencial, transversal y radial). La descripción anatómica microscópica se llevó a cabo en preparaciones fijas de cortes típicos de la madera y en material disociado. Las preparaciones fijas se analizaron con microscopio óptico. La descripción de las características anatómicas se realizaron en base a IAWA List of microscopic features for hardwood identification. Los elementos de la madera mensurables se les determinaron parámetros estadísticos. La madera de haya mexicana es de color castaño claro, tiene un olor ligero, sabor amargo-astringente, brillo de medio a alto, veteado pronunciado, hilo recto y textura gruesa. A nivel microscópico se distinguen zonas de crecimiento, la porosidad difusa, poros solitarios y agregados, placa simple y escaleriforme, puntuaciones intervasculares aeroladas opuestas, elementos de vaso medianos, tilosis, traqueidas vacicentricas, fibras libiformes, parénquima axial difuso agregado, paratraqueal escaso y apotraqueal difuso, rayos heterocelulares de uniseriados a multiseriados, rayos agregados, cristales prismáticos y cuerpos de sílice.

PALABRAS CLAVE: Haya mexicana, anatomía microscópica, anatomía macroscópica, Hidalgo, México.

Abstract

In Mexico the genus *Fagus* is represented by *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*, an endemic species. The purpose of this research was to know the wood anatomical features, A non-destructive method was used which consisted in the extraction of cores of the cross section of the stem and wood obtained from a tree felled by the wind. The macroscopic anatomical description was made with wood specimens of the typical planes of the wood. The microscopic anatomical description was made with permanent slides of cuts typical of the planes of the wood and dissociated material. The description of the anatomical features were made based on IAWA List of microscopic features for hardwood identification. The measurable elements of the wood were determined statistical parameters. The mexican wood beech is light brown colored, has a slight odour, bitter-astringent taste, medium to high gloss, veining pronounced, straight grained and coarse texture. Observation on a microscopic scale shows: growth zones boundaries distinct, difusse porosity, vessels solitary and small clusters, simple and scalariform perforation plates, intervessel pits opposite, medium vessel element length, tyloses, vasicentric tracheids, libriform fibres, axial parenchyma diffuse, paratracheal and apotracheal parenchyma, heterogeneous rays, uniseriate, diseriate, multiseriate rays and aggregate rays, prismatic crystals and silica bodies present.

KEYWORDS: Mexican beech, microscopic anatomy, macroscopic anatomy, Hidalgo, Mexico

3.2 Introducción

Los bosques de *Fagus grandifolia* Ehrh. se distribuyen en amplias áreas de Canadá y Estados Unidos, en estos países existen diversos estudios sobre su composición florística, estructura, dinámica poblacional, condiciones ambientales y manejo forestal, entre otros aspectos. Sin embargo, en México los estudios sobre *F. grandifolia subsp. mexicana* son escasos (Ortiz-Quijano, Sánchez-Gonzalez, López-Mata, y Villanueva-Díaz, 2016).

La madera del genero *Fagus* (Haya) en Europa y América del Norte posee gran importancia económica, se han realizado diversas investigaciones sobre las propiedades de la madera. En México no se ubican estudios sobre la características, propiedades y tecnología de la madera de haya, esto puede deberse a que se encuentra en la NOM 059 en la categoría de riesgo (Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales [SEMARNAT], 2010), aunado a la falta de implementación de programas de manejo y conservación forestal de haya de México (Rodríguez-Ramírez, Sánchez-González, y Ángeles-Pérez, 2013).

La madera de *Fagus grandifolia* Ehrh. producida en Estados Unidos proviene de bosques manejados, lo cual repercute de una manera importante en las propiedades tecnológicas de las maderas aumentando su calidad de maquinado (Sánchez-Rojas y Cedillo-Aguilar, 2000). Esta ha sido generalmente aprovechada en madera en rollo, durmientes, madera para carbón y destilados y madera para pasta (Carpenter, 1974).

Las características anatómicas y propiedades físicas de la madera le confieren parámetros de calidad para un uso óptimo entre los que destacan: Hilo de la madera, veteado, color, textura, dureza, densidad básica, coeficiente de contracción y relación de anisotropía (Sánchez-Rojas, 2000).

Esta parte de la investigación tiene la finalidad de determinar las características anatómicas de la madera de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana* contribuir al conocimiento científico y técnico así como al manejo y aprovechamiento sustentable de la especie.

3.3 Objetivos

3.3.1 Objetivo General

Determinar las características anatómicas de la madera *Fagus grandifolia* subsp *mexicana* mediante un método no destructivo.

3.3.2 Objetivos particulares.

- Describir las características anatómicas macroscópicas de la madera de *Fagus grandifolia* subsp *mexicana*.
-
- Analizar las características microscópicas de la madera de haya mexicana.

3.4 Materiales y métodos

3.4.1 Colecta

La colecta de muestras se realizó el 16 de abril de 2016 en el Ejido La Mojonera, municipio de Zacualtipán de Ángeles estado de Hidalgo, México. Se utilizó un método no destructivo, el cual consistió en extraer una viruta de la sección transversal del fuste con un taladro de Pressler a 1.30 m. de altura del árbol (Figura 3.1).

Se seleccionaron 11 árboles al azar y de cada uno se extrajo una viruta (Cuadro 3.1), la cual se marcó con una clave para identificarla, las virutas se colocaron en una botella de agua purificada para preservarlas y transportarlas. Después de extraer la viruta se procedió a cubrir la perforación en el fuste con taquetes de madera impregnados con formol y se aplicó sellador para madera, con el objetivo de impedir la entrada de insectos y hongos (Figura 3.2)



Figura 3.1 Obtención de muestras



Figura 3.2 Sellado de árbol

Debido a que el haya mexicana es un especie poco estudiada, también se colectaron muestras de madera de dos árboles muertos por derribo del viento, se obtuvieron dos trozas de 1.30 m de largo (Figura 3.3 y 3.4). Las muestras de madera y virutas se trasladaron al laboratorio de Anatomía y Tecnología de la Madera de la División de Ciencias Forestal en la Universidad Autónoma Chapingo.



Figura 3.3 Árbol muerto



Figura 3.4 Troza de madera

Cuadro 3.1 Árboles muestreados de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*

No. árbol	DAP (cm)
1	32
2	39
3	31
4	37
5	56
6	56
7	40
8	42
9	33
10	50
11	34

3.4.2 Descripción de características anatómicas macroscópicas

La descripción de características anatómicas macroscópicas se realizó con tablillas (probetas) de madera de dimensiones 1 x 7 x 12 cm. Para obtener las probetas se marcó en la sección transversal de las trozas de 15 cm de longitud, con ayuda de plantillas las probetas en sentido transversal, tangencial y radial (Figura 3.5). A continuación se cortaron con una sierra cinta (Figura 3.6), se dejaron secar sobre una rejilla, se lijaron con una lijadora (Knova KNDB-461).



Figura 3.5 Marcado de tablillas.



Figura 3.6 Elaboración de tablillas

Los caracteres macroscópicos se observaron a simple vista y con una lupa de 10x, fueron: color, olor, sabor, brillo, hilo, textura, veteado y visibilidad de elementos estructurales de la madera, se clasificaron de acuerdo a Tortorelli (1956). El color se determinó con tablas de color de Munsell (Munsell Color Company, 1988)

3.4.3 Análisis de características anatómicas microscópicas

El análisis anatómico microscópico se realizó con preparaciones fijas de laminillas de cortes (tangencial, transversal, radial) elaboradas con las virutas de madera. Las virutas se seccionaron cada dos centímetros, cada sección se colocó en un frasco de vidrio de 30 ml. con agua destilada y se ablandaron en una estufa (Riossa HD41) a 60 °C durante 10 días (Guridi, 1977). De cada sección se realizaron laminillas o cortes de los planos típicos en la madera (tangencial, transversal y radial) con un micrótopo de deslizamiento (Leica SM2000R) (Figura 3.7). Las laminillas del plano tangencial, transversal y radial se obtuvieron a 30, 20 y 35 μm de grosor respectivamente. Los cortes se tiñeron con Pardo de Bismark (Merck) durante 5 horas (Figura 3.8), posteriormente se lavaron con agua destilada hasta eliminar la totalidad de colorante.



Figura 3.7 Corte de laminillas



Figura 3.8 Tinción de laminillas

Las laminillas teñidas se sumergieron durante 2 min. en alcohol etílico al 96%, posteriormente se sumergieron 2 min. en alcohol absoluto para deshidratarlas y para lubricar los cortes se sumergieron en Xilol durante 10 segundos (Figura 3.9) a continuación las laminillas se colocaron en un portaobjetos y se depositó una gota de resina sintética (Entellan) como medio de fijación se realizaron 85 preparaciones fijas (Figura 3.10).



Figura 3.9 Proceso de deshidratación y lubricación



Figura 3.10 Preparaciones fijas

El estudio anatómico microscópico consistió en la descripción, cuantificación y medición de los elementos estructurales de la madera tales como: elementos de vaso, fibras, parénquima y rayos. Se utilizó un microscopio electrónico (Leica DM3000) integrado con cámara (Leica DFC295) para tomar fotografías de las 85 preparaciones con los diferentes objetivos del microscopio. En el plano transversal se obtuvieron fotografías con objetivos 2.5x, 5x, 10x y 20x para cuantificar la proporción y diámetro de elemento de vaso, además observar el tipo de porosidad y parénquima axial. En el plano tangencial se tomaron fotografías con el objetivo 2.5x, 5x, 10x, y 20x, para medir la longitud y ancho de rayos, y describir el tipo de puntuaciones. En el plano radial se tomaron fotografías con los objetivos 2.5x, 5x, 10x, 20x y 40x para determinar el tipo de rayo, placa y contenido celular.

La medición y proporción de los elementos se llevó a cabo en el software Leica Application Suite (LAS 3.8) (Figura 3.11). Las características anatómicas microscópicas se describieron en base a IAWA Committee (1989).

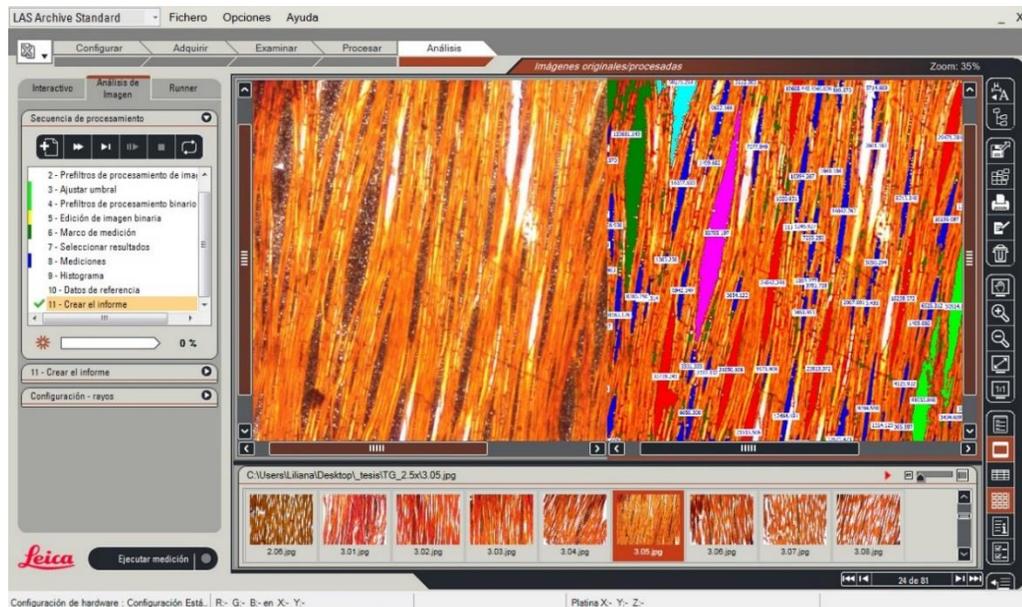


Figura 3.11 Interfaz del módulo Análisis Imagen LAS 3.8

Las dimensiones de las fibras y elementos de vaso se hicieron con preparaciones fijas del material disociado, el cual se obtuvo de la maceración de madera. Para disociar la madera se realizaron astillas de cada sección de las virutas, se colocaron en un frasco de 30 ml., se agregó 15 ml de una mezcla disociadora 1:1 de ácido acético glacial y peróxido de hidrogeno, los frascos cerrados se depositaron en una estufa a 60°C durante 96 horas (Figura 3.12) con la finalidad de lograr la separación de células. Concluido el periodo de tiempo se eliminó la mezcla disociadora por el método de decantación, se lavó el material disociado con agua destilada, se procedió a teñir con Pardo de Bismark durante 3 horas (Figura 3.13), se lavó el material con agua destilada hasta eliminar el colorante.



Figura 3.12 Muestras en maceración



Figura 3.13 Tinción de material disociado

Se realizaron 86 preparaciones fijas, con un pincel se colocó material disociado en portaobjetos (Figura 3.14), se dejó secar el disociado a temperatura ambiente, una vez seco se agregó resina sintética (Entellan) como medio de inclusión y se cubrió con cubreobjetos (Figura 3.15).



Figura 3.14 Montaje de material disociado



Figura 3.15. Preparaciones fijas de disociado

El número de elementos de vaso y fibras a medir se determinó considerando una premuestra de 37 mediciones de la longitud de las fibras, el tamaño de la muestra se determinó con una expresión matemática:

$$n = \frac{t^2 cv^2}{E^2}$$

Dónde: n = Tamaño de la muestra

t = Valor percentil de la tabla de la distribución t-Student para una $\alpha = 0.05$

E = margen de error = 0.06

cv = Coeficiente de variación (media/desviación estándar)

El tamaño de la muestra estimado fue de 18 mediciones para fibras y elementos vasculares en cada preparación fija. Se utilizó un microscopio electrónico (Leica DM3000) integrado con cámara (Leica DFC295) y el software Leica Application Suite (LAS 3.8), para realizar las mediciones de fibras (longitud y ancho), lumen

y longitud de elementos vasculares con y sin ápice, debido a la variabilidad de los ápices.

3.4.4 Análisis de datos

El método para estimar la proporción de elementos constitutivos de la madera se realizó de acuerdo a Machuca (1995) y se clasificaron en base a Kollman (1959). El diámetro y proporción de elementos de vaso (PEV) se analizó con los datos obtenidos de LAS informe del análisis de las imágenes del plano transversal 10x, la proporción se obtuvo con la siguiente ecuación:

$$PEV(\%) = \frac{\text{Área de elementos de vaso}}{\text{Área específica}} \times 100$$

La longitud, ancho y proporción de rayos (PR) se estimó con la base de datos LAS informe del análisis de las imágenes del plano tangencial 2.5x, la proporción se calculó con la siguiente expresión:

$$PR(\%) = \frac{\text{Área de rayos}}{\text{Área específica}} \times 100$$

La proporción de parénquima axial (PPA) se evaluó con la base de datos LAS informe del análisis de las imágenes del plano transversal 20x, la proporción se calculó con la siguiente ecuación:

$$PPA(\%) = \frac{\text{Área de parenquima axial}}{\text{Área específica}} \times 100$$

La proporción de fibras (PF) se estimó por la diferencia de proporciones de elementos de vaso, rayos y parénquima axial a continuación se indica:

$$PF(\%) = (100 - PEV - PR - PPA)$$

En análisis estadístico de las características anatómicas susceptibles de medición se realizó con el programa estadístico R. Se estimaron los siguientes parámetros: valores máximos y mínimos, media, desviación estándar, coeficiente de variación y se clasificaron de acuerdo a Tortorelli (1956).

3.5 Resultados

3.5.1 Características macroscópicas

La madera de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana* no presenta diferencia de color entre duramen y duramen, el color de la madera es castaño claro (7.5YR 6/4), presenta olor ligero, sabor amargo-astringente, brillo de medio a alto, vetado pronunciado, hilo derecho (recto), textura gruesa. A simple vista se observan: anillos de crecimiento delimitados, rayos multiseriados, porosidad difusa y parénquima difuso agregado (Figura 3.16).



Figura 3.16 Cortes típicos macroscópicos de la madera de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*. **A:** Corte transversal, **B:** Corte radial, y **C:** Corte tangencial.

3.5.2 Características microscópicas

Las características anatómicas microscópicas de la madera de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana* se analizaron y describieron en los tres cortes típicos (Figura 3.17,3.18 y 3.19).

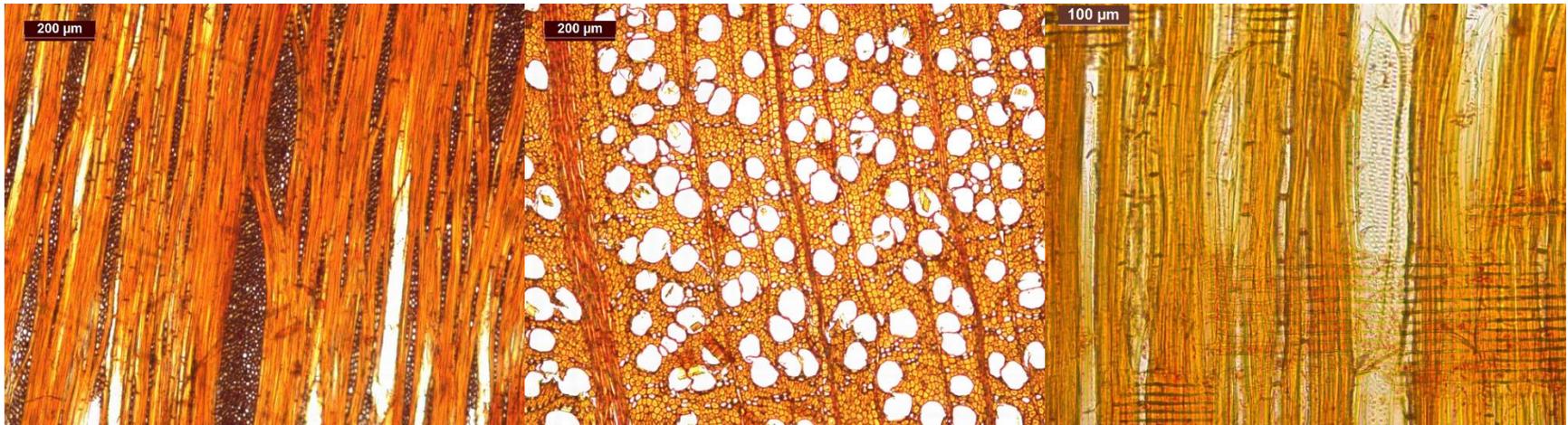


Figura 3.17 Corte tangencial 5x

Figura 3.18 Corte transversal 5x

Figura 3.19 Corte radial 10x

La madera presentó zonas de crecimiento diferenciándose la madera temprana (lúmenes amplios y pared celular delgada) de la madera tardía (lúmenes angostos y pared celular gruesa) (Figura 3.20). Se observó que los rayos tienden a engrosarse en los límites de las zonas de crecimiento (Figura 3.21).

