



Universidad Michoacana de  
San Nicolás de Hidalgo



División de Estudios de Posgrado de la  
Facultad de Ingeniería en Tecnología de la  
Madera

Maestría en Ciencias y Tecnología de la Madera

### Título

Evaluación de canales resiníferos y resina en un ensayo de progenies de *Pinus pringlei* Shaw  
en el sitio La Calera del estado de Michoacán, México.

### Tesis

Que para obtener el grado de Maestra en Ciencias y Tecnología de la Madera

Presenta:

Hilda Elizabeth León Soto

Asesor de tesis:

Dr. José Cruz de León

Co-Asesor de Tesis:

Dr. Nahúm M. Sánchez Vargas

Morelia, Mich., Febrero de 2020.

## Índice de Temas

Tema	Página
Resumen/Abstract.....	5
Introducción General.....	6
Objetivo general.....	11
Hipótesis.....	12
Justificación.....	13
Capítulo 1. Cuantificación de los canales resiníferos	
1.1 Introducción.....	14
1.2 Antecedentes.....	17
1.3 Materiales y métodos.....	19
1.3.1. Recolección de las muestras.....	20
1.3.2. Preparación de las muestras.....	20
1.3.3. Análisis de las muestras.....	22
1.4. Resultados.....	24
Capítulo 2. Determinación de la presencia de resina contenida en las muestras.	
2.1. Introducción.....	28
2.2. Antecedentes.....	30
2.3. Materiales y métodos.....	32
2.4. Resultados.....	34
Discusión.....	38
Conclusiones.....	40
Recomendaciones.....	41
Bibliografía.....	42

## Índice de Figuras

Figura	Página
Fig. 1. Pino resinado con el método Hughes.....	7
Fig. 2. Distribución del género <i>Pinus</i> en la República Mexicana.....	9
Fig. 3. Distribución de <i>P. pringlei</i> en México.....	10
Fig. 4. Canal Resinífero rodeado de células epiteliales .....	15
Fig. 5. Mapa satelital de la ubicación del ensayo.....	19
Fig. 6. Fotografía en campo del ensayo .....	19
Fig. 7. Marcado y etiquetado del individuo.....	21
Fig. 8. Localización de la orientación norte y sur con GPS para muestreo.....	21
Fig.9. Extracción de la muestra.....	21
Fig. 10. Sellado de la herida con tapón de madera.....	21
Fig. 11. Muestra preparada para análisis.....	22
Fig. 12. Fotografía de muestra observada a 10X en la lupa estereoscópica.....	23
Fig. 13. Densidad de C.R. por zonas.....	25
Fig. 14. Densidad de canales resiníferos por orientación de la muestra en el árbol.....	26
Fig. 15. Espectrofotómetro FTIR tensor 27 Bruker utilizado.....	32
Fig.16. Obtención de virutas con navaja para microtomo.....	33
Fig.17. Tamizado con malla No.40.....	33
Fig.18 Conservación de la muestra en tubo Eppendorf de 2 ml.....	33
Fig. 19. Comparación de Espectros de las muestras seleccionadas.....	35
Fig. 20. Espectro ampliado en el rango de la señal para el ácido abiético.....	36

## Índice de Tablas

Tabla	Página
Tabla 1. Resultados de la cuantificación de C.R.....	24
Tabla 2. Muestras seleccionadas para espectrofotometría.....	34
Tabla 3. Número de onda registrado por muestra en comparativo con No. De C.R .....	37

## **Resumen.**

Los canales resiníferos presentes en las pináceas, son los elementos conductores que generalmente se asocian en la secreción de resina, son una de las principales características de valor diagnóstico a nivel constitutivo (canales resiníferos constitutivos), además de ser un mecanismo de defensa que se activa ante ataques bióticos y abióticos o ante situaciones de estrés y que dan origen a los canales resiníferos inducidos y sistémicos. De los diferentes estímulos que propician el desarrollo de los canales traumáticos y la síntesis de nueva resina, el efecto de las heridas adquiere especial importancia, por ser este método el usado por la industria resinera para su obtención. En este trabajo se pretende relacionar y comparar la cantidad de canales resiníferos, y la resina contenida en ellos, de 10 árboles hijos producto de un ensayo de progenies establecido en el sitio denominado La Calera en el municipio de Hidalgo en el estado de Michoacán, establecida con fines de conservación para producción de resina.

Palabras Clave: canales traumáticos, factores bióticos, progenies, defensas, estrés.

## **Abstract.**

The resin canals present in the Pinaceae, are the conductive elements that are generally associated in the secretion of resin, are one of the main characteristics of diagnostic value at the constitutive level (constitutive resin canals), besides being a defense mechanism that is activated before biotic and abiotic attacks or in situations of stress and that give rise to induced and systemic resin canals. Of the different stimuli that propitiate the development of the traumatic canals and the synthesis of new resin, the effect of the wounds acquires special importance, because this method is the one used by the resins industry for its obtaining. In this work, we intend to relate and compare the number of resin channels of 10 offspring, product of a trial of progenies established in the site called La Calera in the Municipality of Hidalgo in the state of Michoacán, for preservation purposes for resin production.

Keywords: traumatic canals, biotic attack, progenies, defenses, stress.

## **Introducción general**

A lo largo de la historia el desarrollo del hombre ha estado ligado a la utilización que este ha hecho de los productos que la naturaleza le ha proporcionado a su paso. Las especies forestales le han acompañado y dotado de numerosos beneficios desde la captura de bióxido de carbono, los frutos que le sirven de alimento, la madera para sus construcciones y como combustible; sin olvidar el uso medicinal que les ha dado a numerosos tipos de hojas, cortezas, raíces y exudados o secreciones que se obtienen de ellas. Con el avance tecnológico estos usos se han ido especializando cada vez más y se han desarrollado industrias completas en base a su transformación, tal es el caso de la industria resinera.

En México se tienen registros del aprovechamiento de la resina de pino desde la época prehispánica, la cual era utilizada como adhesivo en objetos ceremoniales y como combustible en antorchas para iluminación. (Arias et al,2006). A finales del siglo XIX, las especies que en particular se empleaban eran *Pinus montezumae* Lamb., *P. teocote* Schiede ex Schltld. et Cham. y *P. pseudotrobus* Lindl. y cuyo objetivo entonces era para el alumbrado público de la Ciudad de México, para impregnar las cuerdas de cáñamo, sellar y recubrir distintos recipientes e igualmente su uso con fines bélicos aprovechando su carácter inflamable, y en usos medicinales para curar diversas enfermedades de personas y animales. No obstante, se fue restando importancia a la pez y al alquitrán - utilizados sobre todo en la industria naval para impermeabilizar las embarcaciones- para otorgársela a otros derivados de la resina que fueron apareciendo gracias al desarrollo de la industria química como el aguarrás y la colofonia; del primero destaca en un primer momento su empleo como disolvente y diluyente para pinturas, barnices y ceras, y posteriormente en el siglo XX, como origen de terpenos monocíclicos (sobre todo del  $\alpha$ -pineno) para la perfumería y la cosmética; del segundo destaca el empleo en su estado natural por la industria jabonera o en la papelera.

Los métodos primitivos para la obtención de resina destinaban al árbol a muerte, posteriormente hubo una transformación tecnológica con la adopción del método patentado por el Francés Pierre Hughes en el año 1848, modificado para las condiciones del país e implementado en 1937 por disposiciones oficiales, pero en Michoacán inició su aplicación hasta 1954 consistente en realizar cortes (caras) en el fuste de 8 a 10 cm, que alcanzan el xilema y con una periodicidad de 10 a 15 días. La apertura de las caras se inicia en el arbolado con 20 años de edad. (Fig.1 )



Fig. 1. Pino resinado con el método Hughes.

Fuente: Blog de la Universidad de Valladolid

La normatividad vigente para la recolección de la resina de pino comprende la Ley General de Desarrollo Forestal Sustentable y su Reglamento, y la Norma Oficial Mexicana NOM-026-SEMARNAT-2005 (Semarnat, 2006). Aunado a esto, actualmente las estrategias gubernamentales como el plan de desarrollo forestal dan especial atención a la conservación de los recursos naturales, la promoción de las plantaciones forestales comerciales y el aprovechamiento sostenible.