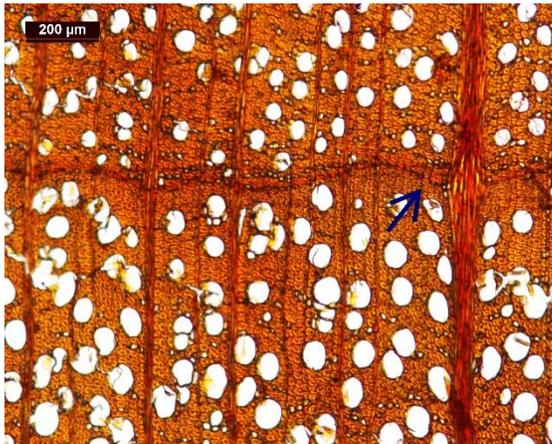


Figura 3.20 Zona de crecimiento (5x)

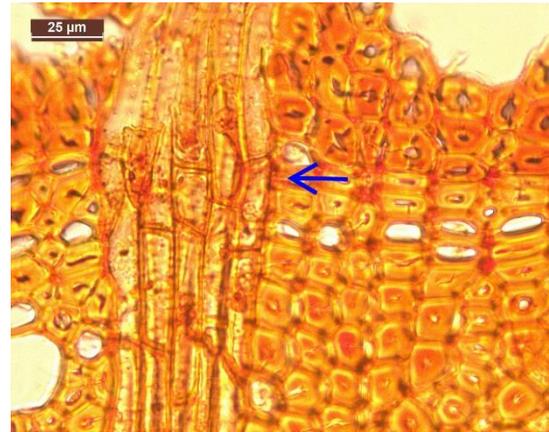


Figura 3.21 Engrosamiento del rayo (40x)

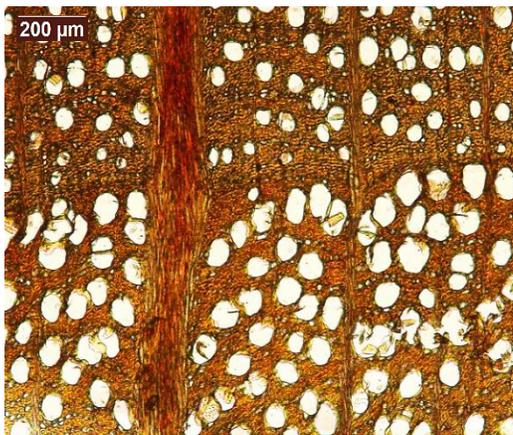


Figura 3.22 Porosidad difusa (5x)

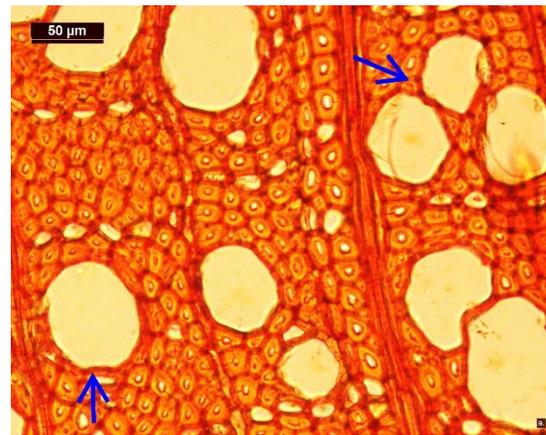


Figura 3.23 Poros solitarios y agregados (40x)

La porosidad es difusa (Figura 3.22), los poros tienen una forma circular, tamaño similar y se distribuyen uniformemente en orientación tangencial. Los poros son solitarios, ocasionalmente se observan poros agregados en grupos de dos a cuatro (Figura 3.23). Los poros cercanos a las zonas de crecimiento disminuyen de tamaño de madera temprana a madera tardía.

Los elementos vasculares presentaron placa simple con abertura circular (Figura 3.24 y 3.24). y ocasionalmente presentan placa escaleriforme con aberturas alargadas y paralelas separadas con 10-20 barras algunas ramificadas (Figura 3.26 y 3.27).

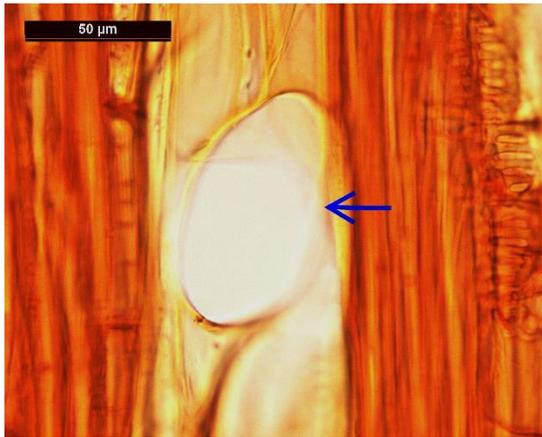


Figura 3.24 Placa simple (40x)

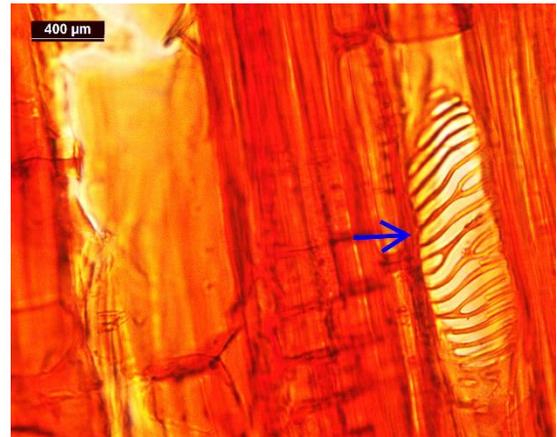


Figura 3.25 Placa escaleriforme (40x)



Figura 3.26 E. vaso con placa simple



Figura 3.27 E. vaso con placa escaleriforme

En los elementos de vaso se observaron puntuaciones intervasculares aeroladas opuestas (Figura 3.28) y puntuaciones rayo-vasculares horizontales con borde simple (Figura 3.29). No se observaron engrosamientos helicoidales.

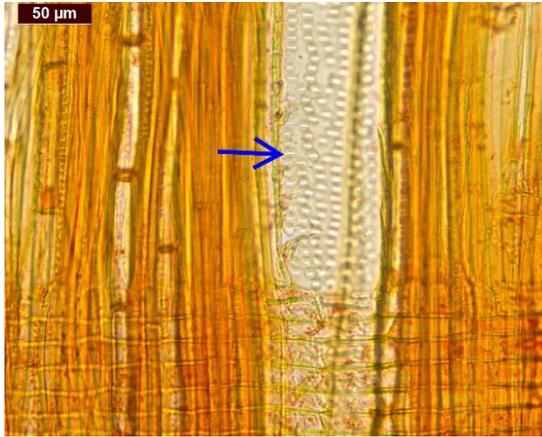


Figura 3.28 Puntuaciones opuesta (20x)

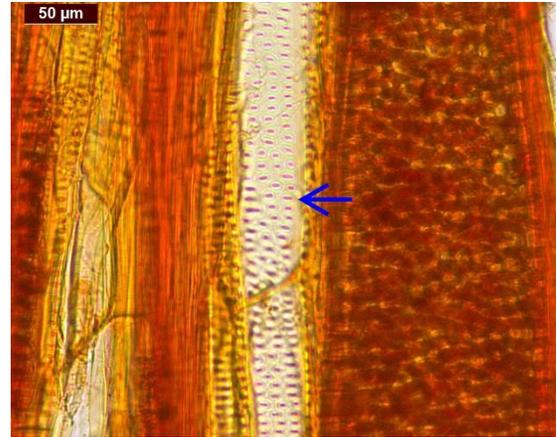


Figura 3.29 Puntuaciones de rayos-vasculares (20x)

En el análisis de elementos de vaso en el disociado se observó que los vasos son de tipo cilíndricos con diferencias en la longitud de ápices, vasos sin ápices y vasos con un solo ápice (Figura 3.30).



Figura 3.30 Variabilidad de ápices en elementos de vaso (5x)

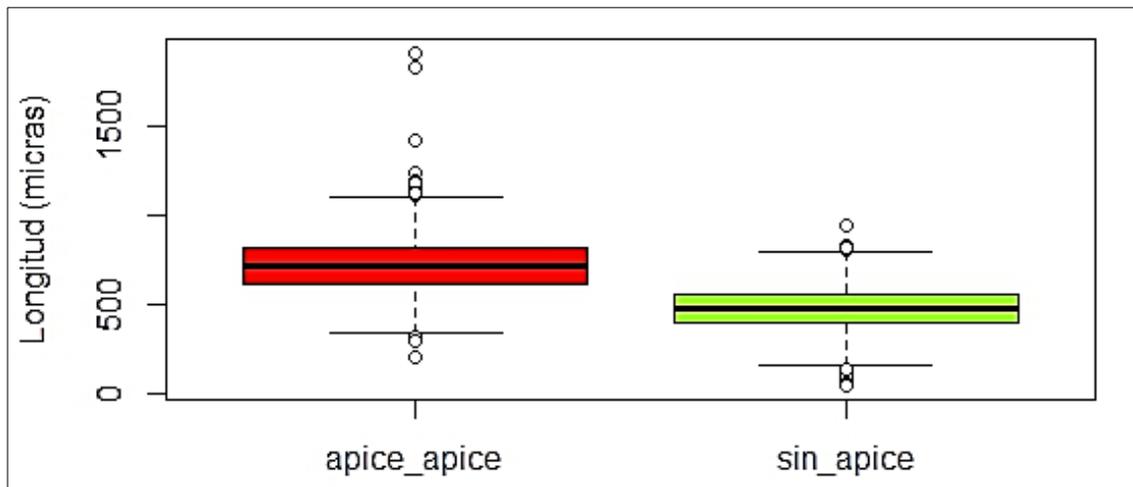
De acuerdo a la clasificación de Tortorelli (1956) y a los parámetros estadísticos estimados de los elementos de vaso (Cuadro 3.2) la abundancia media de los elementos de vaso por mm^2 es de 68.43 clasificándose como: extremadamente numerosos. En base al diámetro los poros son pequeños con un diámetro promedio de $51.45 \mu\text{m}$. En referencia a la longitud, los elementos de vaso son medianos, la longitud promedio de los vasos con ápice es de $722 \mu\text{m}$. y sin ápice es de $481.90 \mu\text{m}$. (Grafica 3.1)

Cuadro 3.2 Valores mensurables de elementos de vaso

Variable	No. Elemento de vaso /mm ²	Diámetro (μm)	Longitud con ápices (μm)	Longitud sin ápices (μm)
Tamaño muestra	61	59	1548	1548
Máximo	126.20	64.09	1911.0	950
Mínimo	24.79	41.92	204.9	47.71
Media	68.43	51.45	722.3	481.90
Sd	23.12	6.15	154.33	122.98
CV	0.34	0.12	0.21	0.26

Sd = Desviación estándar

CV = Coeficiente de variación



Gráfica 3.1 Variabilidad de longitud de elementos de vaso.

Algunos elementos de vaso presentan Tilosis (Figura 3.31), no se observó la presencia de gomas, aceites u otras inclusiones en los vasos.

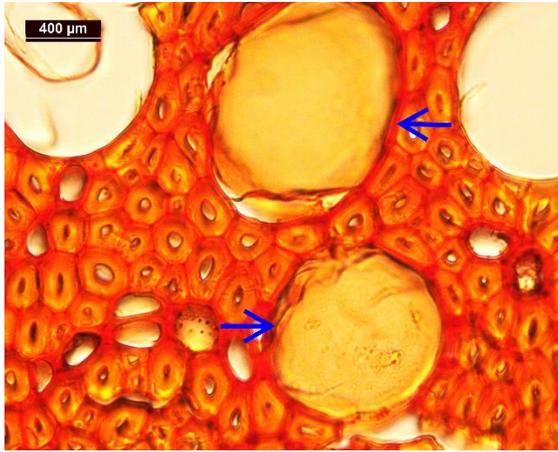


Figura 3.31 Tilosis (40x)

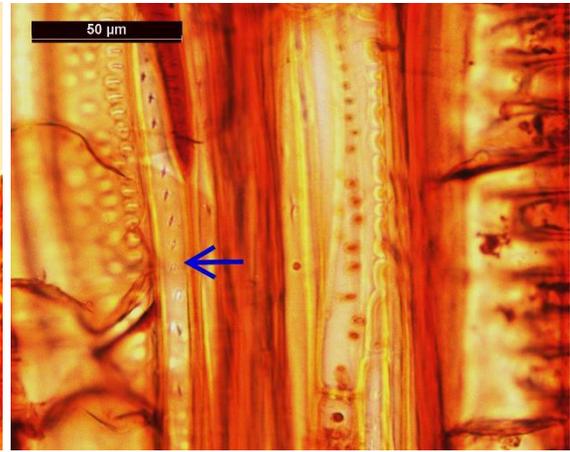


Figura 3.32 Traqueidas vacicentricas (40x)

La madera presentó traqueidas vacicentricas alrededor de los vasos (Figura 3.32), las fibras son: delgadas con paredes gruesas, tipo libiforme con engrosamiento helicoidal (Figura 3.33), fibras medianas tienen una longitud promedio de 1463 μm , fibras delgadas con un diámetro promedio de 15.55 μm ., la pared celular es delgada 4.0 μm . y el lumen es moderadamente ancho 11.54 μm . de diámetro promedio (Cuadro 3.3)

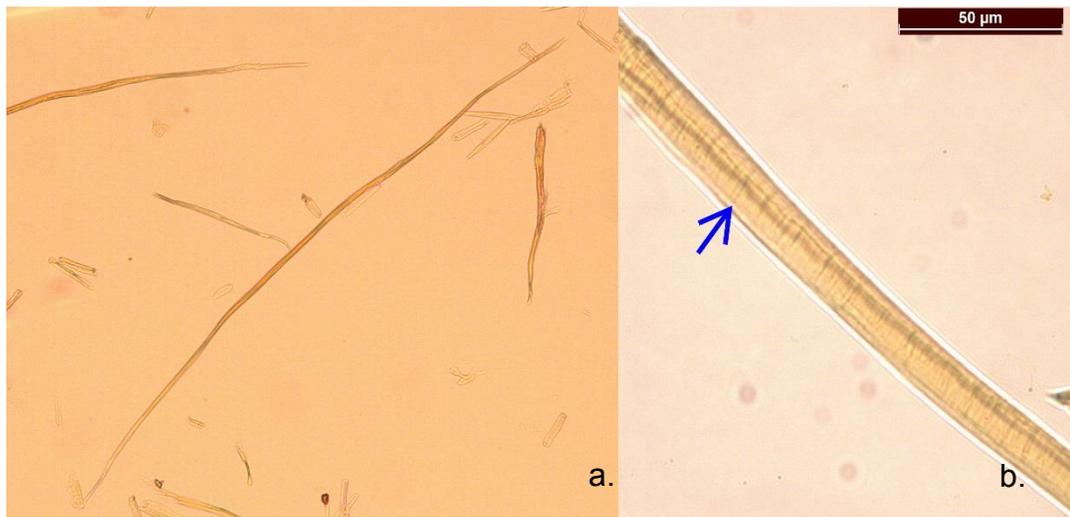


Figura 3.33 a. Fibras. b. Engrosamiento helicoidal

Cuadro 3.3 Valores mensurables de fibras

Variable	Longitud (μm)	Diámetro (μm)	Grosor de pared celular (μm)	Diámetro de lumen (μm)
Tamaño muestra	1548	1548	1548	1548
Máximo	2167	30.53	9.420	26.330
Mínimo	339.2	7.273	1.319	4.944
Media	1463	15.55	4.0	11.540
Sd	246.70	2.82	1.104	2.583
CV	0.17	0.18	0.28	0.22

Sd = Desviación estándar

CV = Coeficiente de variación

En cuanto al parénquima axial, en la madera se observó parénquima axial difuso agregado, en algunas ocasiones forma líneas horizontales. También se observó parénquima paratraqueal escaso y apotraqueal difuso (Figura 3.34).

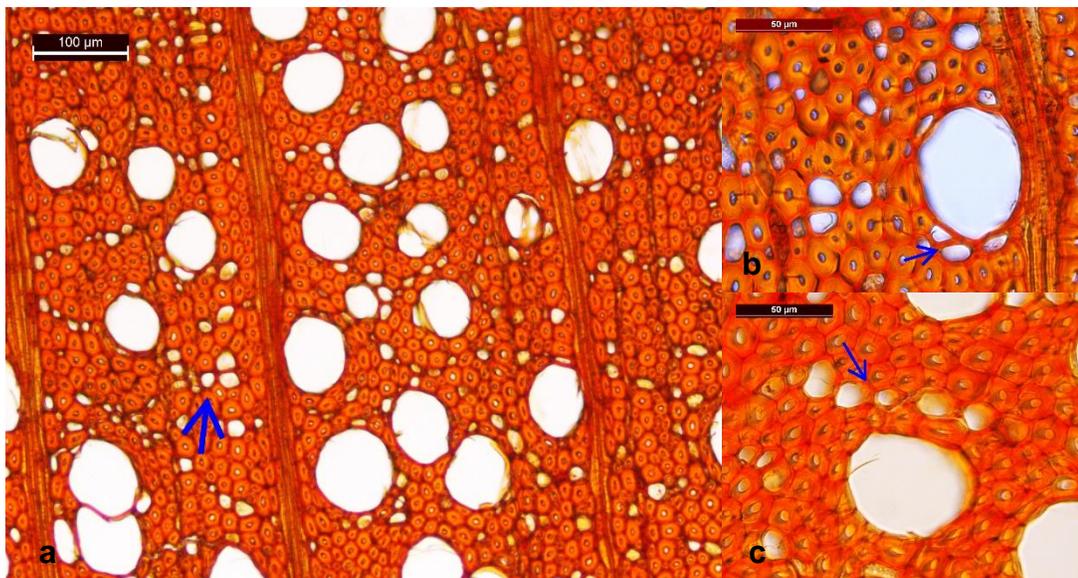


Figura 3.34 a. Parenquima axial difuso (10x), b. Parenquima paratraqueal escaso (20x), c. Parenquima apotraqueal difuso agregado (20x).

La composición de los rayos es heterocelular con células procumbentes cuadradas y verticales mezcladas a través del rayo (Figura 3.35), se presentaron rayos uniseriados, biseriados, multiseriados y agregados (Figura 3.36).

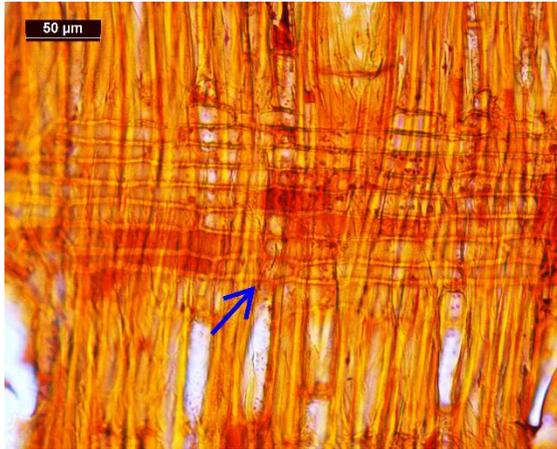


Figura 3.35 Rayo heterocelular (20x)



Figura 3.36 Rayos uniseriados biseriados, multiseriados y agregados (5x)

Los rayos son numerosos se encuentran de 5 a 27 rayos por mm^2 , la altura oscila entre 163.7 a 260.9 μm . y el ancho de los rayos comprende un rango de 29.27 a 77.80 μm (Cuadro 3.4).

Cuadro 3.4 Valores mensurables de rayos

Variable	No. rayos/ mm^2	Longitud (μm)	Ancho (μm)
Tamaño muestra	68	68	68
Máximo	27.330	391.8	77.80
Mínimo	5.353	163.7	29.27
Media	18.9	260.9	54.01
Sd	5.40	52.07	9.89
CV	0.29	0.20	0.18

Sd = Desviación estándar

CV = Coeficiente de variación

Los contenidos celulares que presentó la madera son cuerpos de sílice en células de rayos marginales. (Figura 3.37) y cristales prismáticos en alineación radial en células de rayos procumbentes (Figura 3.38).

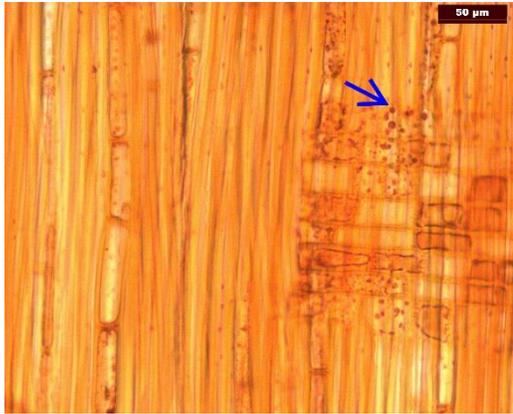


Figura 3.37 Cuerpos de sílice (20x)

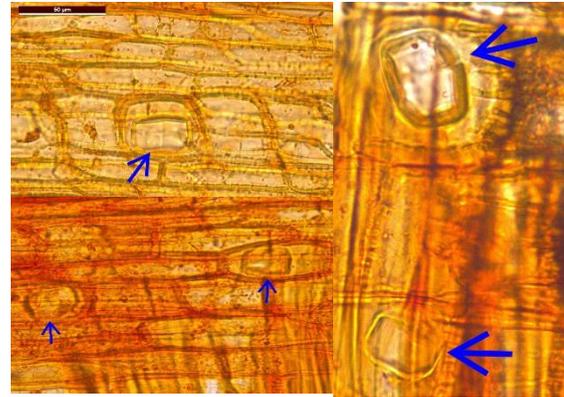


Figura 3.38 Cristales prismáticos (40x)

La proporción de elementos constitutivos de la madera de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* se distribuyen y clasifican de acuerdo a Kollmann (1959), las fibras son el elemento de mayor proporción y el parénquima axial es el de menor proporción. (Cuadro 3.5)

Cuadro 3.5 Proporción de elementos constitutivos

Variable	E. de vaso (%)	Rayos (%)	Parenquima axial (%)	Fibras (%)
Tamaño muestra	44	44	44	44
Máximo	27.680	32.000	8.024	79.06
Mínimo	3.479	6.968	0.272	42.07
Media	15.630	16.620	2.709	65.04
Sd	5.233	6.281	1.896	7.805
CV	0.335	0.378	0.700	0.120

Sd = Desviación estándar

CV = Coeficiente de variación

3.6 Discusión

Los resultados obtenidos se basan en muestras de 11 árboles vivos y madera de dos árboles *F. grandifolia* subsp. *mexicana* derribados por el viento procedentes del Ejido La Mojonera, Zacualtipán, Hidalgo.

El estudio describe las características anatómicas macroscópicas del *F. grandifolia* subsp. *mexicana*, estas difieren respecto a las de *Fagus grandifolia* Ehrh y *Fagus sylvatica* L.. La madera de haya mexicana posee un color castaño claro sin diferencia de color entre albura y duramen, sabor amargo-astringente, vetado pronunciado. Mientras que, *F. grandifolia* y *F. sylvatica* la albura es casi blanca con un tinte rojo, y el duramen es pardo rojizo, sin sabor perceptible, vetado con poca figura. (Alden, 1995) (Bond y Hamner, 2002)(Carpenter, 1974).

En las tres especies el olor de la madera no se distingue y la textura es similar entre *F. sylvatica*, *F. grandifolia* subsp. *mexicana* (Kribs, 1968).

Las madera de *F. grandifolia* subsp. *mexicana* presenta similitud en las características anatómicas microscópicas de las especies *F. grandifolia* y *F. sylvatica*, se distingues zonas de crecimiento, porosidad difusa, poros pequeños y agregados, rayos heterogéneos uniseriados y multiserados, parénquima apotraqueal, fibras libiformes (Bond y Patrick., 2013), (Bond y Hamner, 2002) (Schweingruber, 1982)

La presencia de tilosis, placas simples y ocasionalmente escaleriforme son características que comparten el *F. grandifolia* subsp. *mexicana* y *F. sylvatica*. (Vignote P., Picos M., & Zamora P., 2001)

Sin embargo, la proporción de elementos de vaso por mm² es menor en el haya mexicana y las fibras son más delgadas que en el *F. sylvatica* (Vignote P., Picos M., & Zamora P., 2001), (Schweingruber, 1982).

3.7 Conclusiones

Las características anatómicas macroscópicas de la madera de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana* en su mayoría son propias de la especie existe variabilidad de caracteres respecto a otras especies del mismo género.

Los elementos de vaso presentan variabilidad en la placa de perforación ya que existen con placa simple y escaleriforme. El ápice de los elemento de vaso es muy variable.

El parénquima presenta variabilidad en el tipo de arreglo, se observó parénquima axial difuso agregado, paratraqueal y apotraqueal.

La proporción de fibras puede indicar que es una especie semipesada, puede ser utilizada en la fabricación de muebles, pisos entre otros.

El color castaño claro, la veta pronunciada, la textura gruesa y la alineación y proporción de fibras indica que la madera de la especie es semipesada, puede ser utilizada en la fabricación de chapa, muebles, pisos, entre otros.

3.7 Literatura citada

Alden, H. A. (1995). Hardwoods of North America. Gen. Tech. Rep. FPL–GTR–83. Department of Agriculture, Forest Service, Forest Products Laboratory. Madison, Wi.: U.S.

Bond, B., y Hamner, P. (2002). PB1692 Wood Identification for Hardwood and Softwood Species Native to Tennessee. The University of Tennessee Agricultural Extension Service. PB1692-1.5M-2/02 E12-4915-00-010-002. http://trace.tennessee.edu/utk_agexfores/10

Bond, B., y Patrick., R. (2013). Wood Identification for Species Native to Virginia (Publicatio). Virginia Cooperative Extension. Virginia Tech. Virginia State University. https://pubs.ext.vt.edu/content/dam/pubs_ext_vt_edu/ANR/ANR-64/ANR-64_PDF.pdf

Carpenter, R. D. (1974). American Beech. U.S. Department of Agriculture american Woods FS-220. https://pubs.ext.vt.edu/content/dam/pubs_ext_vt_edu/ANR/ANR-64/ANR-64_PDF.pdf

Guridi Gómez, L. I. (1977). Metodo de ablandamiento de madera dura y muy dura para la obtención de cortes en xilotomo. Ciencia Forestal (México), 2(10), 59–64.

IAWA Commitee. (1989). IAWA list of microscopic features for hardwood identification. IAWA Bulletin N.s, 10(3), 219–332. <http://doi.org/10.2307/4110625>

Kollmann, F. (1959). Tecnología de la madera y sus aplicaciones. Ministerio de Agricultura. Instituto Forestal de Investigaciones y Experiencias y Servicio de La Madera. Madrid, España., 675.

Kribs, D. A. (1968). Commercial foreign woods on the American Market. Dover Publications, Inc. New York. USA., 241.

Munsell Color Company. (1988). Munsell soil color charts. Baltimore, Maryland.

Ortiz-Quijano, Adriana Beatriz. Sánchez-Gonzalez, Arturo. López-Mata, Lauro. Villanueva-Díaz, J. (2016). Population structure of *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana* in the cloud forest of Hidalgo State, Mexico. Botanical Sciences, 94(3), 483–497. <http://doi.org/10.17129/botsci.515>

Rodríguez-Ramírez, E. C., Sánchez-González, A., y Ángeles-Pérez, G. (2013). Current distribution and coverage of Mexican beech forests *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana* in Mexico. Endangered Species Res, 20, 205–216. <http://doi.org/10.3354/esr00498>

Sánchez-Rojas L. Cedillo-Aguilar M. (2000). Análisis comparativo del mercado de pisos de maderas nacionales e importadas en la Ciudad de México. Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente, 6(2), 171–178.

Schweingruber, F. H. (1982). Mikroskopische Holzanatomie. Anatomie microscopique du bois. Microscopic Wood Anatomy. Birmensdorf Kommissionsverlag Zürcher AG. Birmensdorf, Suiza, 226.

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. NORMA Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. (2010). México. Retrieved from www.profepa.gob.mx/innovaportal/file/435/1/NOM_059_SEMARNAT_2010.pdf

Tortorelli, A. (1956). Maderas y Bosques de Argentina. Buenos Aires,: ACME. S.A. 910 p.

Vignote P., S., Picos M., J., y Zamora P., R. (2001). Características de las principales maderas utilizadas en Bizkaia. Tecnología y aplicaciones. Departamento de Agricultura de la diputación Foral de Bizkaia. España, 292.

4. DENSIDAD DE LA MADERA DE *Fagus grandifolia subsp. mexicana*

4.1 Resumen

La densidad de la madera es una de propiedades físicas de la madera más relevantes debido a la interacción con otras propiedades y características, el objetivo de esta investigación fue determinar los valores de densidad de la madera *Fagus grandifolia subsp. mexicana* de acuerdo a los lineamientos de la NOM EE-117-1981 que establece los métodos de prueba para determinar el peso específico aparente de la madera en la fabricación de envases y embalajes. Los datos se analizaron con el programa estadístico R. La densidad básica de la madera estimada para la especie de estudio es de 0.58 g/cm³ indica que es una madera semipesada óptima para usos como: pisos, duelas, parquet, chapa rebanada y marquetería.

Palabras clave: propiedades físicas, haya, haya mexicana.

Abstract

The density of wood is one of the most relevant physical properties of wood due to the interaction with other properties and characteristics, the objective of this research was to determine the density values of the wood of the *Fagus grandifolia subsp. mexican* according to the guidelines of NOM EE-117-1981 laying down test methods for determining the apparent specific weight of wood in the manufacture of packaging. The basic wood density estimated for the study species is 0.58 g / cm³ indicates that it is an optimized semi-solid wood for uses such as: floors, staves, parquet, veneer and marquetry.

Key words: Physical properties, beech, mexican beech

4.2 Introducción

La madera es un recurso natural y de fácil acceso que la sociedad utiliza cotidianamente en muebles, herramientas, artesanías, utensilios de limpieza y cocina, pisos, construcciones, postes de servicios públicos, entre otros, empíricamente se conocen las propiedades físicas de la madera debido a la familiaridad del desempeño de la madera en servicio.

Conocer las propiedades físicas y mecánica de la madera asegura que el desempeño de la madera en el uso al que se destine será el óptimo. La densidad básica es una de las propiedades físicas más importante de la madera, indica la cantidad de madera en estado anhidro por unidad de volumen a un contenido de humedad igual o mayor al punto de saturación de la fibra (Cisternas, 1994).

La densidad básica es un indicador de la calidad y valor económico de la madera, ya que está directamente relacionada con las propiedades de resistencia, calidad y poder calorífico. La madera con una densidad básica alta puede utilizarse en durmientes de ferrocarril, mangos de herramientas, por el contrario si la densidad básica es de un valor inferior el potencial de uso es en otras ramas de la industria como la construcción aeronáutica (Kollmann, 1959).

4.3 Objetivos

4.3.1 Objetivo General

Determinar los valores de densidad de la madera de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*.

4.4 Materiales y métodos

La metodología para determinar los valores de densidad de la madera se basan en la NOM EE-117-1981 que establece los métodos de prueba para determinar el peso específico aparente de la madera en la fabricación de envases y embalajes.

4.4.1 Colecta de material vegetal

La colecta se realizó el día 16 de abril de 2016. Se colectaron dos árboles de *Fagus grandifolia* subsp *mexicana* derribados por el viento en el bosque de haya del Ejido La Mojonera, municipio de Zacualtipán de Ángeles, estado de Hidalgo (Figura 4.1). Se obtuvieron dos trozas de 10 cm de largo y se trasladaron al Laboratorio de Plantas Piloto de la División de Ciencias Forestal en la Universidad Autónoma Chapingo.



Figura 4.1 Colecta de madera

4.4.2 Obtención de muestras

En las trozas de madera se marcaron cuadros de 2 x 2 x2 cm en sentido del plano cardinal y se numeraron de medula a corteza, se cortaron con una sierra cinta, las probetas obtenidas se colocaron en frascos de plástico con agua destilada con la finalidad de saturar la madera.



Figura 4.2. a. Marcado, b. cortado, c. saturación de probetas.

4.4.3. Densidad de la madera

La madera al ser un material higroscópico está influenciada por el contenido de humedad, debido a esta característica se determinó la densidad saturada, al h de contenido de humedad, anhidra y básica, de acuerdo a la Norma NOM EE-117-1981.

La densidad saturada (D_s) se obtuvo con el peso y volumen de las probetas saturadas, cada probeta se pesó en una balanza y se determinó su volumen por el método de desplazamiento del agua (Figura 4.3).

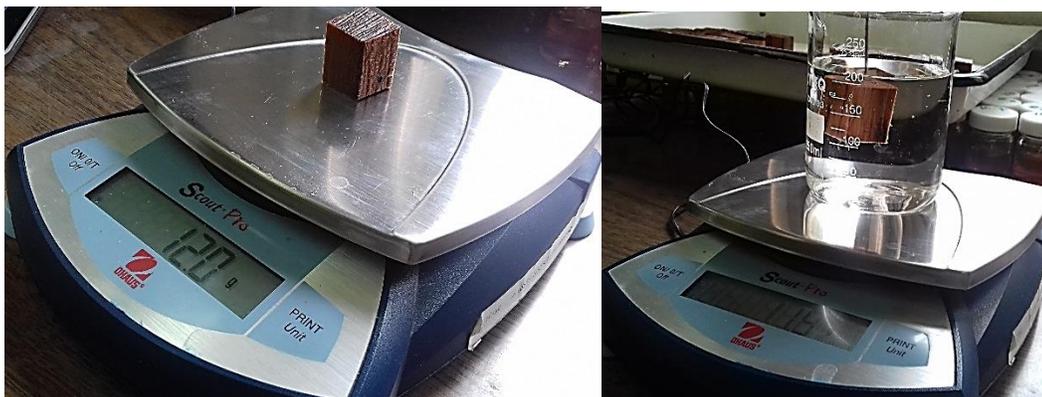


Figura 4.3 Peso y volumen de probetas saturadas

Una vez concluida la toma de datos de todas las probetas saturadas, se colocaron sobre rejillas y se dejaron expuestas al medio ambiente del laboratorio hasta alcanzar el contenido de humedad en equilibrio (Figura 4.4) Las probetas se pesaron cada 3 días para monitorear el peso, una vez que el peso se mantuvo constante se procedió a obtener el peso y volumen por el método de desplazamiento del agua.



Figura 4.4 Probetas expuestas al medio ambiente del laboratorio

En seguida las probetas se introdujeron en una estufa a $103^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 1 semana para llevar a la madera a estado anhidro y de esta forma obtener el peso y volumen en estado anhidro.



Figura 4.5 Peso y volumen de probetas saturadas

El cálculo de la densidad saturada, al h de contenido de humedad, anhidra y básica, se realizó en base a las definiciones y formulas siguientes:

Densidad saturada (Ds) es la relación entre el peso saturado de la madera por unidad de volumen saturado. Se expresa como:

$$D_s = \frac{P_s}{V_s}$$

Dónde: D_s = Densidad saturada (g/cm³)

P_s = Peso saturado (g)

V_s = Volumen saturado (cm³)

Densidad al h contenido de humedad (Dh) es la relación del peso de la madera a un contenido de humedad (CH) en equilibrio, por unidad de volumen a ese mismo contenido de humedad. Se expresa como:

$$D_h = \frac{P_h}{V_h}$$

Dónde: D_h = Densidad al h% de CH (g/cm³)

P_h = Peso al h% de CH (g)

V_h = Volumen al h% de CH (cm³)

Densidad anhidra (Do) es la relación del peso anhidro de la madera por unidad de volumen anhidro. Se expresa como:

$$D_o = \frac{P_o}{V_o}$$

Dónde: Do = Densidad anhidra (g/cm³)

Po = Peso anhidro (g)

Vo = Volumen anhidro (cm³)

Densidad básica (Db) es la relación del peso anhidro de la madera por unidad de volumen en estado verde. Se expresa como:

$$Db = \frac{Po}{Vv}$$

Dónde: Db = Densidad básica (g/cm³)

Po = Peso anhidro (g)

Vv = Volumen verde (cm³)

El análisis estadístico de la densidad de la madera se efectuó con el programa estadístico R. Se estimaron los siguientes parámetros: valores máximos y mínimos, media, desviación estándar, coeficiente de variación.

4.5 Resultados y discusión

Los valores de densidad estimados para la madera al h% contenido de humedad se ajustó al 12% y se clasificó de acuerdo a Díaz (1960, citado por Ruiz, 2006), la densidad básica se clasificó de acuerdo a Vignote y Jiménez (1996). Los valores de densidad de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana* se presentan en el Cuadro 4.1.

Cuadro 4.1 Valores de densidad de la madera de *F. grandifolia* subsp. mexicana

Variable	Ds (g/cm ³)	Dh 12% (g/cm ³)	Do (g/cm ³)	Db (g/cm ³)
Tamaño de la muestra	43	43	43	43
Máximo	1.226	0.859	0.836	0.634
Mínimo	1.110	0.632	0.602	0.514
Media	1.181	0.744	0.719	0.579
Sd	0.027	0.053	0.053	0.031
CV	0.022	0.071	0.073	0.053
Clasificación	-	Semipesada	-	Semipesada

Sd= Desviación estándar

CV= Coeficiente de variación

Dh ajustada al 12%

4.6 Discusión

El valor promedio de densidad básica de la madera de *Fagus grandifolia* subsp. mexicana 0.579 g/cm³, Ehnis (1981) menciona que la densidad de la madera para esta especie es 0.765, no especifica el tipo de densidad a la que refiere.

Los valores de densidad de la madera obtenidos en esta investigación muestran similitud con la densidad de la madera de las especies *F. grandifolia* y *F. sylvatica*. Carpenter (1974) describió que la gravedad específica es de 0.56 para *F. grandifolia*. Southeastern Lumber Manufacturers Association Inc., (n.d.) y Alden (1995) reportan que la gravedad específica al 12% de contenido de humedad para *F. grandifolia* es 0.64, mientras que para *F. sylvatica* es de 0.772 g/cm³ (Vignote, Picos, y Zamora, 2001). Los autores coinciden en clasificar a la madera de ambas especies como una madera pesada.

4.7 Conclusiones

La densidad de la madera es un parámetro que nos indica las cualidades de la madera y los potenciales de uso, para *F. grandifolia* subsp. *mexicana* por esta propiedad la madera es óptima para usos como: pisos, duelas, parquet, chapa rebanada y marquetería.

4.7 Literatura citada

Alden, H. A. (1995). Hardwoods of North America. Gen. Tech. Rep. FPL–GTR–83. Department of Agriculture, Forest Service, Forest Products Laboratory. Madison, Wi.: U.S.

Carpenter, R. D. (1974). American Beech. U.S. Department of Agriculture american Woods FS-220. https://pubs.ext.vt.edu/content/dam/pubs_ext_vt_edu/ANR/ANR-64/ANR-64_PDF.pdf

Cisternas P., A. (1994). Conversión de densidades de la madera. Ciencia E Investigación Forestal, 8(2), 301–315.

Ehnis D., E. A. (1981). *Fagus mexicana* Martínez, su ecología e importancia. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de México. México D.F., 123.

Kollmann, F. (1959). Tecnología de la madera y sus aplicaciones. Ministerio de Agricultura. Instituto Forestal de Investigaciones y Experiencias y Servicio de La Madera. Madrid, España., 675.

Ruiz H., M. (2006). Características anatómicas y propiedades físico-mecánicas de la madera de *Swietenia macrophylla* King. y *Cordia dodecandra* A. DC.

proveniente de plantaciones de Campeche, México. Tesis de Maestría. División de Ciencias Forestales. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo Méx., 106.

Southeastern Lumber Manufacturers Association Inc. (n.d.). The Hardwood Handbook, an Illustrated Guide to Appalachian and Southern Lumber.

Vignote P., S., Picos M., J., y Zamora P., R. (2001). Características de las principales maderas utilizadas en Bizkaia. Tecnología y aplicaciones. Departamento de Agricultura de la diputación Foral de Bizkaia. España, 292.

Vignote, S., y Jiménez, F. (1996). Tecnología de la madera. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid, España. 606 p.

5. ESTUDIO FITOQUÍMICO DE *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*

5.1 Resumen

Fagus grandifolia subsp. *mexicana* es un árbol endémico de México en estatus de protección, su uso es de conservación. En esta investigación se realizó la identificación y aislamiento de metabolitos secundarios del extracto hexánico de raíz mediante cromatografía en columna y métodos espectroscópicos. Se aislaron cinco compuestos: β -Sitosterol, Stigmasterol, 3 β -Hidroxi-24-metilen cicloartano, Stigmast-4-en-3-one y Glucosido de β -Sitosterol.

Palabras clave: Haya mexicana, metabolitos secundarios, Fagus, Fitoquímica, raíz de haya.

Abstract

Fagus grandifolia subsp. *mexicana*, is an endemic tree of Mexico in protection status, its use is conservation. This research consists the identification and isolation of secondary metabolites of the root hexane extract through column chromatography and spectroscopic methods. Five compounds were isolated: β -Sitosterol, Stigmasterol, Cycloartanol, Stigmast-4-en-3-one and β -Sitosterol glucoside.

Key words: Fagus, mexican beech, secondary metabolites, beech root, phytochemistry.

5.2 Introducción

El *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana* es conocida haya mexicana, es una especie endémica de México y se encuentra listada en la NOM-059-SEMARNAT 2010 en categoría de protección. El haya mexicana se distribuye en el Bosque Mesófilo de Montaña en la Sierra Madre Oriental de México (Williams-Linera, Rowden, Newton, 2003). El uso etnomédico de las plantas obedece a una tradición milenaria que las comunidades nativas han conservado pero que también han transmitido a otras culturas formando un verdadero "saber popular" (Ospina y Pinzón, 1995).