En la última década los productos forestales no maderables han sido reconsiderados como elementos relevantes del manejo integral de los ecosistemas forestales, ya que su recolecta contribuye a disminuir la presión sobre las comunidades arbóreas y en consecuencia son factor importante en la conservación de las mismas. En México la Comisión Nacional Forestal, dentro de su Plan Estratégico de Comercialización incluye como PFNM de mayor importancia a los siguientes: resina de pino, palma camedor, candelilla, orégano, lechuguilla, hongos silvestres comestibles, jobjoba, chicle, guayule y palmilla (Conafor, 2006).

Las coníferas son de gran importancia, pues no solo representan un patrimonio natural, sino que son un recurso económico que constituye una fuente de trabajo permanente para el productor, ya que entre los aprovechamientos forestales la extracción de resina es el que mayor mano de obra emplea.

Las especies de pinos de mayor producción de resina son: *Pinus oocarpa*, *P. leiophylla*, *P. lawsoni*, *P. teocote*, *P. herrerae*, *P. tenuifolia*, *P. montezumae*, *P. ponderosa* y *P. pringlei*.

La resina se produce fundamentalmente en la región central del país, en los estados de Michoacán, Jalisco, México y Oaxaca; destaca la producción de Michoacán, que representa poco más de 90% de la producción nacional. En el año 2017 Michoacán ocupó el primer lugar en producción de resina, el tercero en producción maderable y el quinto en biodiversidad.

México cuenta con aproximadamente 64 millones de hectáreas de bosques de clima templado y selvas que abarcan el 32% del territorio nacional. Las coníferas han cubierto grandes extensiones en casi todos los estados del país como resultado directo de la variedad de ambientes y es un centro secundario de diversificación del género *Pinus*, con 49 (40%) de las aproximadamente 120 especies en el mundo. (Fig.1). De las 94 especies de coníferas mexicanas, 43 son endémicas del país, de éstas 18 tienen un rango de distribución limitado a 3 o menos estados.



Fig. 2. Distribución del género Pinus en la República Mexicana.

Fuente: Blog Regiones naturales de México

Las especies de pinos que ocupan mayor área en el estado de Michoacán son: *P. montezumae*, *P. leiophylla*, y *P. oocarpa*; y la especie con menos superficie es *P. pringlei* (Conafor, 2012), (Fig. 3), esto llama la atención puesto que esta especie es una de las más importantes en producción de resina, este resultado sugiere que *P. pringlei* Shaw requiere de condiciones muy particulares en toda la región de producción y que es la especie más vulnerable por su baja distribución, esto puede ser debido a que ocurre mayormente en las formaciones bosque húmedo y bosque seco subtropical, con temperaturas de 16° a 22° centígrados; y fuera de estas condiciones es muy difícil encontrarlo en forma natural.



Fig. 3. Distribución de *P. pringlei* en México

Por esta razón la Unión Nacional de Resineros en colaboración con la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo y la Comisión Nacional Forestal iniciaron un ensayo de progenies en el año 2011, en un esfuerzo por conservar esta especie de importancia por su potencial de resinación principalmente, en un programa de mejoramiento genético orientado a incrementar la producción de resina lo cual permite a la par la oportunidad de analizar las interacciones que se generan entre la especie y los factores bióticos y abióticos que puedan influir en su producción. .

El capítulo 1 del presente trabajo, se ocupa de los canales resiníferos y su cuantificación mientras que el capítulo 2 aborda lo referente a la resina y su presencia en las muestras.

### **Objetivo general**

Evaluar la densidad, caracteres de crecimiento y cantidad de resina contenida en muestras de medios hermanos de *P. pringlei Shaw* entre y dentro de procedencias de un ensayo de progenies.

### Objetivos específicos

- 1.-Cuantificación de los canales resiníferos
- 2.- Detección de presencia de resina contenida en las muestras.

**Hipótesis**

Al evaluar las variables de crecimiento se puede determinar el grado de influencia en la generación o aumento de la cantidad de canales resiníferos.

**Justificación.**

Evaluar la relación que guardan las características morfológicas de las progenies con el sistema de canales resiníferos, contribuye al uso más adecuado de las técnicas de resinación y a una mayor productividad, debido a que se podrían reducir los tiempos de selección de genotipos que se muestren superiores para este fin.

## **Capítulo 1. Cuantificación de los canales resiníferos**

### **1.1 Introducción**

Las pináceas han desarrollado una amplia gama de mecanismos en su sistema de defensa primaria (o constitutiva) y secundaria (o inducida) que se activa ante situaciones de estrés provocadas por lesiones o ataques de carácter biótico o abiótico. (Zangerl, 2003), por lo que su capacidad de respuesta podría determinar que una especie sea exitosa o no evolutivamente hablando. La mejor comprensión de este despliegue de defensas (ya sean constitutivas o inducidas) particularmente de los pinos y sus interacciones con el medio ambiente, es fundamental para poder predecir la dinámica que existe entre el árbol y el proceso de resinación (Moreira et al., 2011).

Existe un tercer tipo de defensa, que se conoce como adquirida o sistémica, y puede ser considerada una variedad de la inducida con la característica de que ésta se desarrolla a cierta distancia de la zona dañada, en un momento retardado respecto al momento de la alteración, pero con la particularidad de que sus propiedades se mantienen a largo plazo con el fin de proteger a la planta de futuros ataques. (Franceschi & Krekling, 2005, Moreira et al 2013).

La formación de estos tejidos secretores secundarios tiene origen en la diferenciación de células parenquimáticas por la zona meristemática, en las que las células iniciales sufren distintas divisiones (esquizo) en varias direcciones desarrolladas durante y/o después de la formación de la cavidad central, que da origen a los canales resiníferos como estructuras multicelulares rodeadas por capas de células epiteliales (Lewinsohn et al., 1991). (Fig.4)

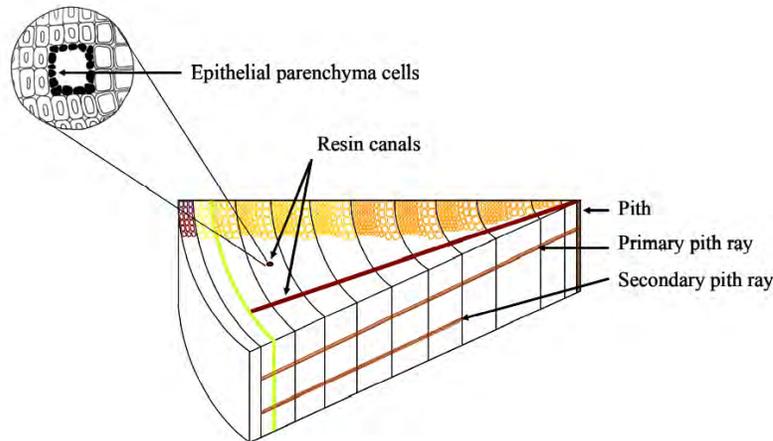


Fig. 4. Canal Resinífero rodeado de células epiteliales

Fuente: Linda Nisula

Fisiológicamente, las células epiteliales son células excretoras, parenquimatosas, de membranas delgadas no lignificadas (Fahn, 1974) que secretan resina que permanece sometida a altas presiones y se moviliza hasta los sitios de herida o de infección para actuar como una barrera mecánica (Pearce, 1996). (Boucher y Lavallée, 2001), de este modo la resina fluye del tronco a través de los canales resiníferos (Fahn, 1974).

De esta misma manera actúa la resina constitutiva, pues es la primera línea de contingencia a un ataque inicial; más si esta respuesta defensiva no tiene el efecto esperado, las defensas secundarias se activan e inician la formación de los canales inducidos o traumáticos produciendo la resina traumática que actúa como una barrera química, pues se ha encontrado hasta más de 100 veces la concentración de terpenos en el floema después de un ataque de insectos, lo que la hace ser más tóxica que la resina constitutiva (Nagy et al., 2000).