La composición fitoquímica de las plantas ha sido estudiada ampliamente con la finalidad fortalecer la información sobre la actividad biológica de los metabolitos secundarios y explorar la diversidad de compuestos que poseen las plantas que aún no han sido estudiadas. Plantas del género *Fagus* han sido poco estudiadas como plantas medicinales, el uso del haya se enfoca al aprovechamiento forestal maderable en Europa y Norteamérica, sin embargo, Yi-Chun et al., (2012) aislaron una enzima de *Fagus hayatae* triterpenos con actividad inhibidora moderada de α -glucosida. Hofmann et al., (2015) analizaron el contenido de fenoles en *Fagus sylvatica* además de su capacidad antioxidante. Pujol et al., (2016) evaluaron el potencial antiviral de sulfatos de 4-OMe-glucuronoxilano provenientes del aserrín de madera de *Fagus sylvatica*.

Cuando se desea establecer la composición en metabolitos secundarios de plantas o animales, es necesario preparar extractos de especies localizadas por su actividad biológica como antidiabéticas, antiulcerogénicas, anticancerígenas entre otras, o por la búsqueda de un tipo especial de sustancias orgánicas como alcaloides, acetogéninas, terpenoides o ciclopeptidos. Después de preparar los extractos correspondientes será entonces necesaria la purificación y aislamiento de las sustancias orgánicas o metabolitos secundarios, empleando la cromatografía en columna o en capa delgada preparativa, después de aislar los

metabolitos, entonces estos se deberán identificar por su estructura molecular empleando métodos espectrométricos como la espectrometría de masas o espectroscópicos como Infrarrojo (IR), ultravioleta (UV), Resonancia Magnética Nuclear (RMN) en una y dos dimensiones entre otras. También es posible identificar sustancias de las plantas por comparación de sus puntos de fusión y por la cromatografía en capa delgada (CCD), utilizando además muestras de referencia o auténticas. Por lo que el objetivo de este estudio es determinar los metabolitos secundarios principales en la especie *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*. Considerando que algunos métodos espectroscópicos empleados en este trabajo de tesis fueron importantes, se describirá brevemente algunos de estos métodos.

5.2.1. Análisis espectroscópicos

La elucidación de las estructuras moleculares de los productos naturales puede constituir una meta en sí misma o ser una etapa clave para trabajos posteriores. Los métodos espectroscópicos, especialmente resonancia magnética nuclear (RMN), infrarrojo (IR), ultravioleta (UV) y visible (VIS) y espectrometría de masas (EM) son de uso cotidiano en este campo (Marcano y Hasegawa, 2002).

5.2.2. Espectrometría de masas

El concepto de espectrometría de masas es relativamente simple: Un compuesto se ioniza (método de ionización), los iones se separan sobre la base de su relación masa/carga (método de separación de iones), y el número de iones que representan a cada fracción o fraccionamiento masa/carga "unidad" se registra como un espectro. Por ejemplo, la técnica comúnmente utilizada es por impacto electrónico modo (IE), el espectrómetro de masas bombardea moléculas en la fase de vapor con un haz de electrones de alta energía y registra el resultado

como un espectro de iones positivos, que se han separado sobre la base de masa carga (mz) (Silverstein *et al.*, 2002).

5.2.3. Espectroscopia Infrarroja (IR)

La radiación infrarroja en el intervalo de aproximadamente 10,000-100 cm^{-1} es absorbida y convertida por una molécula orgánica en energía de vibración molecular. Esta absorción también es cuantificada, pero los espectros vibracionales aparecen como bandas más que como líneas debido a que un sólo cambio de energía de vibración está acompañado por un número de cambios de energía de rotación. La frecuencia o longitud de onda de absorción depende de las masas relativas de los átomos, las constantes de fuerza de los enlaces y la geometría de los átomos (Silverstein *et al.*, 2002).

5.2.4. Resonancia Nuclear Magnética (RMN)

Resonancia Magnética Nuclear (RMN), es otra forma de espectrometría de absorción. En condiciones apropiadas en un campo magnético, una muestra puede absorber la radiación electromagnética en la región de frecuencia de ondas de radio, y emitir las frecuencias que se rigen por las características de la muestra. La absorción es una función de ciertos núcleos en la molécula. Las frecuencias emitidas aparecen en un gráfico con las señales de absorción en comparación con las intensidades de pico. Se pueden obtener los espectros de varios núcleos, sin embargo, los más utilizados en química orgánica son RMN- ^1H y ^{13}C (Silverstein *et al.*, 2002).

5.3 Objetivos

5.3.1 Objetivo General

Determinar los metabolitos secundarios principales en la especie *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana* mediante técnicas de cromatografía y métodos espectroscópicos.

5.3.2 Objetivos particulares.

- Colectar hojas, corteza y raíces de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana* para preparar extractos con disolventes orgánicos vía maceración.
- Separar los extractos de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana* mediante cromatografía en columna para purificar sus metabolitos secundarios.
- Someter los metabolitos secundarios aislados de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana* a estudios espectroscópicos de Resonancia Magnética Nuclear que permitan proponer las estructuras moleculares correspondientes.

5.4 Materiales y métodos

5.4.1 Colecta de material vegetal

El material vegetal se colectó el 16 de abril de 2016 en el bosque de haya (*Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*) del Ejido La Mojonera, municipio de Zacualtipán de Ángeles, estado de Hidalgo. Se colectaron hojas, corteza y raíz de un árbol derrumbado por el viento (Figura 5.1)

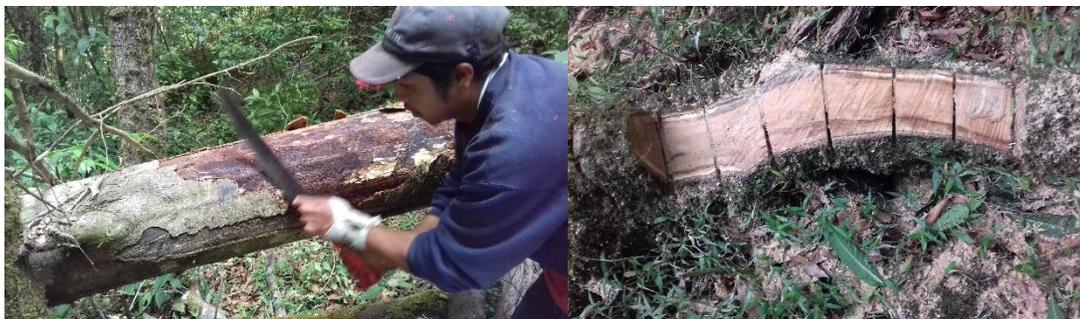


Figura 5.1 Colecta de corteza y raíz

5.4.2 Secado y molido de las muestras vegetales

El material vegetal se trasladó a la sección de anatomía de la madera en el aserradero de la División de Ciencias Forestales de la Universidad Autónoma Chapingo y se colocó en rejillas para secarse a la sombra y temperatura ambiente. Una vez seco el material vegetal, las hojas y corteza se molieron en una licuadora (Osterizer Mod. 465-13), la raíz se troceó con sierra cinta y molió en molino de palas (Retsch SK 100), el material molido se guardó en bolsas de plástico con cierre zipper.

5.4.3 Preparación de extractos

La etapa experimental de la investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Productos Naturales de la Preparatoria Agrícola en la Universidad Autónoma Chapingo. El método de obtención de extractos fue por el método de maceración con disolventes de baja a alta polaridad (hexano, cloruro de metileno y metanol) destilados por método convencional. Las hojas, corteza y raíz molidas se empacaron en garrafones de 20L de vidrio (Figura 5.2). El proceso de maceración se inició con hexano, se agregó hexano hasta cubrir el material vegetal y se dejó macerar por 3 días transcurrido este tiempo, se filtró y evaporó el disolvente con rotovapor (Buchi R-210) (Figura 5.3) el extracto obtenido se colectó en frascos de vidrio y nuevamente se agregó disolvente al material vegetal para efectuar 4

repeticiones de maceración por cada disolvente (hexano, cloruro de metileno y metanol). Al concluir las cuatro repeticiones con hexano se obtuvo un residuo vegetal, mismo que fue macerado con diclorometano, una vez finalizada las cuatro repeticiones con diclorometano, resulto otro residuo vegetal al que finalmente se agregó metanol, repitiendo el mismo proceso para los tres disolventes, como se muestra en el esquema1, las cantidades de material vegetal y disolventes de extracción se muestran en el Cuadro 5.1.



Figura 5.2 Maceración de hojas, corteza y raíz



Figura 5.2 Evaporación de disolvente

Cuadro 5.1 Cantidad de disolventes utilizados para la maceración

Tipo de material vegetal	Hexano (- polaridad)	Cloruro de metileno (-/+ polaridad)	Metanol (+ polaridad)
Hoja	4.8 L.	5.4 L.	5.0 L.
Corteza	7.0 L.	4.0 L.	5.0 L.
Raíz	8.4 L.	10.5 L.	9.9 L.

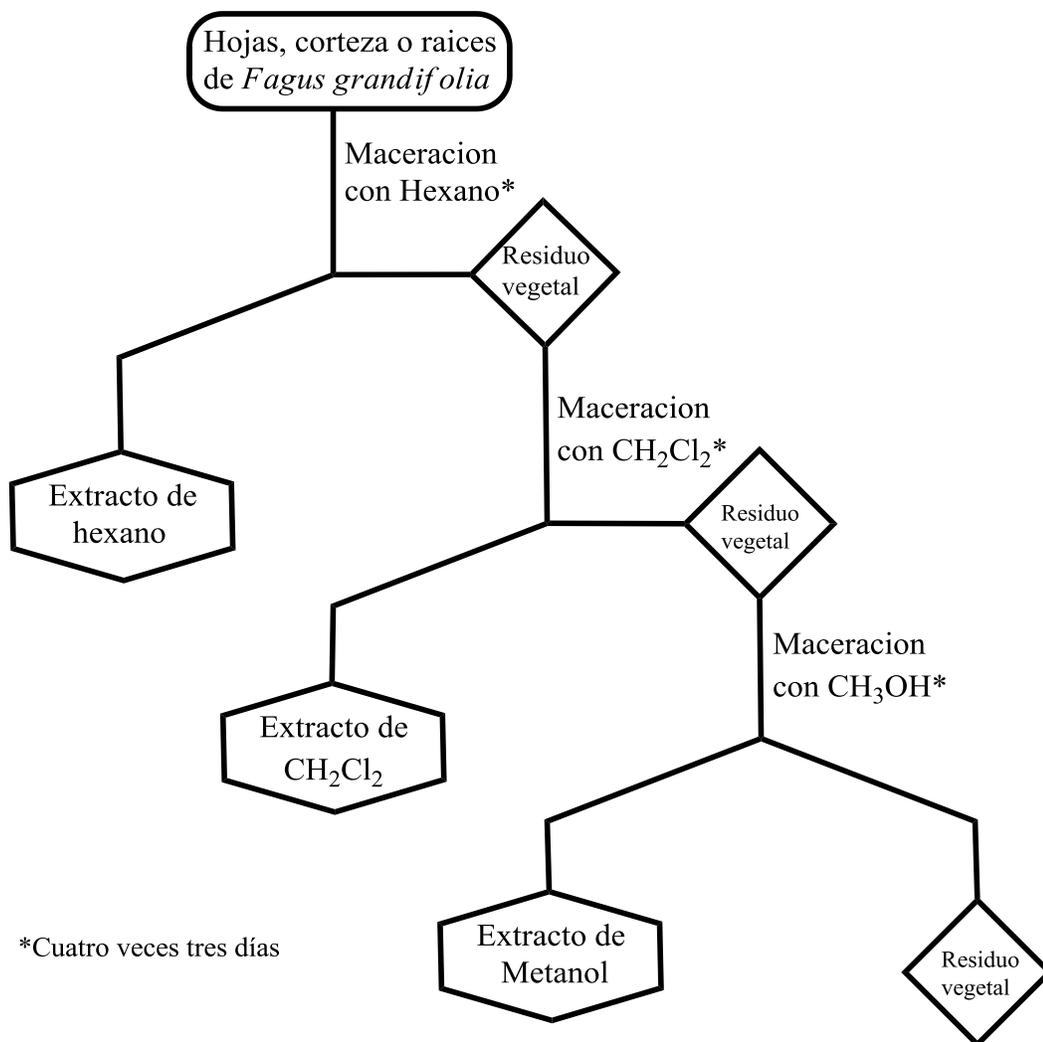


Diagrama 1. Preparación de extractos de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*

5.4.4 Análisis preliminar de compuestos en extractos

Los extractos obtenidos fueron pre-analizados por cromatografía en capa delgada con la finalidad de observar la cantidad de compuestos por extracto y el comportamiento de los compuestos ante la fase móvil que podrían utilizarse como eluyente (mezcla de disolventes) para el aislamiento.

El proceso de separación por cromatografía en capa delgada consistió preparar la fase estacionaria con cromoplacas de sílice 60 (ALUGRAM • SIL G/UV254)

de 3 x 5 cm. a cada placa en un extremo se le trazó con lápiz una línea de referencia a los 5 mm. Se preparó una disolución de muestra por cada extracto, se tomó una pequeña cantidad de extracto y colocó en un frasco de 10 ml. y se agregó un disolvente para disolver la muestra, se utilizó diclorometano para los extractos hexánicos y de cloruro de metileno, mientras que para disolver los extractos metanólicos se utilizó metanol. Cada disolución de muestra se colocó en la cromoplaca con un tubo capilar (Figura 5.4), limpiando el tubo capilar entre la toma de cada muestra, para esto se sumergió en una mezcla de enjuague realizada en partes iguales de hexano, acetato de etilo, metanol y acetona. Se probaron disolventes puros y mezcla estos como fase móvil o eluyente como se muestra en el cuadro 5.2.

Cuadro 5.2 Fases móviles y concentración ensayadas

Fase móvil	Proporción
Cloruro de metileno (CH ₂ Cl ₂)	1
Hexano	1
Acetato de etilo (AcOEt)	1
Metano (MeOH)	
Hexano / Acetato de etilo (AcOEt)	9/1
Hexano / Acetato de etilo (AcOEt)	8/2
Hexano / Acetato de etilo (AcOEt)	7/3
Hexano / Acetato de etilo (AcOEt)	5/5
CH ₂ Cl ₂ / MeOH	9/1
CH ₂ Cl ₂ / MeOH	8/2
CH ₂ Cl ₂ / MeOH	7/3
CH ₂ Cl ₂ / MeOH	5/5
CH ₂ Cl ₂ / MeOH	5/5

Se marcó con lápiz una línea horizontal 5 mm del borde inferior de una placa cromatografica (de 50 x 30 mm), se efectuaron marcas (cruces tenues) también con un lápiz y enseguida se aplicaron una parte de cada extracto (Disueltos en

Diclorometano) ayudados por un capilar de vidrio. Se vertió una pequeña cantidad de eluyente en una cámara de cromatografía, y se introdujo la cromatopla en la cámara en forma inclinada (casi vertical) la parte inferior al borde de la línea de referencia en donde se colocaron los extractos de forma que el eluyente no mojara los puntos de aplicación y se cubrió la cámara con trozo de vidrio plano, enseguida se permitió que ascendiera el eluyente por capilaridad, cuando el eluyente llegó a la parte superior de la cromopla se retiró ésta de la cámara y se dejó evaporar el eluyente (Disolvente o mezcla de disolventes) (Figuras 5.5).

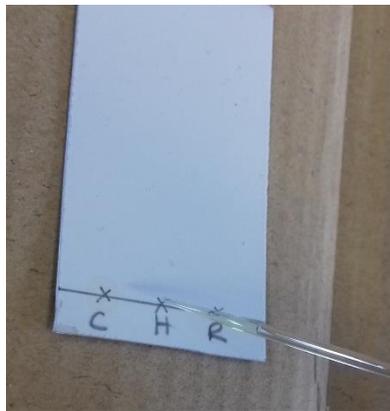


Figura 5.4 Aplicación de muestra de extracto en cromopla



Figura 5.5 Elución de placa en cámara cromatografica

El análisis de separación de los compuestos se efectuó a partir de su observación de en una cámara de luz UV, se marcaron con lápiz las manchas observadas en la cámara (Figura 5.6). Como paso final las placas se sumergieron en una disolución de ácido fosfomolibdico y se secaron con una fuente de aire caliente (Pistola de aire marca TRUPER, Figura 5.7).

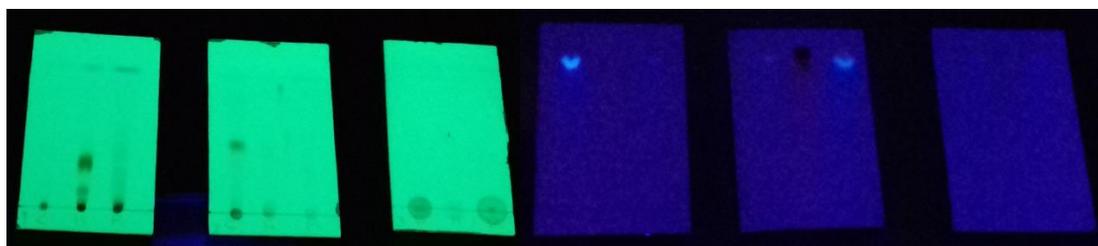


Figura 5.6 Cromoplacas observadas en Cámara de luz UV, las claras son de onda larga y las oscuras de onda corta.

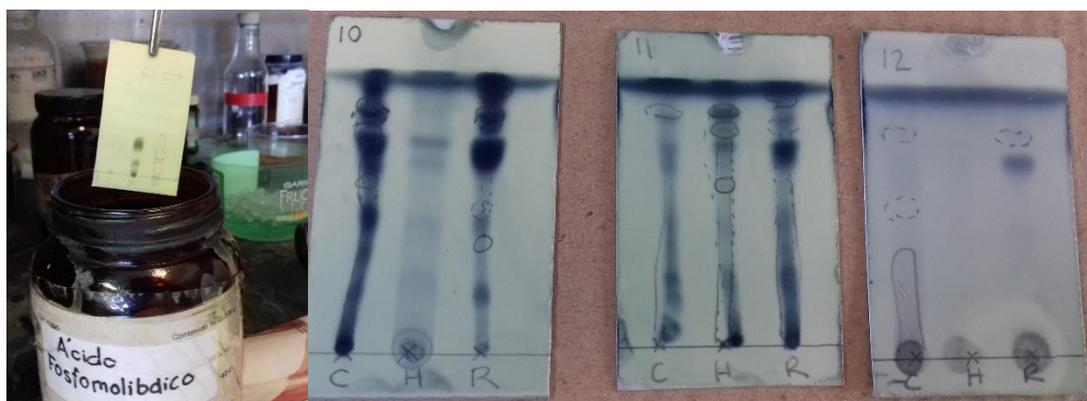


Figura 5.7 Cromoplacas reveladas con agente químico como el ácido fosfomolibdico

5.4.5 Aislamiento de metabolitos secundarios

El aislamiento de metabolitos secundarios se efectuó por cromatografía en columna por gradiente a gravedad. El principio de la esta técnica de separación consiste en la aplicación de eluyente de menor a mayor polaridad, de esta manera los compuestos en los extractos fluyen y se separan de acuerdo a la interacción entre la polaridad del eluyente y los compuestos con la fase estacionaria.

Preparación de la muestra.

El extracto se pesó (Por ejemplo 6 g) y se disolvió con cloruro de metileno, enseguida se preadsorbio en 6 g. de sílica gel y se dejó evaporar el disolvente a temperatura ambiente, dejando reposar lo preadsorbido por 24 horas, en una campana de extracción de gases (Figura 5.8)

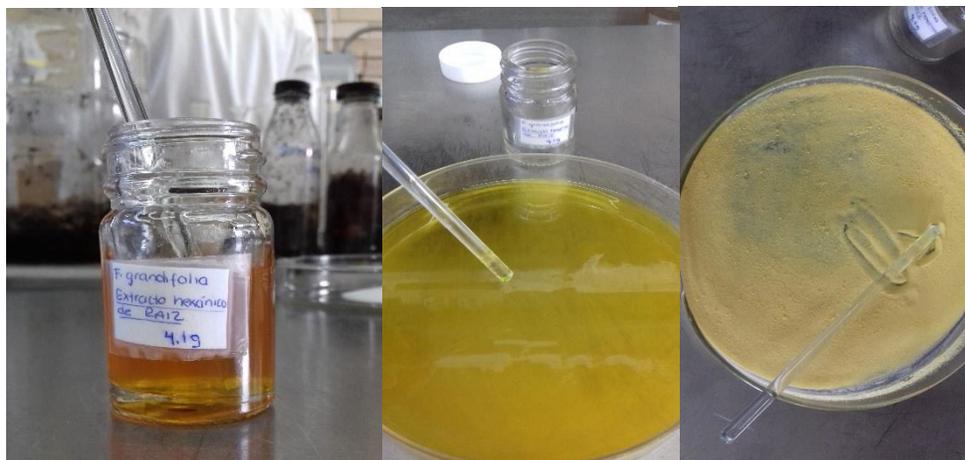


Figura 5.8 Pre-adsorción de extracto

Preparación de la columna

Se preparó una columna cromatográfica que consistió de un tubo de vidrio provisto de una llave de paso con tapón de teflón, misma que se sujetó por medio de unas pinzas de tres dedos C/nuez a un soporte universal, en la parte inferior de la columna se colocó una porción pequeña de algodón, para evitar la salida de la sílica gel. Por otro lado, con la llave abierta se agregó el eluyente hexano hasta la parte media de la columna. El hexano sobrante se adicionó a un vaso de precipitados conteniendo 85 g de sílica gel (Proporción aprox. 1:15), se agitó con una varilla de vidrio para eliminar burbujas y la suspensión resultante se vertió rápidamente a la parte superior de la columna, manteniendo la llave abierta para permitir que el hexano fluyera. Cuando se observó que la sílica gel se asentaba y ya no subía de nivel de sólido, se cerró la llave. (Figura 5.9).