Estos canales relativamente poco estudiados parecen verse afectados tanto por la edad como por la tasa de crecimiento de la planta (Krokene y Nagy, 2012).

Dentro de los diferentes estímulos que propician el desarrollo de los canales traumáticos y la síntesis de nueva resina, el efecto de las heridas adquiere especial importancia, por ser este método el usado por la industria resinera para su obtención; y la frecuencia, profundidad y tamaño de la misma determina la respuesta de los tejidos que la rodean.

Las condiciones climáticas tienen fuerte influencia en la resinación. Tanto en el saber popular como en numerosa bibliografía, se sabe que la temperatura influye en la densidad de la resina y por

lo tanto se ve incrementado también su flujo. Así mismo, condiciones de alta temperatura, aridez o heladas se han encontrado con mayores frecuencias y/o tamaños de los canales resiníferos. (Rigling et al, 2003).

Algunas características anatómicas, como los canales radiales y el volumen de canales por anillo de crecimiento, presentan valores más altos en pies con mayores producciones, como se ha encontrado también en otras coníferas (Shopmeyer et al, 1954; Baier et al., 2002). Es muy posible que el aporte a la producción total que supone el sistema inducido de defensa (canales traumáticos y resina de nueva síntesis) y la influencia del clima justifiquen en gran medida estas bajas correlaciones. Cabe destacar que esta relación (frecuencia y superficie de canales resiníferos con la producción) se hace más patente en el caso de la localización más restrictiva para el crecimiento y menos productiva (ej. Melque, peor suelo y mayor densidad de árboles). En Melque los grandes productores presentan mayores frecuencias y superficie de canales axiales y radiales, comportamiento no observable de manera clara en Armuña. La teoría de balance defensa-crecimiento (Herms & Mattson, 1992) explica parte de este resultado exponiendo que en situaciones de estrés la planta invertirá prioritariamente en desarrollar su sistema defensivo frente al incremento en biomasa.

El profundizar en el estudio y conocimiento de las interacciones entre el clima, las características anatómicas y la producción de resina pueden proveer de herramientas para la mejora de la práctica resinera.

## 1.2. Antecedentes

Estudios previos que han intentado relacionar el flujo de resina con los canales resiníferos en distintas especies de pinos han obtenido resultados dispares, desde la ausencia total de relación (Hodges et al, 1981) hasta fuertes correlaciones positivas (Blanche et al., 1992)

La superficie, área y densidad de canales axiales y radiales se correlacionan positivamente con parámetros climáticos relacionados con temperaturas mínimas (días de helada segura, temperatura mínima absoluta) y de estrés hídrico (precipitaciones mínimas de primavera y verano). La formación de canales se vincula con hormonas de crecimiento (Zamski & Fahn, 1972) y con estrés ambiental (Wimmer & Grabner, 1997; Rigling et al., 2003).

Moreira 2008, midió la densidad y área de los canales resiníferos en *P.pinaster* ante tratamientos de fertilización, concluyendo en que aunque la fertilización no parece afectar las dimensiones y densidad de los canales resiníferos del xilema, ésta sí disminuye en el floema, afectando negativamente la capacidad defensiva de la planta.

Krokene et al, 2008 propone que al activar el sistema de defensa inducido, se pone en marcha la formación de canales resiníferos en la zona próxima a la herida, pero también en las zonas más alejadas, dotando al árbol de una mejor defensa frente a futuros ataques debido a que esta formación puede darse desde los primeros 15 días tras la herida y extenderse hasta un año después de haberla realizado. (Eyles et al, 2010).

Ananías et al 2010, evalúan la variabilidad de los canales resiníferos a tres diferentes alturas del árbol en Pino radiata, los resultados muestran que la variación radial y apical del tamaño y la frecuencia de canales resiníferos aparece débilmente correlacionada con el nivel de intensidad de resinación observada en árboles en pie.

Rodríguez-García, Aida. (2017). Menciona que la cantidad de resina está ligada al volumen y frecuencia de canales axiales y radiales existentes en el árbol antes de efectuar ninguna herida;

y una vez realizada la herida de resinación el tamaño del anillo disminuye al igual que el diámetro medio de los canales axiales pero la frecuencia y área por  $\text{mm}^2$  incrementa. Y que los árboles grandes productores de resina mostraron una red de canales más densa que aquellos con producciones medias.

### 1.3. Materiales y métodos

El ensayo objeto del presente estudio fue establecido en el año 2011 por la Unión Nacional de Resineros, A.C., en colaboración con la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo y la Comisión Forestal del Estado de Michoacán. La localización del sitio es en la comunidad de La Calera, municipio de Hidalgo (a una elevación de 2479 msnm). Sus coordenadas son latitud  $19^{\circ}38'53.43''$  N, longitud  $-100^{\circ}47'58.50''$  O. (figs. 5 y 6)



Fig. 5. Mapa satelital de la ubicación del ensayo.



Fig. 6. Fotografía en campo del ensayo.

La selección de individuos se determinó con una visita al sitio, mediante recorrido para reconocimiento del área y selección de los individuos con mayores tallas de diámetro, altura y buen vigor de manera apreciativa marcándolos con pintura en aerosol.

Al inicio de este proyecto se contempló tomar muestras de 20 individuos distribuidos aleatoriamente de los ya previamente localizados, pero distribuidos en lugares que

representaran toda la plantación; sin embargo, en el transcurso de este estudio y ya con 10 muestras tomadas se optó por tomar las muestras ahora de la cara sur de los mismos individuos para contrastar la información. Las primeras 10 muestras fueron recolectadas el 24 de junio (cara norte), y las últimas 10 el 8 de julio (cara sur).

### **1.3.1. Recolección de las muestras.**

1. Se identificaron los árboles seleccionados de acuerdo a las características previamente mencionadas, y se marcaron con una cinta de color en la que se colocó la clave del individuo. (Fig.7).

2.- Con un altímetro marca Haglof EC II, se midió la altura y con una cinta métrica el diámetro del árbol.

3.- Se localizó la cara norte del árbol (por ser ésta la que se usa principalmente para resinación), y la cara sur (por ser la contraparte de la cara norte para fines comparativos). Para ello se utilizó un localizador satelital (GPS) marca Garmin (Fig. 8).

3.- Se limpió el área para muestreo a 10 cm de la base del árbol, se midió la corteza con un vernier digital marca Insize, para posteriormente retirar una parte de ella con un formón y facilitar la extracción de la muestra.

4.- Se utilizó un taladro inalámbrico marca DeWalt de 24 V, equipado con una broca sacabocados de sierra de 1½” de diámetro para sacar la muestra, procurando que la broca penetrara al menos 1 cm para garantizar una superficie factible de medir. (Fig. 9)

5.- Con ayuda de un formón se despegó por las orillas procurando en todo momento que la muestra se desprendiera completa.

6.- Se marcó la parte externa, interna, superior e inferior, además de su orientación en el árbol para su posterior análisis anatómico.

7.- Se guardó en un recipiente plástico etiquetado con el código de identificación del individuo, para su traslado al laboratorio

8.- Se colocó un tapón en el lugar donde se extrajo la muestra para evitar el ataque de insectos y propiciar su cicatrización. (Fig.10).



Fig. 7. Marcado y etiquetado del individuo



Fig. 8. Localización de la orientación norte y sur con GPS para muestreo



Fig.9. Extracción de la muestra



Fig. 10. Sellado de la herida con tapón de madera

### **1.3.2. Preparación de las muestras**

- 1.- Una vez en el laboratorio las muestras se pesaron para obtener su peso húmedo
- 2.- Se pusieron a secar al aire libre y se pesaron diariamente hasta peso constante.
- 3.- Se preparó la superficie a medir - que en este caso fue la parte superior e inferior de la muestra  
  
-haciendo un corte limpio con una navaja nueva para micrómetro, de manera que se pudieran apreciar los canales resiníferos.
- 4.- Con el corte limpio, se dividió el área visible en cuadrantes para facilitar el conteo de los canales resiníferos, numerando cada uno para su posterior análisis. (Fig.11)



Fig. 11. Muestra preparada para análisis

### 1.3.3. Análisis de las muestras.

1.- Para contar los canales resiníferos se utilizó una lupa estereoscópica marca Leitz con un objetivo de 10x. (Fig. 8)

2.- Las variables a evaluar fueron número de canales resiníferos por cuadrante, número de canales resiníferos por lado de cada muestra, número de canales resiníferos total y canales resiníferos por  $\text{cm}^2$  (densidad), con 3 repeticiones por cada cuadrante para obtener un promedio de cada muestra.

3.- A los datos obtenidos se les aplicó estadística descriptiva con el programa Excel, análisis de tukey con el programa estadística y jmp.

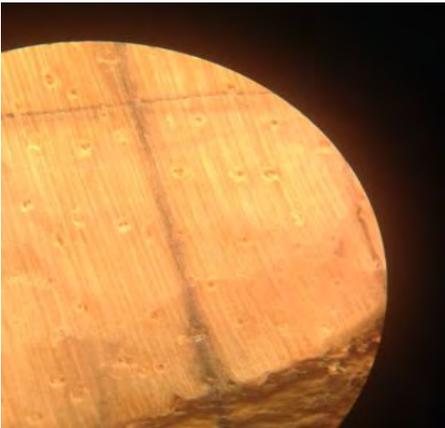


Fig. 12. Fotografía de muestra observada a 10X en la lupa estereoscópica.

#### 1.4. Resultados.

Los resultados del análisis de las muestras se presentan en la tabla 1.

Tabla 1. Resultados de la cuantificación de C.R.

No. Muestra	Clave	Zona superior		Zona Inferior		Promedio total c.r. x Orientación	Promedio total x árbol	densidad Promedio x árbol
		promedio lado superior	densidad c.r x cm <sup>2</sup>	promedio lado inferior	densidad c.r x cm <sup>2</sup>			
8 Norte	P25-1-67	46.33	15.44	47.17	23.58	46.75	<b>**50.92</b>	28.11
8 Sur	P25-1-67	55.00	45.83	55.17	27.58	55.08		
3 Norte	P131-41	<b>*9.00</b>	7.50	<b>*11.33</b>	11.33	<b>*10.17</b>		
3 sur	P131-41	44.92	14.97	39.67	13.22	42.29	<b>*26.23</b>	11.76
9 Norte	P19-2-49	29.33	14.67	34.83	17.42	32.08		
9 sur	P16-1-68	38.17	30.53	42.33	<b>**42.33</b>	40.25	36.17	26.24
5 Norte	P32-12-118	28.17	28.17	30.17	30.17	29.17		
5 sur	P32-12-118	39.50	10.53	25.67	8.56	32.58	30.88	19.36
4 Norte	P5-2-66	31.00	10.33	39.83	13.28	35.42		
4 sur	P5-2-66	22.08	7.36	38.25	19.13	30.17	32.79	12.52
12 Norte	P23-2-58	14.83	<b>*4.94</b>	15.58	<b>*5.57</b>	15.21		
12 sur	P23-2-58	37.50	10.00	41.75	11.13	39.63	27.42	<b>*7.91</b>
11 Norte	P13-1-58	52.83	17.61	<b>**59.67</b>	19.89	<b>**56.25</b>		
11 sur	P13-1-58	40.11	20.06	41.22	20.61	40.67	48.46	19.54
13 Norte	P2-2-108	33.50	23.93	47.00	33.57	40.25		
13 sur	P2-2-108	<b>**57.83</b>	28.92	53.33	26.67	55.58	47.92	28.27
14 Norte	P30-1-71	24.33	10.14	28.50	11.88	26.42		
14 sur	P30-1-71	35.50	17.75	25.58	18.27	30.54	28.48	14.51
15 Norte	P32-2-55	41.22	20.61	40.42	26.94	40.82		
15 sur	P32-2-55	54.17	<b>**38.69</b>	58.50	29.25	56.33	48.58	<b>**28.87</b>

\*Valores mínimos      \*\* Valores máximos

En la tabla anterior, se puede observar que los valores de la parte superior de las muestras, en promedio son más bajos que en la parte inferior. El valor mínimo para la parte superior es 9 C.R. y en la parte inferior es de 11.33. Respecto a la densidad, la parte superior también mostró valores más bajos: el mínimo en la parte superior es de 4.94 C.R., mientras que en la parte inferior es 5.57.

En la gráfica de la fig. 13, se hacen visibles estas diferencias, de las 20 muestras solo 4, presentan mayor cantidad de C.R. en la parte superior, estas son las correspondientes a la muestra P32-2-55 Sur, P2-2-108sur (), P13-1-58norte, P32-12-118sur, P131-41sur, y P25-1-67sur