Aplicación del extracto

La aplicación del extracto preadsorbido que tuvo una consistencia de polvo coloreado por el extracto original, se llevó a cabo empleando un embudo de vidrio, mismo que se colocó en la parte superior de la columna y lentamente al inicio se fue colocando con mucho cuidado a manera de salero al interior de la columna cromatográfica que contenía una fase líquida observable de aprox. 10

cm de altura. Al terminar de aplicar el extracto, se adicionó una cantidad pequeña de disolvente para lavar las paredes de la columna de vidrio.



Figura 5.9 Preparación de columna cromatografica

A continuación se inició el proceso de obtención de fracciones, la primera fracción se obtuvo con un volumen de 500 mL, se colecto y evaporo con rotovapor hasta reducirla a 10 ml. las siguientes fracciones obtenidas fueron de 20 ml y evaporadas a sequedad en baño maría (Figura 5.10). Las fracciones pares fueron monitoreadas a través de cromatografía en capa delgada (Figura 5.11), las fracciones que mostraban similitud en sus valores de R_f se reunieron y se aumentó la polaridad del eluyente en base al monitoreo de las fracciones. Los gradientes de polaridad fueron: 1:0 hexano, 95:5 hexano/ AcOEt, 9:1 hexano/ AcOEt, 8:2 hexano/ AcOEt, 7:3 hexano/ AcOEt, 1:1 hexano/ AcOEt y 1:0 AcOEt.

Obtención de fracciones

A continuación se inició el proceso de obtención de fracciones, la primera fracción se obtuvo con un volumen de 500 mL, se colecto y evaporo con rotovapor hasta reducirla a 10 ml. las siguientes fracciones obtenidas fueron de 20 ml y evaporadas a sequedad en baño maría (Figura 5.11). Las fracciones pares fueron monitoreadas a través de cromatografía en capa delgada (Figura 5.11), las fracciones que mostraban similitud en sus valores de R_f se reunieron y se

aumentó la polaridad del eluyente en base al monitoreo de las fracciones. Los gradientes de polaridad fueron: 1:0 hexano, 95:5 hexano/ AcOEt, 9:1 hexano/ AcOEt, 8:2 hexano/ AcOEt, 7:3 hexano/ AcOEt, 1:1 hexano/ AcOEt y 1:0 AcOEt.

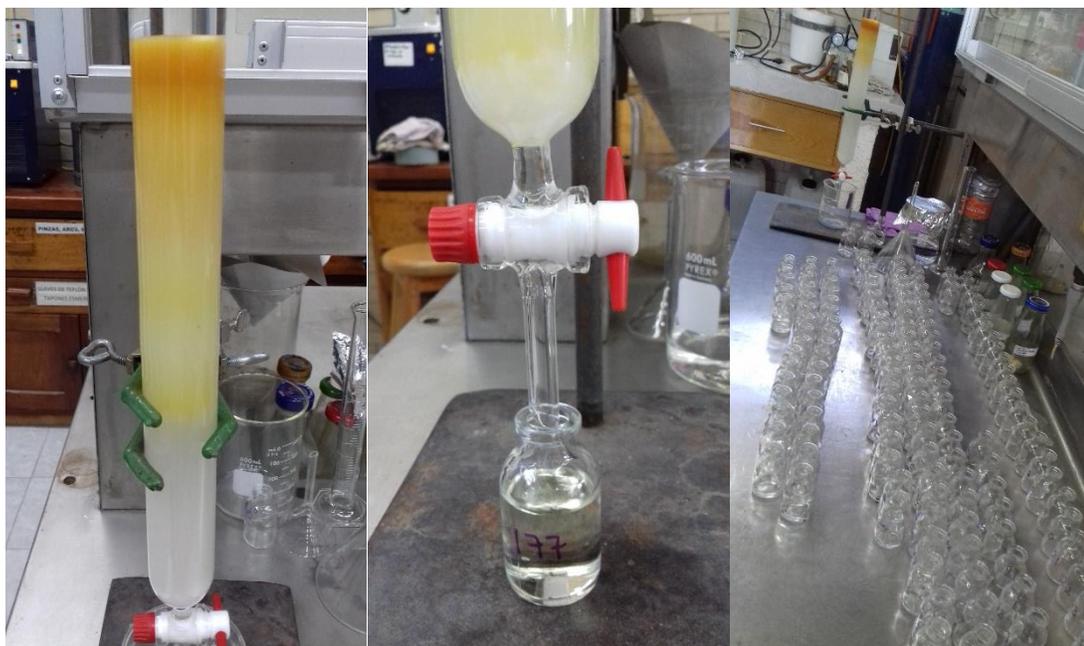


Figura 5.10 Columna cromatografica y obtención de fracciones

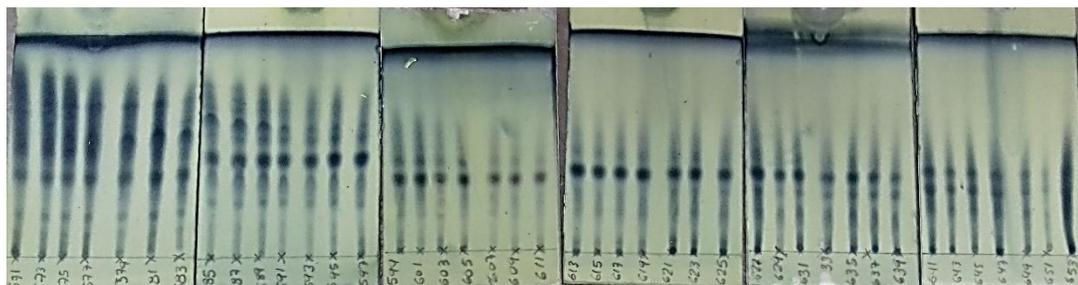


Figura 5.11 Monitoreo de fracciones con cromatografía de capa delgada

5.4.6 Purificación de compuestos

Las fracciones obtenidas de la columna de extracto hexánico de raíz, se analizaron con cromatografía de capa delgada, se efectuó un pre-análisis de las fracciones que presentaron mejor separación y por su perfil de Resonancia

Magnética Nuclear de Hidrogeno (RMH de ^1H). De acuerdo a este análisis se eligieron 2 fracciones que presentaban varios compuestos. A estas fracciones se les aplicaron pruebas de eluyentes en la cromatografía de capa delgada para determinar el mejor eluyente para aislar los compuestos, una vez elegido el eluyente se procedió a desarrollar la cromatografía en columna a cada fracción, se obtuvieron fracciones de 5 ml. estas fracciones se evaporaron en baño maría y monitorearon con cromatografía en capa delgada, se reunieron las fracciones que contenían compuestos con valores similares de Rf, las fracciones que no contenían compuestos se desecharon (Figura 5.12).

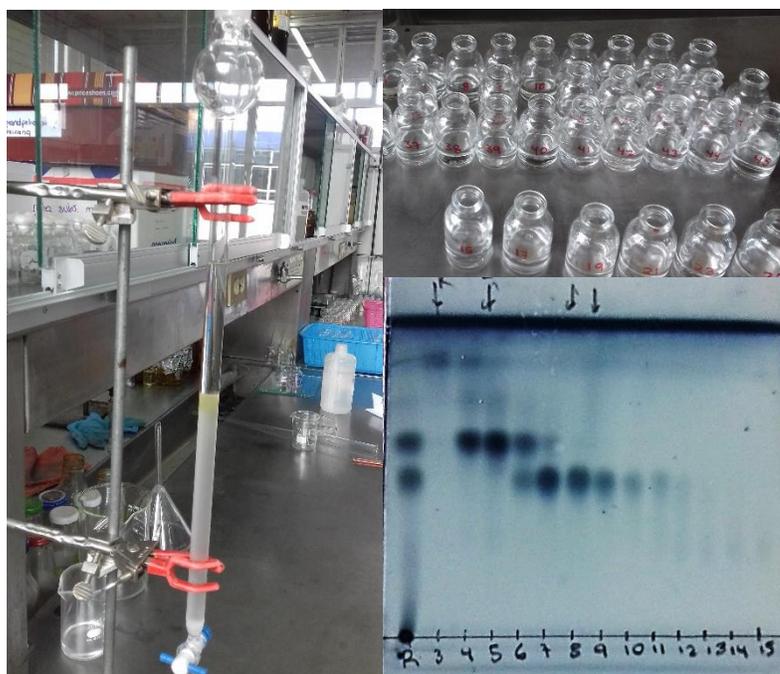


Figura 5.12 Cromatografía de fracciones de la columna principal

5.4.7 Identificación de compuestos aislados

La identificación de compuestos se hizo empleando los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno (RMH de ^1H , a 400 MHz) y Resonancia Magnética Nuclear de carbono 13 (RMN de ^{13}C a 100 MHz), dichos espectros se determinaron en un espectrómetro a 400 MHz (Agilent Mod. 400 MR DD2) se

utilizó cloroformo deuterado (CDCl₃, cuya señal aparece a 7.2 ppm) como disolvente de las fracciones y tetrametilsilano (TMS, 0.0 ppm) como referencia interna. En algunos casos se empleó la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de gases para establecer los pesos moleculares y los patrones de pureza y fragmentación de los productos naturales aislados. Finalmente la identidad de algunos metabolitos aislados, se compararon por cromatografía en capa delgada con muestras auténticas como β-sitosterol (1) y estigmasterol (2)

5.5 Resultados y discusión

El rendimiento del material vegetal colectado seco y molido fue de: 441.5 g de hojas, 3.46 kg de corteza y 4.33 kg de raíz, este material se utilizó para preparar 9 extractos por maceración (Figura 5.14), la cantidad de extracto obtenido se presenta en el Cuadro 5.3.

Cuadro 5.3 Cantidad de extracto obtenido de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*

Extractos	Hojas (g)	Corteza (g)	Raíz (g)
Hexáno	2.1	4.2	4.1
Diclorometano	4.9	16.8	3.0
Metanol	69.8	38.7	42.5

Derivado del análisis por cromatografía de capa delgada se determinó que el extracto hexánico de raíz (Figura 5.13), contenía mayor cantidad de compuestos y la mezcla de elución hexano/acetato de etilo era la ideal para el aislamiento de estos metabolitos secundarios. Por lo que fue aplicado a una columna cromatográfica, se utilizaron 3 g de extracto y se guardaron 1.2 g como referencia. Del proceso de aislamiento se eluyeron 1008 fracciones, mismas que fueron reunidas por su semejanza cromatográfica y/o el número y tipo de

manchas en las cromatoplaquetas analíticas, de acuerdo con lo mostrado en el Cuadro 5.4.

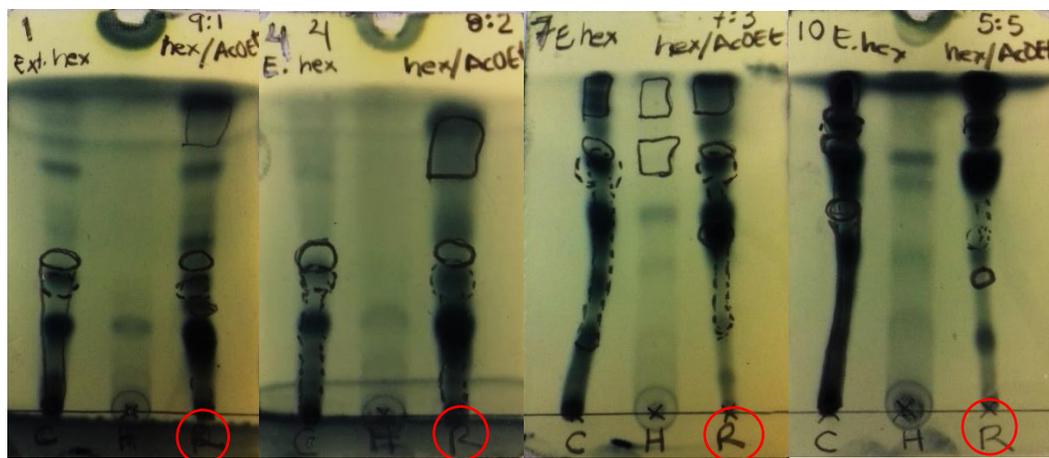


Figura 5.13 Cromatoplaquetas de análisis de extractos de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*

Cuadro 5.4 Fracciones reunidas de la columna de extracto hexánico de raíz

Fase móvil	Fracciones					
100% hexano	1	4	6	13-18	25-28	67-145
	2	5	7-12	19-24	29-66	146-168
	3					
95 : 5 % Hexano/ AcOEt	169-175	188-195	198	239-266	325-348	387-406
	176-181	196	199-208	267-278	349-372	407-418
	182-187	197	209-238	279-324	373-386	419-438
9 : 1 % Hexano/ AcOEt	439-464	503-504	523-536	559	562	565
	465-474	505-513	537-552	560	563	566
	475-489	514-522	553-558	561	564	567-570
	499-502					
8 : 2 % Hexano/ AcOEt	571-584	599-612	626-640	648-654		
	585-598	613-625	641-647	655-694		
7 : 3 % Hexano/ AcOEt	695-706	719-730	740-751	755		
	707-718	731-739	752-754	756-763		
1 : 1 % Hexano/ AcOEt	764-818	829-832	834-835	843-856	872-883	
	819-828	833	837-842	857-871		
100%	884-894	901-908	917-929	945-957		

AcOEt	895-900	909-916	930-994	958-966		
100%	967-969	970	972	974	977-980	995-1008
Metanol	976-969	971	973	975-976	981-994	

Algunas de las fracciones reunidas mostradas en el cuadro 5.4, fueron reanalizadas por cromatografía en capa delgada, como resultado de este análisis se determinó que las fracciones que contuvieran al menos 100 mg de aceites o sólidos para ser analizados por sus espectros de RMN de ^1H , dichas fracciones se resumen en el cuadro 5.5.

Cuadro 5.5 Fracciones seleccionadas del extracto hexánico de raíz de *Fagus grandifolia* subsp *mexicana* pre-analizadas con RMH de ^1H

Fase móvil	Fracciones	
	176-181	209-238
95 : 5 Hexano/ AcOEt	182-187	239-266
	188-195	267-278
	199-208	325-348 y 439-464
9 : 1 Hexano/ AcOEt	567-570	
8 : 2 Hexano/ AcOEt	648-654	655-694
1 : 1 Hexano/ AcOEt	764-818	

Los espectros de RMN de ^1H determinados a las fracciones 209-238 y 439-436 mostraron señales interesantes de metabolitos secundarios, éstas fracciones fueron seleccionadas para realizar varias recromatografías en columna con la finalidad de purificar los compuestos contenidos. En este sentido, la fracción 209-238 constó de 0.1499 g de muestra que se analizó previamente por cromatografía en capa delgada y posteriormente fue sometida a una recromatografía de columna para aislar los compuestos. Como resultado del proceso por recromatografía se obtuvieron 81 fracciones que se analizaron con cromatografía en capa delgada. Para observar la composición de cada fracción, se determinaron sus espectros de RMN de ^1H . La fracción 439-464 contenía 0.1039

g de muestra, se realizó cromatografía en columna, se obtuvieron 311 fracciones que se analizaron con cromatografía de capa delgada para observar la separación de compuestos y composición de las fracciones.

En resumen, de acuerdo a los procedimientos de purificación por cromatografía en columna y por sus los análisis espectroscópicos para el extracto hexánico de raíz de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana* se identificaron cinco compuestos mostrados en el Cuadro 5.6.

Cuadro 5.6 Metabolitos secundarios aislados e identificados en el extracto hexánico de raíz de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana* sometido a cromatografía en columna

Columna	Fracción	Compuesto
Columna Principal	325-348	β -Sitosterol
Columna Principal	325-348	Estigmasterol
*Fracción 209-238	5	Cicloartanol
*Fracción 209-238	8	Stigmast-4-en-3-ona
		Glucósido de β -Sitosterol
*Fracción 439-464	-	No se identificaron compuestos, las señales emitidas de RMN ¹ H correspondían a sistemas grasos.

*Recromatografía en columna

5.5.1 Aislamiento del β -Sitosterol (1) y estigmasterol (2)

En el extracto hexánico de raíz de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana* fracción 325-348, se observó un precipitado blanco en forma de cristales solubles en diclorometano, el precipitado se analizó con RMN ¹H (Figura 5.14) y se observó una señal en 5.3 ppm correspondiente a un hidrógeno vinílico o de alqueno, así mismo en 3.4 ppm se detectó una señal múltiple que integró para un hidrógeno

que fue asignada al protón base de un alcohol como en la mayoría de los esteroides, finalmente entre 0.8 y 1.2 ppm se detectó un conjunto de al menos siete señales finas e intensas (De mayor altura) asignables a los grupos metilo de esteroides, al comparar por cromatografía en capa delgada esta sustancia con una muestra autentica de β -Sitosterol, se observó un mismo valor de Rf y su espectro de RMN de ^1H también correspondió al de este producto natural, quedando plenamente identificado, cuya estructura se muestra en la Figura 5.15.

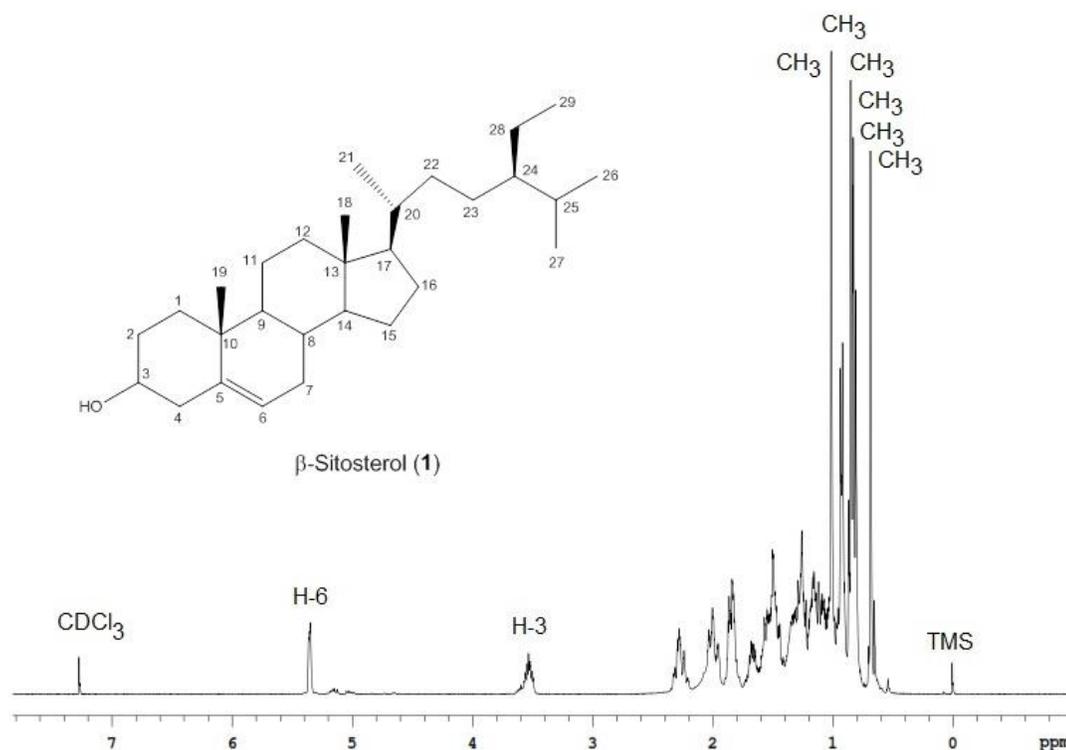


Figura 5.14. Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de ^1H (400 MHz, CDCl_3 , TMS) del β -sitosterol aislado de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*

El β -sitosterol (1) tiene un peso molecular de 414.718 g/mol (Govindarajan & Sarada, 2011). Formula molecular: $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$ (Figura 5.16). Es un fitosterol presente en plantas, frutas, semillas y especias. Paniagua-Pérez et al. (2005) demostraron que el β -Sitosterol tiene la capacidad de atrapar radicales libres y el potencial como agente quimiopreventivo del cáncer al evaluar el potencial antigenotóxico e inmunoestimulante del β -Sitosterol en ratones. Llamos et al. (2005) menciona que el β -Sitosterol actúa en procesos inflamatorios al impedir la

liberación de factores proinflamatorios como la interleucina y el factor de necrosis tumoral- α por los monocitos activados y también reduce el edema. También, tiene acción hipoglicemiante al estimular la secreción de insulina, con lo cual aumenta la concentración de insulina circulante para el control de la glucosa en la sangre.