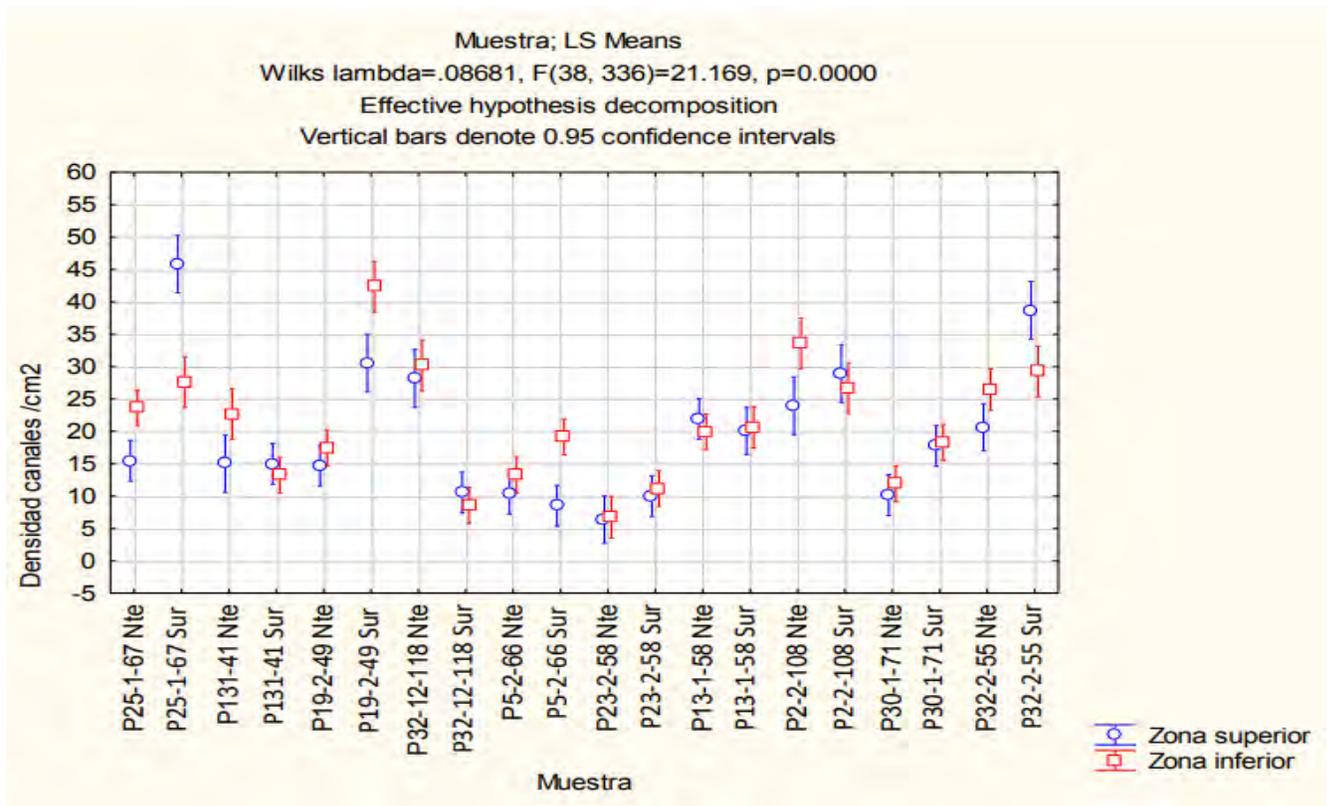
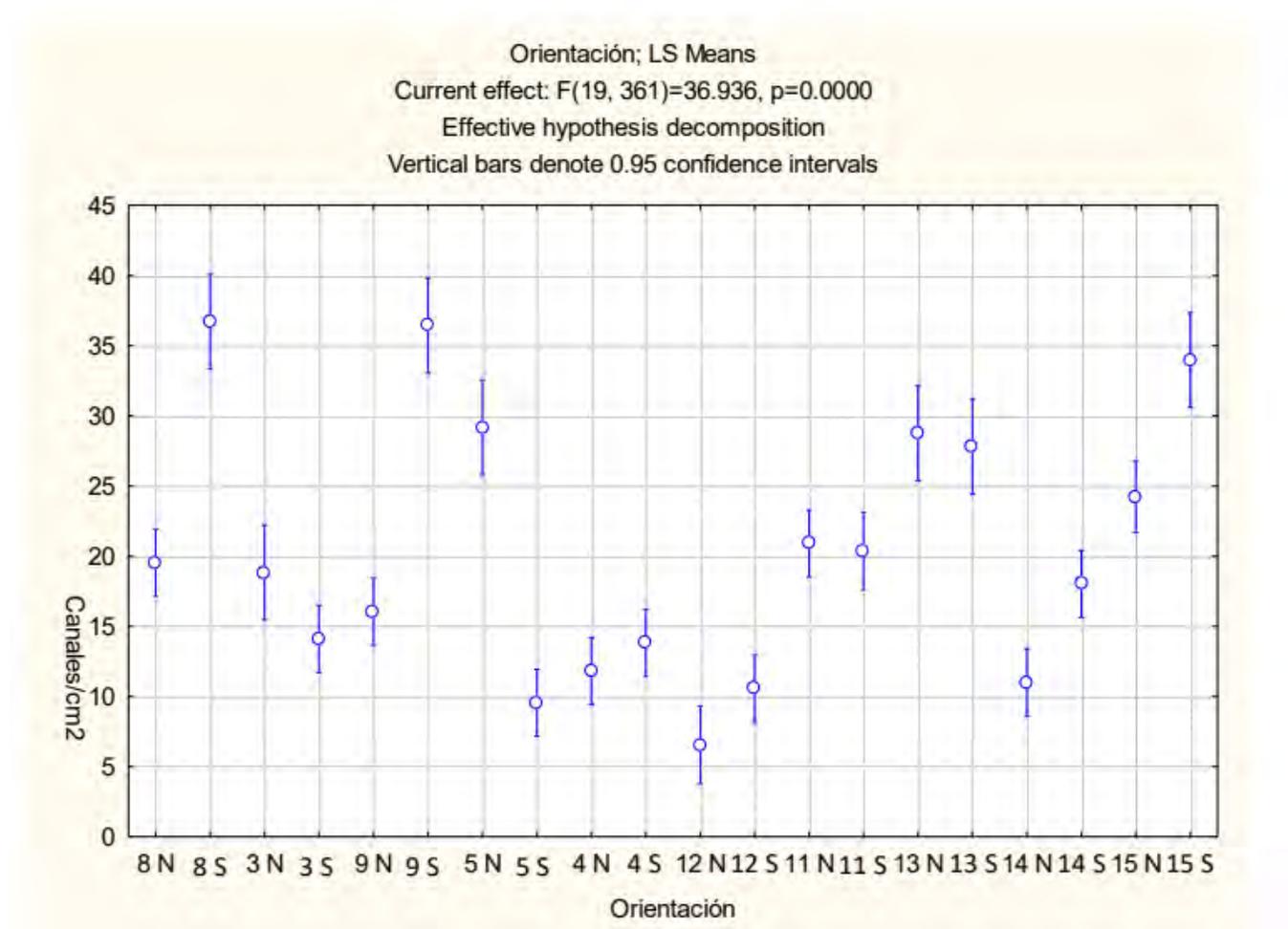


Fig. 13. Gráfica densidad de C.R. por zonas.

Por orientación de la muestra en el árbol, la orientación norte tiene ambos extremos, el valor más bajo (10.17 C.R.) y el valor más alto (56.25 C.R.). En la figura 14, se observa que solo en cuatro individuos la orientación norte mostró mayor cantidad de C.R, estos fueron los árboles 3, 5, 11 y 13, siendo más notoria la diferencia en el árbol 3 (norte 10.17 C.R. y sur 42.29 C.R.) y una diferencia menos marcada los árboles 11 (56.25 C.R. y 40.67 C.R.) y 13 (40.25 C.R. y 55.58 C.R.)



Gráfica 14. Densidad de canales resiníferos por orientación de la muestra en el árbol

En cuanto al promedio por árbol, el árbol 12 tiene el promedio más bajo con 7.91 C.R., y el árbol 15 tiene el promedio mayor con 28.87 C.R.

## **Capítulo 2. Determinación de la presencia de resina contenida en las muestras.**

### 2.1. Introducción

Para defenderse del daño ocasionado por la herida y el ataque por insectos o microorganismos patógenos, las plantas sintetizan enzimas que degradan la pared celular de microorganismos o que tienen la capacidad de inactivar tóxicos de origen microbiano, cambian la composición y la estructura de la pared celular vegetal, formando una barrera más rígida y menos digerible para insectos y se combinan con el desarrollo de estructuras contra sus depredadores, tales como las espinas, las espigas, los tricomas y los pelos glandulares. Como parte de la protección química, otra estrategia utilizada por las plantas es la producción de metabolitos secundarios (MS) con actividad antimicrobiana, en contra de herbívoros, o con actividad antioxidante (Croteau et al., 2000).

Los MS son compuestos de bajo peso molecular que no solamente tienen una gran importancia ecológica porque participan en los procesos de adaptación de las plantas a su ambiente, como es el establecimiento de la simbiosis con otros organismos y en la atracción de insectos polinizadores y dispersores de las semillas y frutos, sino que también, una síntesis activa de MS se induce cuando las plantas son expuestas a condiciones adversas tales como: el consumo por herbívoros, el ataque por microorganismos: virus, bacterias y hongos, la competencia por el espacio de suelo, la luz y los nutrientes entre las diferentes especies de plantas y la exposición a la luz solar u otros tipos de estrés abiótico.

Los precursores de la biosíntesis de MS se derivan de rutas del metabolismo primario, tales como la glucólisis, el ciclo de Krebs o la vía del shikimato. Una síntesis constitutiva y específica de MS puede existir para cada tipo de órgano, tejido o tipo celular. La síntesis de MS depende de la etapa de desarrollo de la planta y sus niveles constitutivos sólo se incrementan como parte de la respuesta al estrés abiótico o biótico.

Existen también MS que se sintetizan en todos los órganos y tejidos de la planta, pero que se almacenan en órganos o tejidos diferentes a los de su síntesis, a través de su redistribución por el xilema y/o el floema, o por el espacio apoplástico (Edwards y Gatehouse, 1999).

En este sentido, también es relevante hacer notar que la biosíntesis y el almacenamiento de MS o de sus precursores, ocurren en diferentes lugares de la célula vegetal. Aunque la lista de MS puede ser muy amplia, los tres grupos de MS más extensamente estudiados son los terpenoides, los alcaloides y los fenilpropanoides. Las coníferas sintetizan una mezcla compleja de terpenoides llamadas oleoresinas que se secretan y movilizan hasta los sitios de herida o de infección; están formadas por la turpentina y la resina; mientras que la turpentina está compuesta de monoterpenos y sesquiterpenos, la resina está constituida por diterpenos. Además de su efecto tóxico contra insectos y microorganismos, la turpentina funciona como solvente para transportar a la resina al sitio del daño. Cuando los terpenoides volátiles de la turpentina se exponen al aire, se evaporan y forman una masa semicristalina que polimeriza por oxidación para dar lugar a una barrera dura que sella la herida y con frecuencia atrapa insectos y microorganismo patógenos invasores (Phillips y Croteau, 1999). Por otra parte, por su capacidad antioxidante, los terpenoides son de vital importancia para las plantas (Grassman *et al.*, 2002).