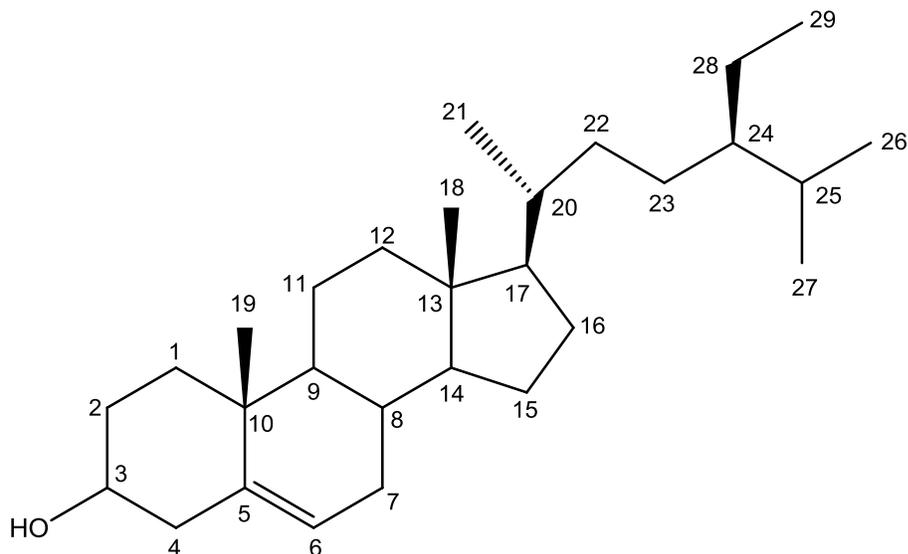


Figura 5.15. Representación de estructura del β -Sitosterol (1)

De las mismas fracciones del extracto hexánico de raíz de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana* fracción 325-348, se observó otro precipitado blanco en forma de cristales solubles en diclorometano, el precipitado se analizó con RMN ^1H (Figura 5.16) y también se observó una señal en 5.3 ppm correspondiente a un hidrógeno vinílico o de alqueno, así mismo en 4.9 ppm se detectaron dos señales de un sistema de doblete dobleteado que integraron para dos hidrógenos que fue asignada a los protones de un enlace doble ubicado en la cadena lateral superior como en la mayoría de los esteroides, también se observó una señal múltiple en 3.4 ppm de un hidrógeno base de alcohol como los pertenecientes al hidroxilo en C-3 de la mayoría de los esteroides. Finalmente entre 0.8 y 1.2 ppm también se detectó un conjunto de al menos siete señales finas e intensas (de mayor altura) asignables a los grupos metilo de esteroides, al comparar por cromatografía en capa delgada esta sustancia con una muestra auténtica de estigmasterol (2), se observó un mismo valor de R_f y su espectro de RMN de ^1H también correspondió

al de este producto natural, quedando plenamente identificado, cuya estructura se muestra en la Figura 5.17.

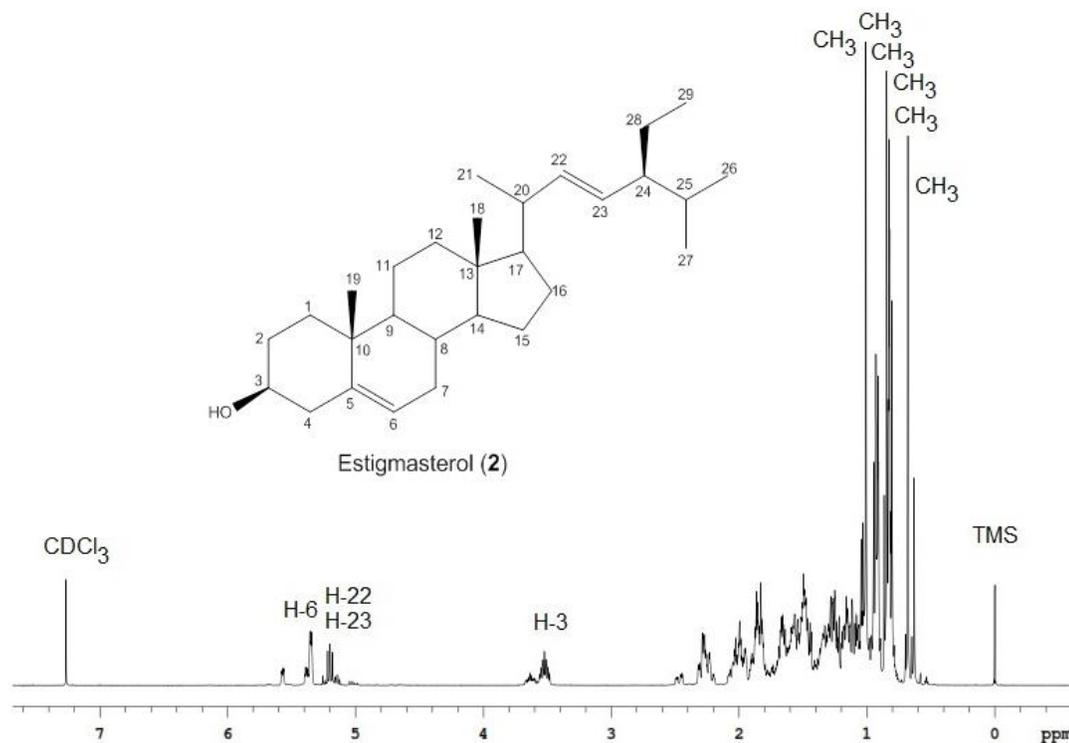


Figura 5.16 Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de ¹H (400 MHz, CDCl₃, TMS) del estigmasterol aislado de *Fagus grandifolia*

El estigmasterol (2) tiene un peso molecular de C₂₉H₅₀O 413.3 g/mol (Govindarajan & Sarada, 2011). Gabay et al. (2010) menciona que el Estigmasterol (2) es un esteroide capaz de unirse a la membrana de los condrocitos y poseer propiedades antiinflamatorias y anticatabólicas. A su vez, contrarresta la expresión de las metaloproteinasas de matriz implicadas en la degradación del cartílago junto un efecto inhibitor sobre el mediador pro-inflamatorio.

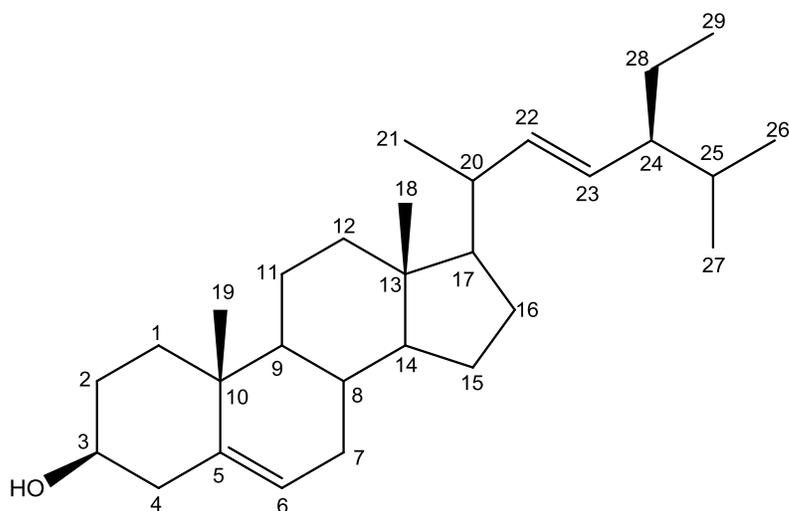


Figura 5.17 Representación de estructura del Estigmasterol (2)

5.5.2 Aislamiento del 3 β -hidroxi-24-metilen cicloartano (3)

Las fracciones 209-238 de la columna principal, fueron sometidas a un proceso de análisis por medio de una segunda recromatografía empacada con silicagel y empezando a eluir con diclorometano, así en la fracción F5 se detectó una sustancia de aspecto aceitoso e incoloro con aroma especial agradable. Al determinar su perfil cromatográfico por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (Figura 5.18), se observó el ion molecular M^+ en m/z 440 que calcula para una formula molecular de $C_{31}H_{52}O$, correspondiéndole 6 insaturaciones (Ω) de acuerdo con la ecuación 1.

MS Data Review Active Chromatogram and Spectrum Plots - 7/6/2017 12:40 PM

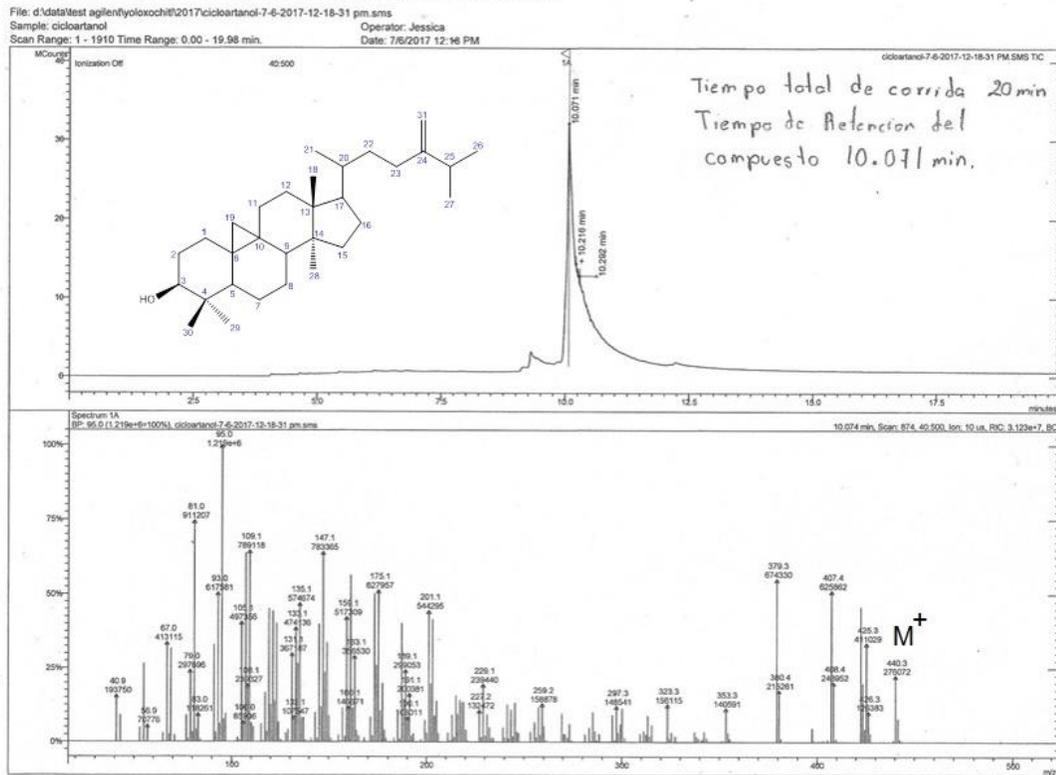


Figura 5.18 Perfil cromatografico obtenido por Cromatografia de Gases acoplada a Espectrometria de masas del 3β-hidroxi-24-metilen cicloartano (3) aislado de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*

$$\Omega = \frac{2(\#C) - \#H + 2}{2}$$

Ecuación 1

Donde Ω es el número de insaturaciones

$\#C$ es la cantidad de carbonos contenidos en la fórmula molecular

$\#H$ corresponde a la cantidad de hidrógenos en la fórmula molecular

Sustituyendo datos:

$$\Omega = \frac{2(\#C) - \#H + 2}{2} = \frac{2(31) - 52 + 2}{2} = \frac{62 - 52 + 2}{2} = \frac{12}{2} = 6 \text{ insaturaciones}$$

En su espectro de RMN de ^1H (Figura 5.19) de 4.6 a 4.8 ppm se observaron dos señales simples que integraron para dos hidrógenos que por su desplazamiento se asignaron a los hidrógenos de un grupo metileno de alqueno ($-\text{C}=\text{CH}_2$), así mismo en 3.30 ppm se observó una señal como un multiplete ancho para un hidrogeno base de alcohol, por otro lado, entre 0.9 y 1.6 ppm se observaron al menos seis señales simples e intensas, típicas de los grupos metilo de un triterpeno, lo más característico en este espectro es la aparición de dos señales dobles de constante de acoplamiento $J = 4$ Hz en 0.30 y 0.50 ppm, típicas de un anillo de ciclopropano (Escobedo-Martínez, et al. 2012). Este tipo de arreglo es observable en productos naturales de tipo cicloartano. La presencia de una insaturación debida al alqueno, indica que las cinco insaturaciones resantes corresponden a cinco ciclos en esta molécula.

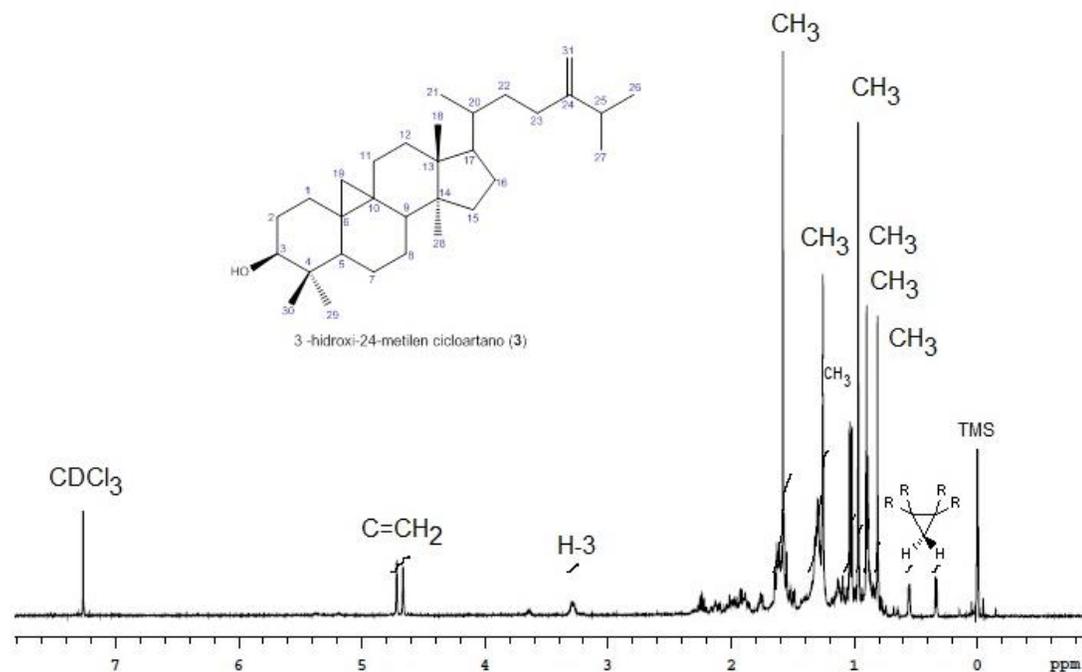


Figura 5.19 Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de ^1H (400 MHz, CDCl_3 , TMS) del 3 β -hidroxi-24-metilencicloartano (**3**) aislado de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*

Por otro lado, el espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz en CDCl_3 (Figura 5.20) del cicloartano **3**, aislado de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*, mostró un total de 31 señales de resonancia, mismas que indican la naturaleza triterpenica de este

producto natural, donde se pudo corroborar que está presente un grupo hidroxilo (-OH) por la señal de resonancia en 78.8 ppm, además de dos señales en 156.9 y 105.9 ppm asignables carbonos de enlace doble (-C=CH₂).

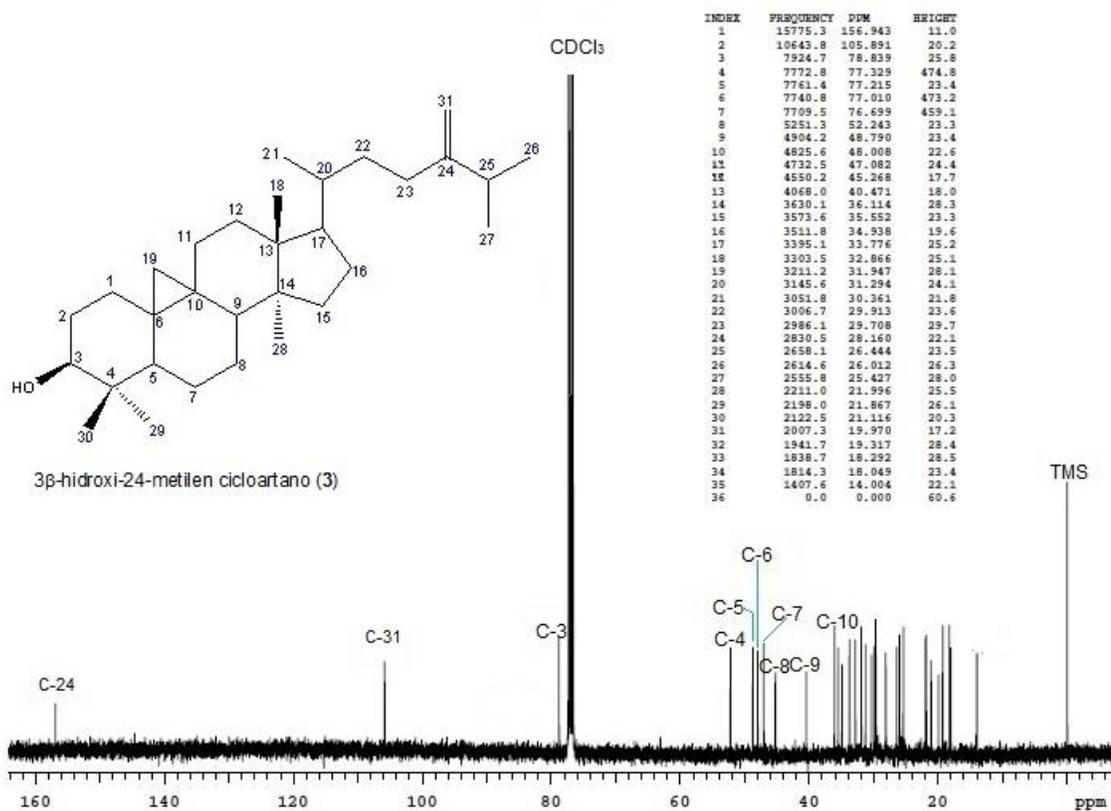


Figura 5.20 Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de ¹³C (100 MHz, CDCl₃, TMS) del 3β-hidroxi-24-metilencicloartano (3) aislado de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*

Finalmente en el espectro 6 tipo DEPT (Distortionless Enhancement of Polarization Transfer) que se emplea para conocer el tipo de grupos o carbonos que contiene una molécula, pudo corroborar la presencia de 7 grupos metilo (CH₃), 12 grupos metileno (CH₂), 6 grupos metino (CH) y 6 átomos de carbono no-protonados (C), mismos que en conjunto suman 31 átomos de carbono como se ha deducido del ion molecular para la fórmula molecular C₃₁H₅₂O. Este cicloartanol ha sido aislado también del follaje de *Senna spectabilis* (De Oliveira et al, 2010).

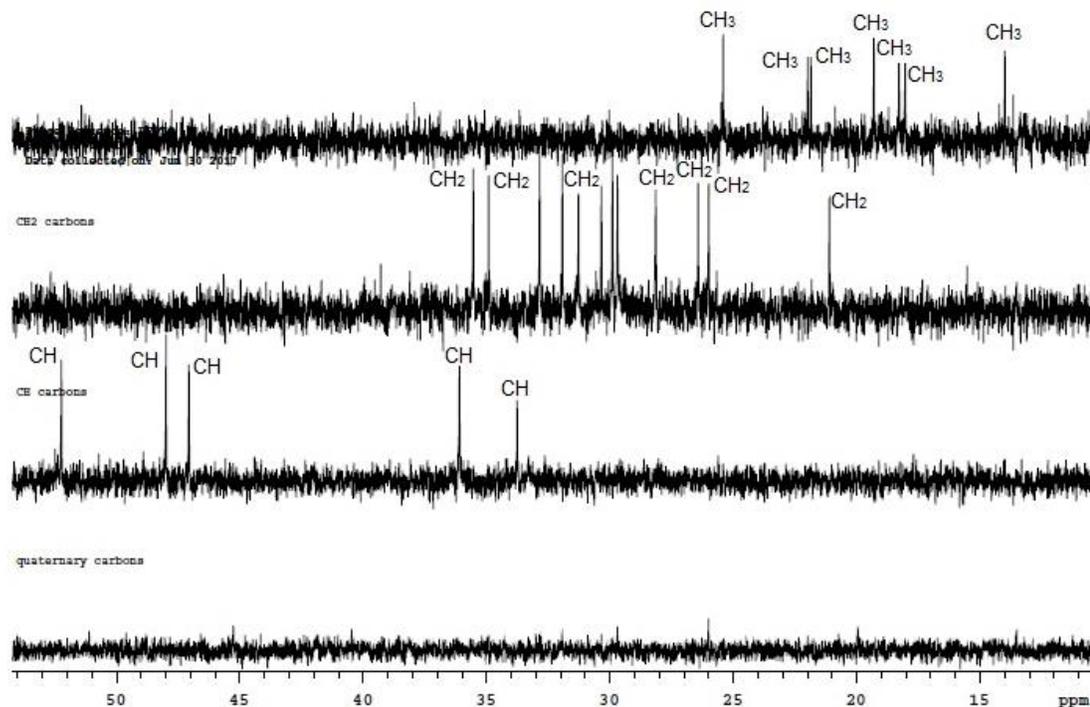


Figura 5.21 Espectro DEPT (100 MHz, CDCl_3 , TMS) del 3 β -hidroxi-24-metilcicloartano (**3**) aislado de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*

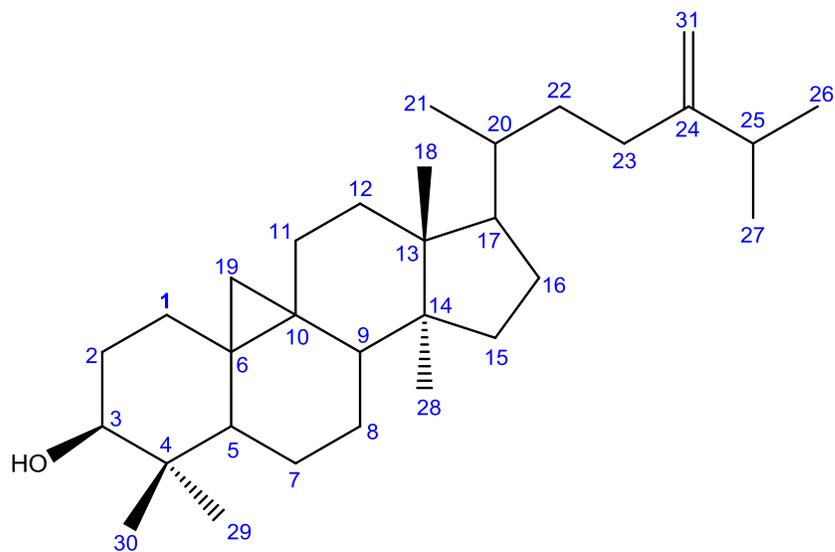


Figura 5.22. Representación de estructura del 3 β -hidroxi-24-metilcicloartano (**3**) aislado de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*

5.5.2 Aislamiento e identificación del estigmast-4-en-3-one (4)

De las mismas fracciones 209-238 de la columna principal, fueron sometidas un proceso de análisis por medio de una segunda recromatografía empacada con silicagel y empezando a eluir con diclorometano, así en las fracciones F8 y F9 se detectó una sustancia de aspecto aceitoso e incoloro. Al determinar su espectrometría de masas, se observó el ion molecular M^+ en m/z 412 que calcula para una formula molecular de $C_{29}H_{48}O$, correspondiéndole 6 insaturaciones (Ω) de acuerdo con la ecuación 1.

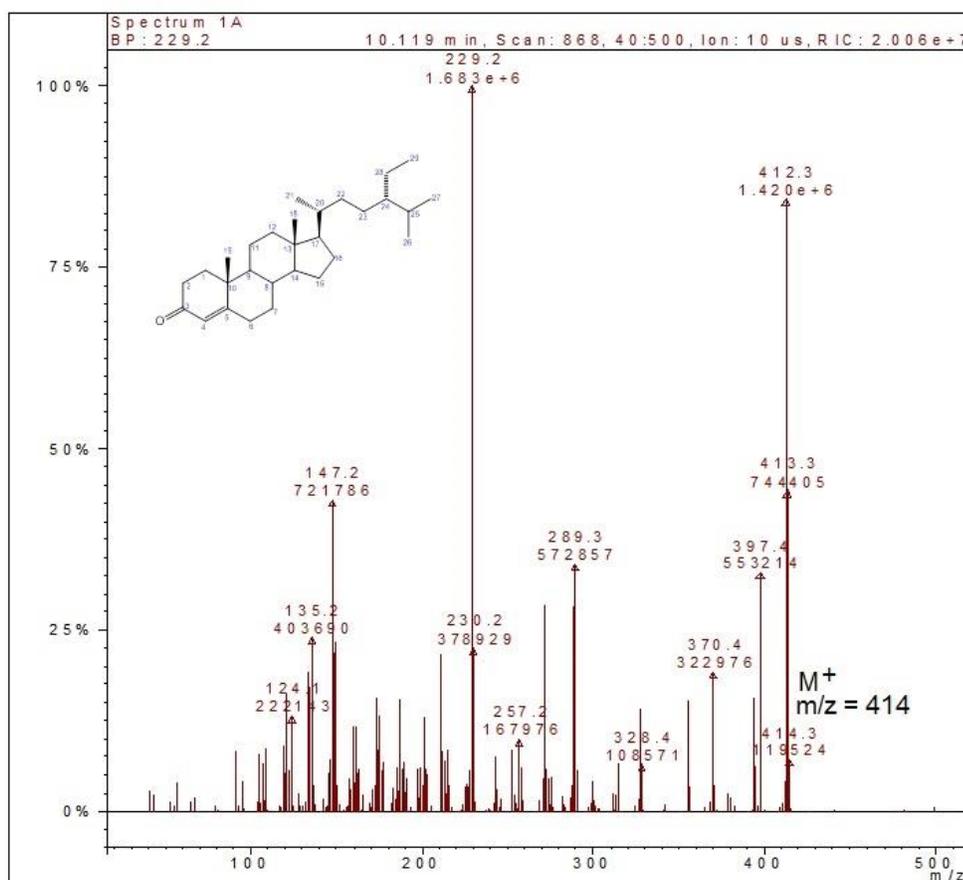


Figura 5.23 Perfil por espectrometría de masas del estigmast-4-en-3-ona (4) aislado de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*

En tanto que en el espectro de RMN de ^{13}C (Figura 5.26) de la fracción F8 y F9 de la recromatografía de la columna original del extracto hexánico de raíz de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*, se observaron 29 señales de resonancia y en particular en 199.7, 171.7 y 123.8 ppm se detectaron señales que corroboran la presencia del sistema α,β -insaturado mencionado, del tipo 3-androstano.

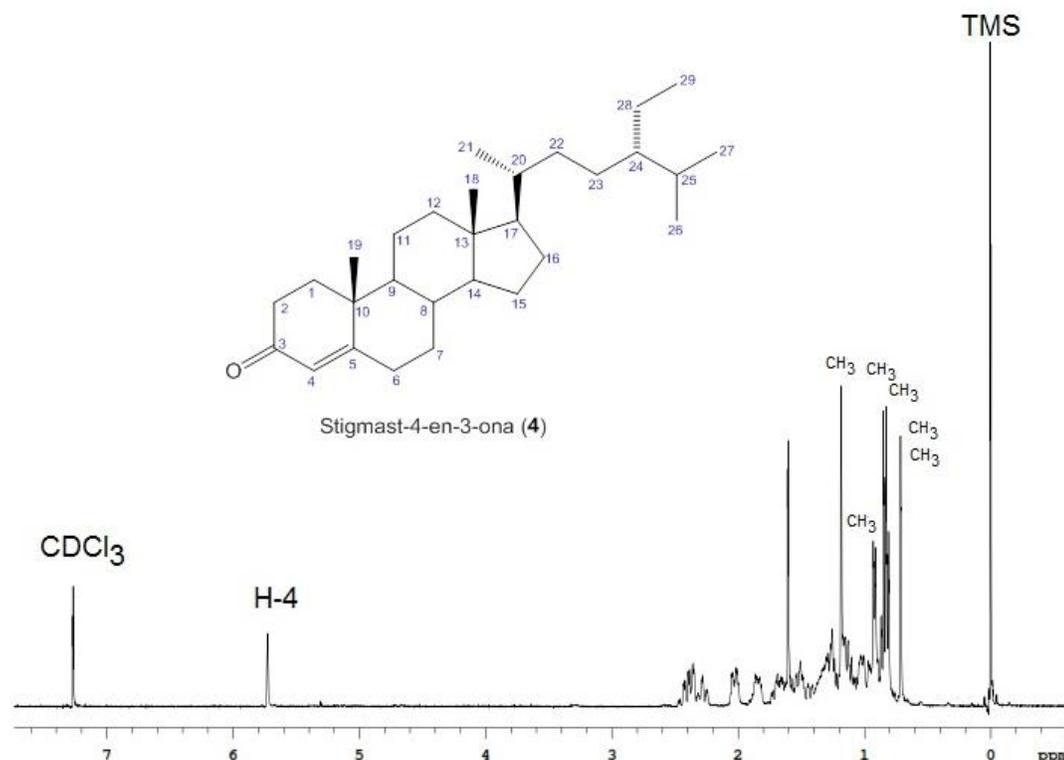


Figura 5.26 Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de ^1H (400 MHz, CDCl_3 , TMS) del estigmast-4-en-3-ona (4) aislado de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*

En tanto que en el espectro de RMN de ^{13}C (Figura 5.27) de la fracción F8 y F9 de la recromatografía de la columna original del extracto hexánico de raíz de *Fagus grandifolia*, se observaron 29 señales de resonancia y en particular en 199.7, 171.7 y 123.8 ppm se detectaron señales que corroboran la presencia del sistema α,β -insaturado mencionado, del tipo 3-androstano.

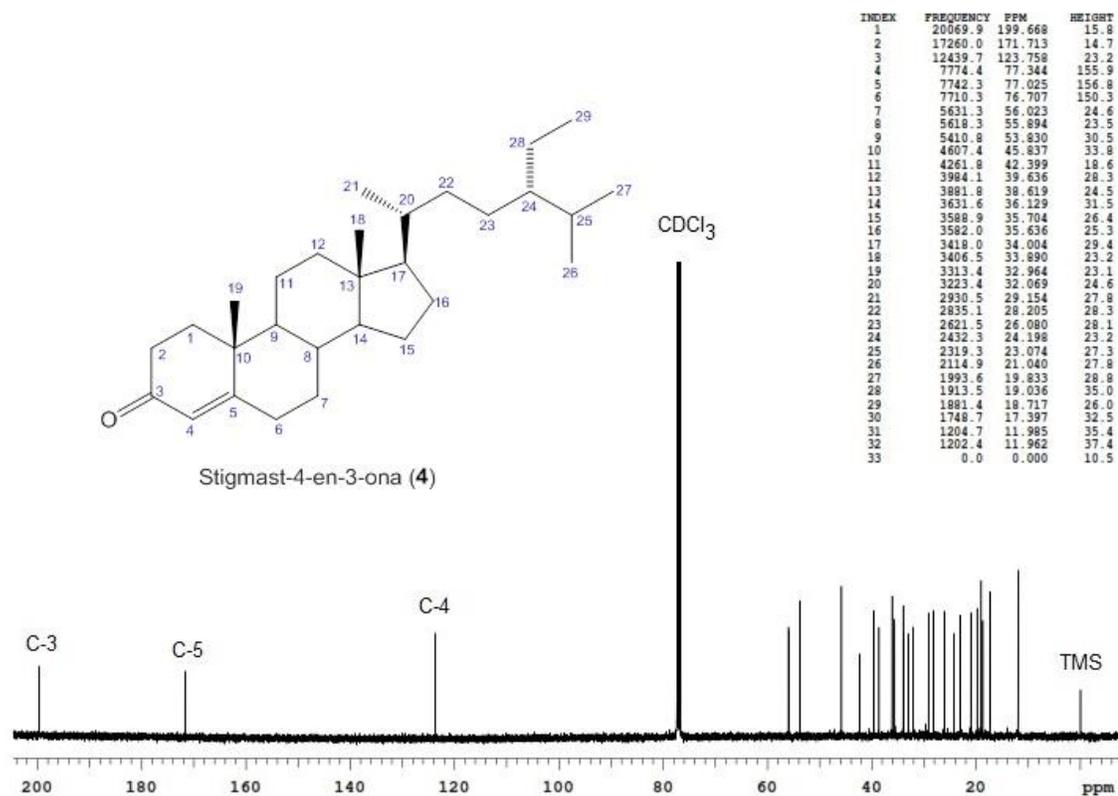


Figura 5.27 Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 , TMS) del estigmast-4-en-3-ona (**4**) aislado de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*

Finalmente en el espectro 10, tipo DEPT (Distortionless Enhancement of Polarization Transfer), se pudo corroborar la presencia de 6 grupos metilo (CH_3), 11 grupos metileno (CH_2), 8 grupos metino (CH) y 4 átomos de carbono no-protonados (C), mismos que en conjunto suman 29 átomos de carbono como se ha deducido del ion molecular para la fórmula molecular $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}$. Quedando plenamente identificada esta sustancia como estigmast-4-en-3-ona (**4**)

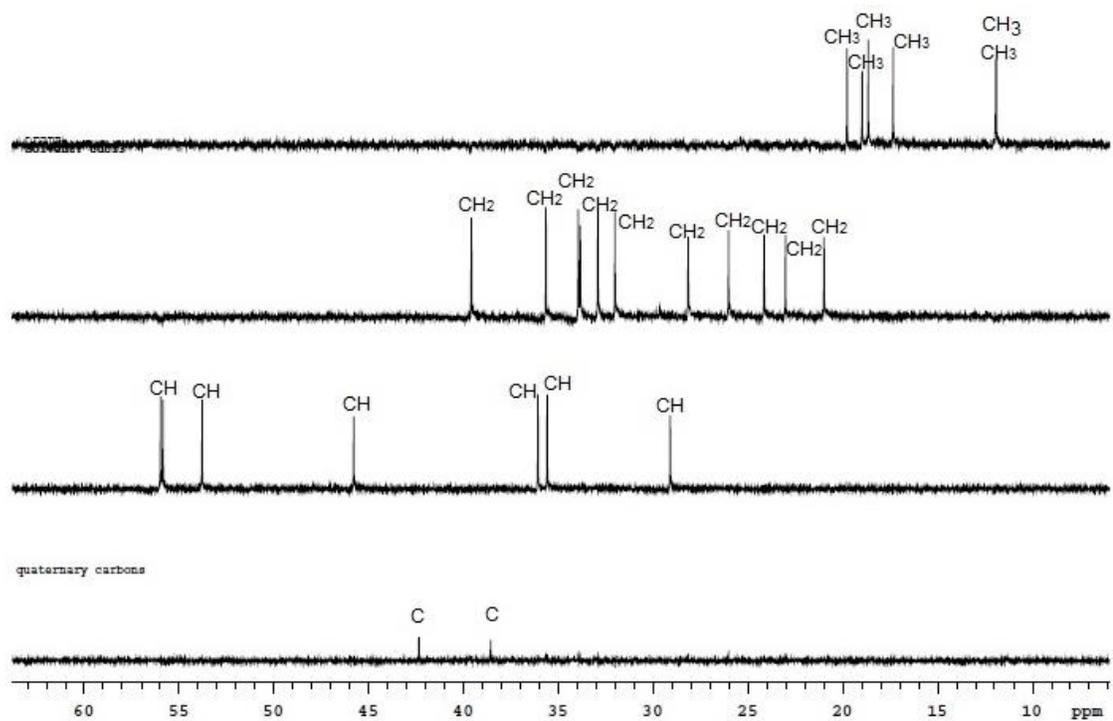


Figura 5.28 Espectro DEPT (100 MHz, CDCl_3 , TMS) del estigmast-4-en-3-ona (**4**) de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*

El estigmast-4-en-3-ona (**4**) ha sido aislado de las partes aéreas de *Schizonetepa tenuifolia* Briquet, las propiedades que le confieren a esta planta son: antiinflamatoria, antidiabética y antipurítico (Newsom y Miller, 2009). También fue aislado de *Anacardium occidentale* y se probó su efecto hipoglucémico, el compuesto retrazó la absorción de glucosa actuando como un inhibidor en la absorción de carbohidratos y en consecuencia disminuir el nivel de azúcar en la sangre (Alexander-Lindo, et al, 2004).

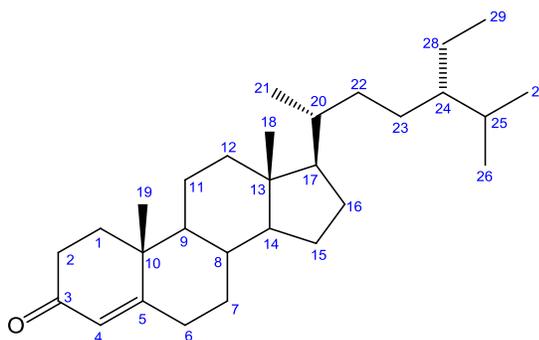


Figura 5.29 Representación de estructura de Stigmast-4-en-3-ona

5.5.3 Aislamiento e identificación del glucósido de β -sitosterol (5)

Del extracto crudo de cloruro de metileno de las raíces de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*, se observó un precipitado, mismo que fue filtrado y lavado con éter diisopropílico, al determinar su espectro de RMN de ^1H en $\text{DMSO-}d_6$, (Espectro 11) se observó un patrón de acoplamiento semejante a un esteroles o sea un conjunto de 7 señales intensas a baja frecuencia (entre 0.9 y 0,6 ppm), además de otro conjunto de señales entre 3 y 5.5 ppm de un monosacárido como la glucosa unido a este esteroles.