La resina está formada principalmente por ácidos resínicos, los cuales son ácidos monocarboxílicos hidrofenantrénicos. Hay dos tipos de ácidos resínicos: el tipo constituido por el ácido abiético (con presencia de grupo isopropilo en posición 7) y el correspondiente al pimárico (con grupos vinilo y metilo en posición 7). (Hernández et al, 2001)

## 2.2. Antecedentes.

Según Francheschi y col. (2005) y Moreira (2010), los sistemas de defensas inducidas en los pinos, incluyen cambios cuantitativos y cualitativos en la química defensiva (terpenos y fenoles), así como cambios estructurales como la diferenciación de canales resiníferos traumáticos, proliferación de células polifenólicas parenquimáticas, o la generación de respuestas hipersensitivas.

En los últimos años se ha avanzado en el conocimiento de las rutas metabólicas implicadas en la expresión de defensas inducidas, en las que diversas fitohormonas juegan un papel esencial; se ha observado que la aplicación exógena de ciertas sustancias involucradas en estas rutas estimula la producción de defensas inducidas en las plantas de una manera semejante a la provocada por insectos descortezadores (Zulak y Bohlmann, 2010).

Por otra parte, la evaluación de la producción de resina a edades tempranas, a través del método de miniresinación, y su comparación con la producción de resina de los árboles-madre podría permitir la selección de genotipos superiores (Kraus, 1965). Kraus, correlacionó la producción de resina obtenida por la técnica de microresinación en 75 árboles de *Pinus elliottii* y obtuvo un coeficiente de correlación de  $r=0.75$ .

En un estudio reciente en *Pinus elliottii*, los resultados obtenidos demuestran que es posible cuantificar la producción de resina en plantas de un año de edad (Ferreira et al., 2011). En *Pinus elliottii* en Brasil estimaron una correlación para la producción de resina entre diferentes edades alta y significativa ( $r > 0,77$ ) (Romanelli et. al, 2004), lo que sugiere que existe la posibilidad de éxito de la selección temprana (Gurgel et al., 1994).

Squillace y Gansel (1968) utilizaron la técnica de miniresinación en pruebas de progenie de *Pinus elliottii*, a los tres años de edad y recomendaron su uso para la selección de genotipos

superiores. Schopmeyer y col. (1954) relacionan las características de la resina como viscosidad, y el número y tamaño de los canales resiníferos, con el flujo de la resina durante las primeras 24 horas después de la incisión, pero recomienda que para poder encontrar un índice para el volumen de producción de resina, este flujo se debe correlacionar con la producción anual de la resina.

La composición de la oleoresina de distintos tipos de pinos también ha sido estudiada por diversos autores (Squillace y Fisher 1966; Gansel y Squillace, 1976; Pastor-Bustamante, 2001), quienes señalan que caracteres como la composición de los principales componentes químicos de la resina, son heredables.

Karanikas y col. (2010) encontraron en muestras de resina de un grupo de árboles identificados como grandes productores de resina de *Pinus halapensis* y uno de árboles control, cuarenta monoterpenos, sesquiterpenos y diterpenos que fueron identificados como componentes principales representando 97.40%. En el estudio lograron una eficiente diferenciación entre poblaciones y entre grupos de árboles (grandes productores y menores) con base en la variabilidad cuantitativa de ciertos componentes de la resina (Karanikas et al., 2010).

### 2.3. Materiales y métodos

Para esta parte del proyecto, se hizo una caracterización por espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), para lo que se hará uso del espectrofotómetro FTIR tensor 27 Bruker, (Fig.15) perteneciente al laboratorio de posgrado del Instituto de ciencias químico biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo y se utilizaron las muestras previamente colectadas y analizadas provenientes del ensayo de progenies.



Fig. 15. Espectrofotómetro FTIR tensor 27 Bruker utilizado.

Se utilizaron 5 muestras en total, la muestra que presentó el valor máximo o la máxima cantidad de canales resiníferos, otra del mínimo, otra tercera del valor central de todas las muestras, otra muestra del valor central al valor mínimo y por último del valor central al valor máximo.

Estas muestras se redujeron a aserrín, para lo cual, y debido al tamaño de muestra tan pequeño, primero se obtuvieron virutas con una navaja (Fig. 16), y posteriormente para alcanzar el tamaño de partícula requerido para el uso del espectrofotómetro se pasaron por un tamiz del No.40, (Fig. 17). Una vez obtenido el aserrín se guardó y etiquetó cada muestra en un tubo Eppendorf de 2 ml, para su conservación (Fig. 18).



Fig.16. Obtención de virutas con navaja para microtomo



Fig.17. Tamizado con malla No.40



Fig.18 Conservación de la muestra en tubo Eppendorf de 2 ml.

Se utilizó el programa OMNIC para visualizar las gráficas de los espectros generados por el espectrofotómetro. La señal que se buscó fué la correspondiente al ácido abiético que típicamente es el que se asocia a la presencia de resina, y se encuentra en un rango de 2900 a 3000.

## 2.4. Resultados

En la siguiente tabla se observan las 20 muestras analizadas con sus correspondientes valores de C.R. promedio obtenidos en el análisis, y las seleccionadas para ser analizadas en el espectrofotómetro.

El valor máximo lo obtuvo la muestra 9Sur con 42.33 C.R. promedio, el valor correspondiente a la mediana entre el valor central y el valor máximo fué de 26.94 C.R. promedio y corresponde a la muestra 15Norte, el valor central (mediana) de todas las muestras pertenece a la muestra 4Sur con 19.13 C.R. promedio, la mediana del valor central al valor mínimo es la muestra 14Norte con un promedio de 11.88 C.R., y por último el valor mínimo en promedio de C.R. lo presentó la muestra 12Norte.

Tabla 2. Muestras seleccionadas para espectrofotometría.

No. muestras	Muestra	No. C.R. Prom	
1	12 Norte	5.57	→ Valor mínimo
2	5 Sur	8.56	
3	12 Sur	11.13	
4	3 Norte	11.33	
5	14 Norte	11.88	→ valor mediana-mínimo
6	3 Sur	13.22	
7	4 Norte	13.28	
8	9 Norte	17.42	
9	14 Sur	18.27	
10	4 Sur	19.13	→ Mediana
11	11 Norte	19.89	
12	11 Sur	20.61	
13	8 Norte	23.58	
14	13 sur	26.67	
15	15 Norte	26.94	→ valor mediana-máximo
16	8 Sur	27.58	
17	15 Sur	29.25	
18	5 Norte	30.17	
19	13 Norte	33.57	
20	9 Sur	42.33	→ Valor máximo

Respecto a los resultados obtenidos de la espectroscopía, en todas las muestras se observaron picos ubicados en los intervalos de  $2900\text{ cm}^{-1}$  a  $3000\text{ cm}^{-1}$ , que son característicos de la brea y corresponden a la vibración de tensión C - H (Torres,2015). (Figs. )

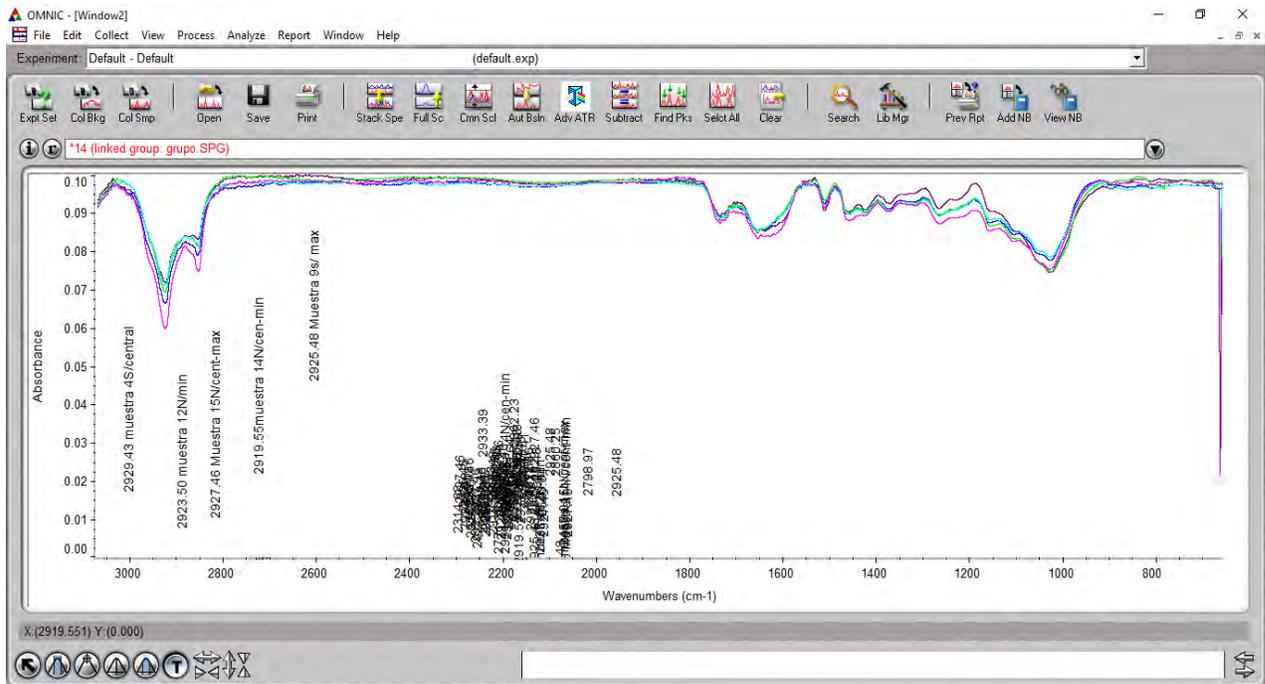


Fig. 19. Comparación de Espectros de las muestras seleccionadas.

(Espectro completo de la comparación de las espectroscopías infrarrojas obtenidas de las muestras seleccionadas.)

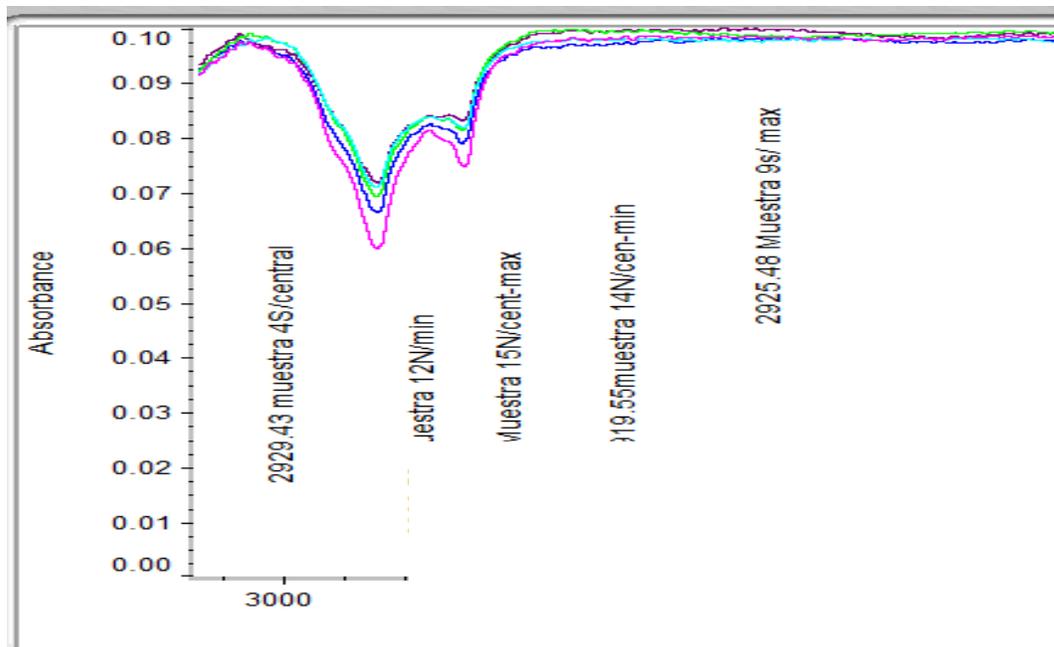


Fig. 20 Comparación de las espectroscopías infrarrojas obtenidas de las muestras seleccionadas.

(Espectro ampliado en el rango de la señal para el ácido abiético.)

Los resultados de la espectroscopía son los siguientes: la muestra 14N mostró una señal más débil en relación a las demás con  $2919.55 \text{ cm}^{-1}$ , seguido de la muestra 12N con  $2923.55 \text{ cm}^{-1}$ , la muestra 9Sur con  $2925.48 \text{ cm}^{-1}$ , la muestra 1N con  $2927.46 \text{ cm}^{-1}$ , y por último la que mostró una señal más fuerte en relación a las anteriores fue la muestra 4Sur con  $2929.43 \text{ cm}^{-1}$ .

En la tabla , se muestran los números de onda registrados y los promedios de C.R. de cada muestra analizada con espectroscopía, los valores de C.R. no se corresponden con el número de onda.

Tabla 3. Número de onda registrado por muestra en comparativo con No. De C.R.

Muestra	Numero de onda	No. C.R. Prom	valor (C.R.)
14 Norte	2919.55	11.88	valor central-mínimo
12 Norte	2923.5	5.57	Valor mínimo
9 Sur	2925.48	42.33	Valor máximo
15 Norte	2927.46	26.94	valor central-máximo
4 Sur	2929.43	19.13	Valor central

## Discusión

La producción de resina y la formación de estructuras secretoras son algunas de las estrategias características del sistema de defensa de las coníferas para hacer frente a distintas perturbaciones bióticas y abióticas, que integran una respuesta compleja de defensa a corto y largo plazo (Lewinsohn et al., 1991; Moreira, 2010). En concreto, *Pinus pringlei* ha desarrollado un sistema que combina unas estructuras y mecanismos constitutivos y otros inducidos que se relacionan entre sí para conseguir una defensa óptima en el espacio y el tiempo (Franceschi & Krekling, 2005; Mumm & Hilker, 2006; Moreira et al., 2008; Sampredo, 2014). En el capítulo de introducción señalamos como las relaciones entre el flujo de resina y los canales resiníferos, tanto a nivel constitutivo como inducido, no están del todo establecidas para el género *Pinus* y cómo el aprovechamiento resinero ha explotado las propiedades del sistema de defensa del pino desde hace décadas, obteniendo esta materia prima mediante la realización sistemática de heridas, con unas dimensiones, unos tiempos y en unas fechas determinadas. Nuestros resultados aportan nueva información respecto a los cambios anatómicos tras la herida y los efectos del clima, el suelo, los métodos de resinación o la densidad de la masa sobre la citada anatomía y la producción, con objeto de conseguir una mejor comprensión de los procesos y el desarrollo de mejoras aplicables a este aprovechamiento.

La producción de resina está ligada al volumen de canales (axiales y radiales) y a la frecuencia de canales radiales existentes en el árbol antes de efectuar ninguna herida (sistema constitutivo). De esta manera los árboles grandes productores de resina mostraron una red de canales más densa que aquellos con producciones medias. Una vez infligida la herida de resinación se observó la disminución del ancho del anillo de crecimiento y del tamaño medio de los canales axiales a la vez que se incrementaba la frecuencia y área ocupada por los mismos por mm<sup>2</sup> de sección transversal. Estos cambios perduraron en el árbol durante al menos 3 años y fueron distintos dependiendo de la localización en el entorno de la herida y

del método de resinación que se utilizara. Las respuestas más intensas a la herida se observaron el año después de la realización de la misma, en dirección axial, para las distancias más próximas al límite de la herida y para los métodos de resinación en sentido ascendente. Además, se pudo observar que, como consecuencia de las heridas de resinación, se produjeron cambios en la anatomía del xilema en zonas alejadas de la herida tanto en el año en la que se resinó como en años posteriores, es decir se observó una respuesta sistémica del árbol.