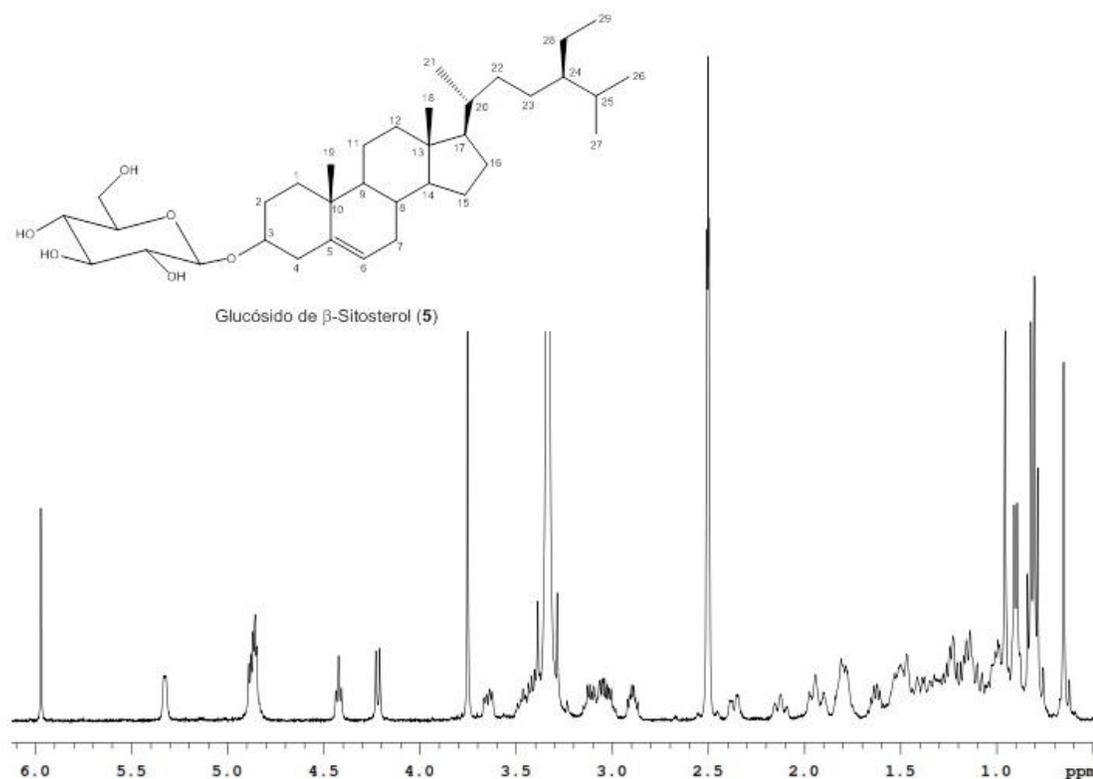


Figura 5.30 Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, TMS) del glucosido de β -sitosterol (5) aislado de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*

Por otro lado, en su espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz en $\text{DMSO-}d_6$, (Figura 5.31) se puede deducir que este este producto natural se encuentra mezclado con un poco del derivado 4, ya que se observan tres señales de resonancia en

187.5176.6 y 157.7 del sistema α,β -insaturado como el descrito para un compuesto tipo 3-androstano (Figura 5.17), mencionado previamente.

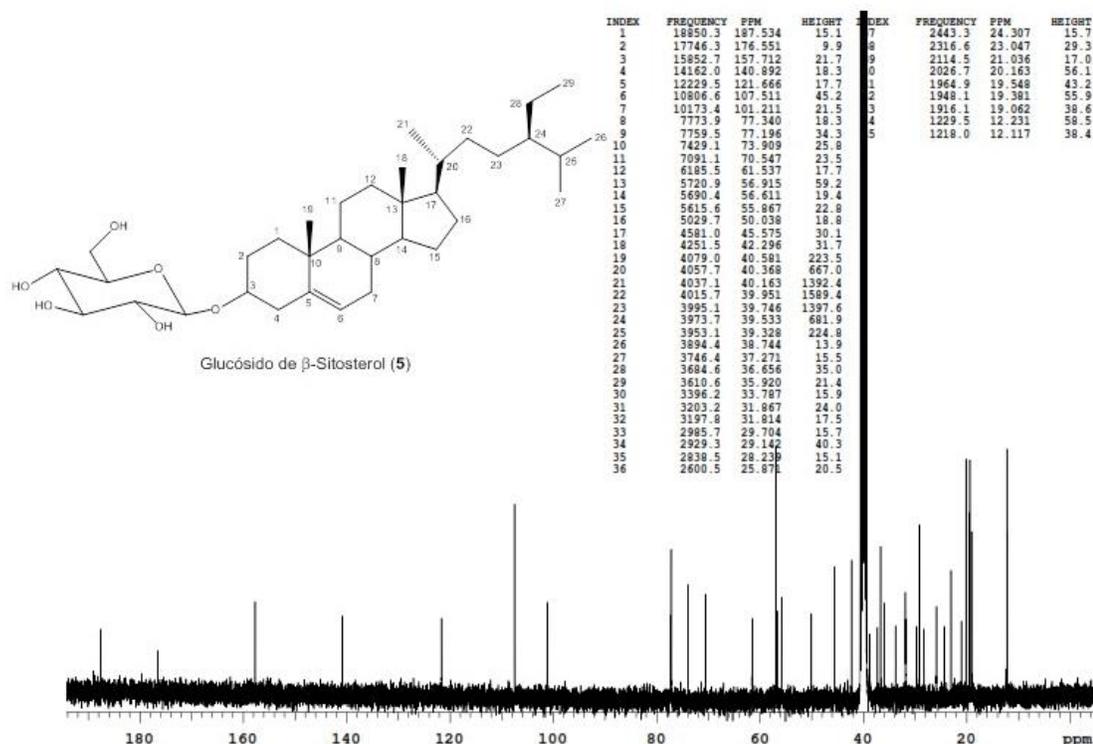


Figura 5.31 Espectro de Resonancia Magnética Nuclear de ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, TMS) del glucósido de β -sitosterol (**5**) aislado de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*

Finalmente, en su espectro DEPT (Figura 5.32), fue posible establecer claramente que el glucósido de β -sitosterol (**5**), se encuentra mayoritariamente presente en el precipitado del extracto de cloruro de metileno de las raíces de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*.

Los datos espectroscópicos deducidos anteriormente, permitieron establecer que el compuesto mayoritario pudo identificarse como glucósido de β -sitosterol (**5**) (Shaheen et al, 2001), representado en la estructura de la Figura 5.21.

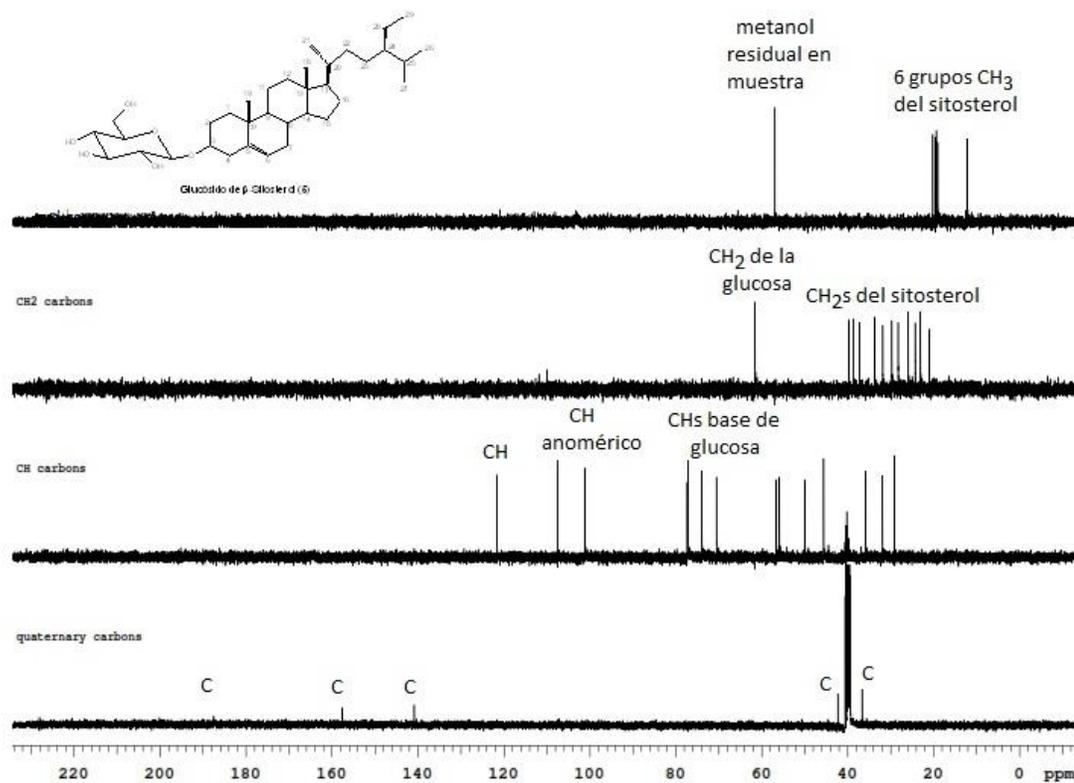


Figura 5.32 Espectro DEPT (100 MHz, DMSO- d_6 , TMS) del glucósido de β -sitosterol (**5**) aislado de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*

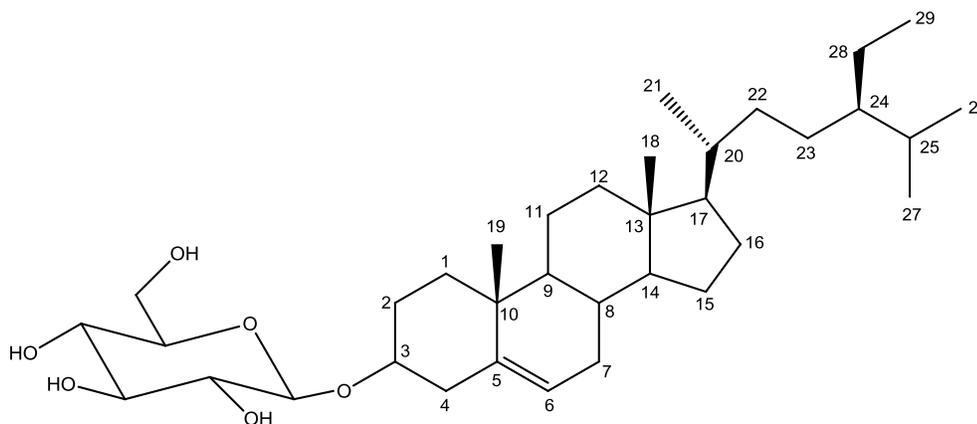


Figura 5.33 Representación de estructura del glucósido de β -sitosterol (**5**) aislado de *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*

El glucósido de β -sitosterol (**5**) también ha sido aislado de otras fuentes botánicas principalmente de *Brassica rapa* sb.sp. *campestris* y de *Aloe barbadensis*, tanto este glucósido **5**, y sus derivados posee muy importante actividad biológica y

recientemente su formulación es útil en el tratamiento de infecciones del sida (Shaheen et al, 2001)

5.6 Conclusiones

El estudio del extracto hexánico de raíz de la especie *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana* aporta significativos conocimientos sobre la composición fitoquímica de la especie. El análisis del extracto de hexano de las raíces aportó cuatro metabolitos secundarios conocidos como β -sitosterol (**1**), estigmasterol (**2**), 3 β -hidroxi-24-metilencicloartano (**3**) y estigmast-4-en-3-ona (**4**), en tanto que del extracto de cloruro de metileno de sus raíces precipitó un derivado conocido como glucósido de β -sitosterol (**5**). Si bien los compuestos aislados e identificados ya se han aislado de otras plantas, es la primera ocasión que se describe para la especie objeto de esta investigación, lo cual constituye un resultado relevante en cuanto al conocimiento de este árbol, proyectándose entonces usos potenciales de interés medicinal.

5.7 Literatura citada

Alexander-Lindo , R. L., Morrison, E. S., y Nair, M. G. (2004). Hypoglycaemic Effect of Stigmast-4-en-3-one and its Corresponding Alcohol from the Bark of *Anacardium occidentale* (Cashew). *Phytotherapy Research*, 18, 403-407. doi:10.1002/ptr.1459

De Oliveira S., F., Ricarte de O., Í., Vasconcelos S., M. G., y Braz-Filho, R. (2010). Constituintes químicos das folhas de *Senna spectabilis* (DC) IRWIN y BARNEBY var. *excelsa* (Schrad.) IRWIN y BARNEBY. *Quim. Nova*, 33(9), 1874–1876.

Escobedo-Martínez, C., Villarreal, M. C., Gnecco, D., Enriquez, R. G., y Reynolds, W. (2012). ¹H and ¹³C NMR characterization of new cycloartane triterpenes

from *Mangifera indica*. Magnetic Resonance in Chemistry, 50, 52–57.
<http://doi.org/10.1002/mrc.2836>

Gabay, O., Sanchez, C., Salvat, C., Chevy, F., Breton, M., Nourissat, G., ... Berenbaum, F. (2010). Stigmasterol: a phytosterol with potential anti-osteoarthritic properties. *Osteoarthritis and Cartilage*, 18(1), 106–116.
<http://doi.org/10.1016/j.joca.2009.08.019>

Govindarajan, P., y Sarada, D. V. L. (2011). Isolation and characterization of stigmasterol and β -sitosterol from *Acacia nilotica* (L.) *Delile ssp Indica* (benth.) Brenan. *Journal of Pharmacy Research*, 4(10), 3601–3602.

Hofmann, T., Nebehaj, E., Stefanovits-Bányai, É., y Albert, L. (2015). Antioxidant capacity and total phenol content of beech (*Fagus sylvatica* L.) bark extracts. *Industrial Crops and Products*, 77, 375–381.
<http://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.09.008>

Llamos Hung, B. R., Falero Morejón, A., Pérez Bolaños, C., Morales Tirado, S., Quiñones Balcinde, Y., Rodríguez, P., ... Pineda Rodríguez, M. (2005). Fitosteroles . Parte 1 . Tendencias actuales y aplicaciones biomédicas. *Revista CENIC Ciencias Biologicas*, 36(1), 23–30.

Marcano, D.; Hasegawa, M. 2002. Fitoquímica orgánica. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela. Pp 80-88.

Newsom, L. A., y Miller, R. B. (2009). Wood Species Analysis of Ship Timbers and Wooden Items Recovered from Shipwreck 31CR314 , Queen Anne's Revenge Site. North, (February), 1–16.

Ospina, L. F., y Pinzón, R. (1995). Plantas usadas como antidiabéticas en la medicina popular colombiana. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-*

Farmacéuticas, 23(23), 81–94.

Paniagua-Pérez, R., Madrigal-Bujaidar, E., Reyes-Cadena, S., Molina-Jasso, D., Gallaga, J. P., Silva-Miranda, A., ... Chamorro, G. (2005). Genotoxic and Cytotoxic Studies of Beta-Sitosterol and Pteropodine in Mouse. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2005(3), 242–247. <http://doi.org/10.1155/JBB.2005.242>

Pujol, C. A., Damonte, E. B., Turjan, J., Yanbo, K. Z., y Capek, P. (2016). The antiviral potency of *Fagus sylvatica* 4OMe-glucuronoxylan sulfates. *International Journal of Biological Macromolecules*, 87, 195–200. <http://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.02.048>

Shaheen Faizi,; Muhammad Ali,; Rubeena Saleem, Irfanullah and Sarah Bibi (2001). Complete ^1H and ^{13}C NMR assignments of stigma-5-en-3-O- β -glucoside and its acetyl derivative. *Magnetic Resonance in Chemistry*. 39, 7, 399–405

Silverstein, R.M.; Webster, F.X.; Kiemle, D.J. 2002. *Spectrometric identification of organic compounds*, Seventh Ed. 1-203

Valcárcel Cases, M., y Gómez Hens, A. (1988). *Técnicas analíticas de separación*. Barcelona, España.: Reverté, S.A.

Williams-Linera, Guadalupe. Rowden, Adéle. Newton, A. C. (2003). Distribution and stand characteristics of relict populations of Mexican beech (*Fagus grandifolia* var. *mexicana*). *Biological Conservation*, 109(January), 27–36. [http://doi.org/10.1016/S0006-3207\(02\)00129-5](http://doi.org/10.1016/S0006-3207(02)00129-5)

Yi-Chun, L., Chien-Kuang, C., Sheng-Fa, T., y Shoei-Sheng, L. (2012). Triterpenes as α -glucosidase inhibitors from *Fagus hayatae*. *Phytochemistry*, 74, 206–211. <http://doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.09.016>

6. CONCLUSIONES GENERALES

El presente estudio es una contribución al conocimiento de la madera de la especie *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana*. La descripción de las características anatómicas, el valor de la densidad básica son referente para la valoración de la madera. Los metabolitos secundarios identificados y sus propiedades son una pauta para el desarrollo de nuevas investigaciones y promover el uso no maderable de la especie y en un futuro coadyuvar en las estrategias de conservación y producción para la preservación de los bosques de haya en México

7. APÉNDICES

Anexo 1. Clasificación de veteado (Tortorelli, 1956)

Clase	Característica
Pronunciado	Elementos amplios o gruesos, diferencia de color notable
Suave	Término medio respecto al veteado pronunciado y el liso.
Liso	Elementos constitutivos apenas perceptibles a simple vista, coloración uniforme

Anexo 2. Clasificación de textura (Tortorelli, 1956)

Clase	Característica
Gruesa	Elementos constitutivos amplios, diámetro de poros $>250 \mu$, rayos grandes y parénquima abundante.
Media	Término medio entre tipo fina y gruesa, poros de 150 a 250 μ .
Fina	Elementos constitutivos pequeños, menores a 50 μ de diámetro, parénquima escaso y fibras abundantes.

Anexo 3. Clasificación de hilo (Tortorelli, 1956)

Clase	Característica
Derecho	Dirección paralela al eje vertical del fuste del árbol.
Oblicuo	Se desvía formando un ángulo con el eje, se nota en la cara tangencial.
Entrecruzado	Tiene dirección opuesta y alterna en anillos sucesivos.
Crespo	La dirección del haz longitudinal es regularmente ondulada.

Anexo 4. Clasificación de porosidad (Tortorelli, 1956)

Clase	Característica
Difusa	Distribución uniformemente en toda la zona de crecimiento.
Circular	Poros de cavidad amplia a lo largo del límite extremo de la zona de crecimiento en la madera temprana.
Semicircular	Los poros van disminuyendo de diámetro gradualmente hacia la madera tardía.

Anexo 5. Clasificación de agrupación de elementos de vaso (Tortorelli, 1956)

Tipo	Característica
Solitarios	Poros individuales rodeados por otro tipo de elementos.
Múltiples	Dos o más poros unidos, comprimidos uno contra otro en sentido radial.
En cadena	Poros separados pero alineados en serie.
Agrupados	Poros separados pero distribuidos en grupos de tres o más.

Anexo 6. Clasificación de diámetro de elementos de vaso (Tortorelli, 1956)

Diámetro	Característica
>100 μ	Pequeños
100-200 μ	Medianos
200-300 μ	Grandes
>300 μ	Muy grandes

Anexo 7. Clasificación de longitud de elementos de vaso (Tortorelli, 1956)

Longitud (μ)	Característica
<350	Cortos
350-800	Medianos
>500	Largos

Anexo 8. Clasificación de abundancia de elementos de vaso (Tortorelli, 1956)

Cantidad	Característica
<10	Poco numerosos
10-20	Numerosos
20-40	Muy Numerosos
>40	Extremadamente Numerosos

Anexo 9. Clasificación de placa de elementos de vaso (Tortorelli, 1956)

Tipo	Característica
Simple	Abertura única grande.
Múltiple	Dos o más aberturas.
Orlada	Cuando el remanente de la pared en la abertura simple forma un margen alrededor.
Escaleriforme	Varias perforaciones alargadas o paralelas.
Reticulada	Varias perforaciones pequeñas en forma de red, numerosas.
Efedroide	Aberturas pequeñas poco numerosas y más o menos circulares.

Anexo 10. Clasificación abundancia de rayos (Tortorelli, 1956)

No./mm²	Característica
<2	Muy escasos
3-4	Escasos
5-7	Pocos numerosos
8-10	Numerosos
10-15	Muy numerosos
>15	Extremadamente numerosos

Anexo 11. Clasificación altura de rayos (Tortorelli, 1956)

Altura (μ)	Característica
<200	Muy bajos
200-500	Bajos
500-800	Medianos
800-2000	Altos
>2000	Muy altos

Anexo 12. Clasificación anchura de rayos (Tortorelli, 1956)

Ancho (μ)	Característica
<25	Muy angosto
25-50	Moderadamente angostos
50-100	Medianos
100-200	Moderadamente anchos
>200	Muy anchos

Anexo 13. Clasificación de longitud de fibras (Tortorelli, 1956)

Longitud (μ)	Característica
400-900	Cortas
900-1600	Medianas
>1600	Largas

Anexo 14. Clasificación de diámetro de fibras (Tortorelli, 1956)

Diámetro (μ)	Característica
<25	Finas
25-40	Medianas
>40	Anchas

Anexo 15. Clasificación de diámetro de fibras (Tortorelli, 1956)

Clase	Magnitud
Muy delgada	El lumen es $\frac{3}{4}$ o más del diámetro total de la fibra
Delgada	El lumen ocupa $\frac{3}{4}$ a $\frac{1}{2}$ del diámetro total
Gruesa	Lumen de $\frac{1}{2}$ a $\frac{1}{3}$ del diámetro total
Muy gruesa	Lumen menor a $\frac{1}{3}$ del diámetro total

Anexo 16. Clasificación de densidad básica (Vignote y Jimenez1996)

Clase	Especies frondosas
Muy ligera	0.35
Ligera	0.35-0.50
Semipesada	0.51-0.70
Pesada	0.75-0.95
Muy pesada	0.95