Respecto al papel del clima como regulador de la respuesta del árbol, se ha evidenciado que la temperatura, la radiación y la ETP influyen en la producción de resina no solo durante la campaña de resinación sino también durante los meses previos. El déficit hídrico del suelo favoreció la producción y la formación de canales axiales pero, a partir de un determinado umbral, esa correlación se invirtió y las lluvias estivales incrementaron la producción. Algunas de estas variables climáticas se asocian a cambios en el tamaño y frecuencia de las estructuras secretoras, las cuales posiblemente modulan la respuesta defensiva de la planta (Franceschi & Krekling, 2005; Krokene & Nagy, 2012).

Por último, la dendrometría (evaluada a través del diámetro a la altura del pecho, altura y porcentaje de copa viva), la densidad de la masa y el tipo de suelo influyeron en la producción de resina de *P. pinaster*. Los árboles más vigorosos, parcelas con menores densidades y suelos con más capacidad para la retención de agua y nutrientes presentaron producciones mayores.

## Conclusiones.

La práctica de la resinación ha sido una actividad de gran importancia en el medio rural desde hace siglos que ha permitido el desarrollo de las comunidades implicadas, generando un producto natural y renovable y una cultura singular.

Los cambios en la esfera política y socioeconómica de las últimas décadas han supuesto el decrecimiento de esta actividad hasta su casi desaparición. Sin embargo, con el establecimiento de plantaciones forestales de especies con vocación resinera y la selección de ejemplares que hayan sido genéticamente mejorados procedentes de ensayos de progenies, podría ser la herramienta con la que la producción de resina se podría optimizar y permitiría justificar la influencia de esta práctica, tanto en la conservación del medio natural, como en el desarrollo económico y social de las zonas afectadas.

Se han identificado los distintos servicios eco sistémicos asociados a este socio ecosistema.

La consecuencia esperada de estos resultados sería el reconocimiento de estos beneficios por parte de los organismos gestores en sus planes de actuación y el consiguiente apoyo de las entidades encargadas de todo este sistema de producción el, facilitando de tal forma su reactivación y conservación como aprovechamiento rentable.

## Recomendaciones.

Se recomienda realizar análisis complementarios de suelo para evaluar los componentes minerales y su proporción, ya que el déficit o aumento de algunos de ellos como el nitrógeno que es indispensable para que la ruta metabólica del shikimato se realice y con ello la correcta producción de fenilalanina y fenilpropanoides que a su vez influyen en la cantidad de terpenos que componen la parte volátil de la resina, la cuál es la parte

## **Bibliografía.**

Alba, L.J. 1996. Mejoramiento Genético Forestal en el Estado de Veracruz. Tesis de Maestría en Ecología Forestal. Centro de Genética Forestal, U.V. Jalapa, Ver. Mex. 30 p.

Alia, Ricardo, Auñón, Francisco & Chambel, María. (2013). Evaluación de grandes productores de resina y aplicación a programas de mejora genética en *Pinus pinaster* Aiton en España.

Arias, T. A.A., Chávez L.A. 2006. Resina: entre la madera y el desarrollo comunitario integral. CONABIO. Biodiversitas 65: Pp 1-7.

Auñón, F. J., Tadesse, W., Pardo, J. A., Sánchez, L. G., & Miranda, R. A. (2001). Evaluación precoz de la producción de miera en *Pinus pinaster* Ait. Investigación agraria. Sistemas y recursos forestales, 10(1), 141-150.

Eyles, A., Bonillo, P., Ganley, R., Mohammed, C., 2010. Induced resistance to pests and pathogens in trees. *New Phytol* 185(4):893-908.doi:10.000/j1469-8137.2009.03127.x

Franceschi, V., R., Krokene, P., Christiansen, E., & Krekling, T. (2005). Anatomical and chemical defenses of conifer bark against bark beetles and other pests. *New Phytologist*, 167(2), 353–376.

Herms, D.A. and Mattson, W.J. (1992) The dilemma of plants: To grow or defend. *Quarterly Review of Biology*, 67, 283-335. doi: 10.1086/417659

J.J. Coppen y G.A. Hone. 1995. Gum naval stores: Turpentine and rosin from pine resin. En: *Non-Wood Forests Products 2*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma.

Krokene, P., Nagy, N. E., & Krekling, T. (2008). Traumatic resin ducts and polyphenolic parenchyma cells in conifers. In *Induced plant resistance to herbivory*. Springer Netherlands. pp. 147-169.

Lieutier F., Day KR, Battwasti A, Gregoire JC, et al. (2004). *Bark and wood boring insects in living trees in Europe*. 1st edition. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.

Martinez, M. 1948. *Los Pinos de México*. 2 Edición. Botas. México. 361 p.

Perry, J.T. 1991. *The pines of Mexico and Central America*. Timber Press. Portland, Oregon. 231 p.

Rigling A, Bruhlhart H, Braker OU, Forster T, Schweingruber FH(2003) Effect of irrigation on

diameter growth and vertical resin duct production in *Pinus sylvestris* L. on dry sites in the central

Alps, Switzerland. *For Ecological Manage* 175:285–296

Rivera Hernández, J., & González García, J., & Mora Silva, M., & Silva Arce, J. (2003). *Extracción de Resinas de Virutas de Madera de Pino*. *Conciencia Tecnológica*, (21), 48-50

Rodríguez-García, A., Martín, J., López, R., Mutke, S., Pinillos, F., & Gil, I. (2015). Influence of climate variables on resin yield and secretory structures in tapped *Pinus pinaster* Ait. in central Spain. *AgrForest Meteorol*, 202, 83-93

Zobel, B. y Talbert, J. 1988. *Técnicas de Mejoramiento Genético de árboles forestales*. Trad. Guzmán, Editorial Limusa, S.A. México. 545 p.

Romahn de la Vega Carlos F., Zamudio Sánchez Francisco J. 1988. *Respuesta del Pinus pringlei* Shaw a dos métodos de resinación

Sánchez González, A. 2008. Una visión actual de la diversidad y distribución de los pinos de México. *Madera y Bosques* 14(1):107-120.

Eguiluz-Piedra, T. 1985. Origen y evolución del género *Pinus* (con referencia especial a los pinos mexicanos). *Dasonomía Mexicana* 6: 531.

Martínez, M. 1948. Los pinos mexicanos. Ediciones Botas, México. 366 p.

Styles, T. B. 1998. El género *Pinus*: su panorama en México. In: T. P. Ramamorthy, R. Bye, A. Lot y J. Fa (eds). *La diversidad biológica de México, orígenes y distribución*. Instituto de Biología, UNAM, México. pp. 385-408.

Sepúlveda Jiménez, G., & Porta Ducoing, H., & Rocha Sosa, M. (2003). La Participación de los Metabolitos Secundarios en la Defensa de las Plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 21 (3), 355-363.

Zamora-Martínez, M. C., E. Velasco B., H. J. Muñoz F. y M. E. Romero S. 2013 Modelos Predictivos para la Producción de Productos Forestales No Maderables: Resina de Pino. Manual Técnico Núm. 9 CENID-COMEF, INIFAP. México, D.F. México. 44 p.

E. Werker, A. Fahn; Resin ducts of *Pinus halepensis* Mill.—Their structure, development and pattern of arrangement, *Botanical Journal of the Linnean Society*, Volume 62, Issue 4, 1 October 1969, Pages 379–411, <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1969.tb01974.x>

John D. Hodges, William W. Elam, William F. Watson. Physical properties of the oleoresin system of the four major southern pines *Canadian Journal of Forest Research*, 1977, 7:520-525, <https://doi.org/10.1139/x77-067>