

COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO
POSTGRADO EN BOTÁNICA

Caracterización fitoquímica de la resina de *Liquidambar styraciflua* L.

FÁTIMA AZUCENA RASGADO BONILLA

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MEXICO

2014

La presente tesis titulada: “**CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA DE LA RESINA DE *Liquidambar styraciflua* L.**”. Elaborada por la alumna **FÁTIMA AZUCENA RASGADO BONILLA**, bajo la dirección del consejo particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para la obtención del grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS
BOTÁNICA

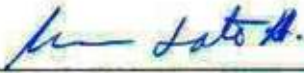
CONSEJO PARTICULAR

Consejero: _____



Dr. F. Victor Conde Martínez

Asesor: _____



Dr. R. Marcos Soto Hernández

Asesor: _____



Dra. Heike Vibrans Lindemann

Asesor: _____



Dr. David Cibrián Tovar

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Noviembre de 2014.

CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA DE LA RESINA DE *Liquidambar styraciflua* L.

Fátima Azucena Rasgado Bonilla, M. C.

Colegio de Postgraduados, 2014.

RESUMEN

Liquidambar styraciflua L. es una especie forestal perteneciente a la familia Hamamelidaceae, característica del bosque templado húmedo. Es una angiosperma que produce una resina con alto valor comercial en las industrias perfumera y farmacéutica. A nivel mundial se comercializan las resinas y aceites esenciales extraídos de las resinas de *L. styraciflua* L. y *Liquidambar orientalis* Mill., la primera con mayor producción a nivel mundial en Honduras y la segunda en Turquía. En México a pesar de tener rodales importantes de *Liquidambar*, no se ha comercializado la resina de esta especie, y tampoco se tiene información de los compuestos químicos que la constituyen, y si tienen potencial comercial o no. En el presente trabajo se identifican los metabolitos de esta resina y del aceite esencial extraído de ella. Se hicieron dos colectas de resina durante el 2013, en la época de sequía y lluvia (enero y junio, respectivamente). Se muestrearon un total de 21 árboles en cuatro comunidades; Santa Lucía, Tianguistengo, Xochimilco y Xalapa, ubicados a diferentes altitudes en el estado de Hidalgo. En el análisis de las resinas se determinó la concentración de compuestos fenólicos totales, taninos condensados, ácidos libres y la presencia de ácidos, ésteres y terpenoides, mediante las técnicas de Folin-Ciocalteu, butanol-ácido clorhídrico, titulación con fenolftaleína y Cromatografía en Capa Fina (CCF), respectivamente. Los aceites esenciales extraídos de las resinas, se analizaron por Cromatografía de Gases acoplada a Espectrofotometría de Masas (CG-EM). El análisis estadístico se realizó utilizando el método MIXED del programa estadístico SAS versión 9.0, ajustando las medias a una prueba de Tukey-Kramer. Se observó mayor concentración de fenoles totales en las resinas colectadas en época de sequía. No se encontraron diferencias

significativas en la concentración de éstos metabolitos en las resinas de las diferentes comunidades. La concentración de taninos condensados en las resinas, no mostraron diferencias en la época de colecta y tampoco entre las comunidades. La época de sequía presentó menor cantidad de ácidos libres, y no se encontraron diferencias significativas en la concentración por efecto de la localización. Los resultados indican que la época de sequía es la mejor para la colecta de resinas, con mayor acumulación de fenoles totales y para obtener resinas de alta calidad por la menor concentración de ácidos libres. Los taninos condensados pueden encontrarse en cualquier época del año, sin aparente variación en la concentración. El análisis por CCF reveló mayor número de compuestos en época de sequía. Se calcularon los Rf para ambas temporadas, algunos coincidieron con valores reportados para los ácidos cinámico y benzoico, así como del cinamato de cinamilo. El aceite esencial de la resina se obtuvo por hidrodestilación. La mayor producción de aceite esencial la obtuvo Xalapa con 9.3%, en época de sequía. Se identificaron 52 compuestos, los cuales variaron en cada temporada. Los compuestos mayoritarios corresponden al alcohol dihidro cinámico, estireno, cardeno, alcohol de cinamilo y alfa-pineno. Tres compuestos de los identificados sólo han sido reportados en aceite esencial de hojas y tallos de *L. styraciflua*, estos son el beta-mirceno, allo-aromadendreno y gama-cadineno. Se reporta por primera vez la presencia de una cumarina (himecromona) y una imida (alfa-metil-alfa-fenilsuccinimida) en el aceite esencial de *L. styraciflua*. Las evidencias obtenidas en este estudio exhiben la influencia importante de las condiciones ambientales en cada época de colecta, sobre la variación química y abundancia de los metabolitos.

PHYTOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF RESIN OF *Liquidambar styraciflua* L.

Fátima Azucena Rasgado Bonilla, M. C.

Colegio de Postgraduados, 2014.

ABSTRACT

Liquidambar styraciflua L. is a forest species that belongs to the Hamamelidaceae family, commonly found in the tropical cloud forests. It is an angiosperm that produces a resin of high value in the perfume and pharmaceutical industries. The resin and essential oils of *L. styraciflua* L. and *Liquidambar orientalis* Mills., are commercialized world-wide, with the largest producer for the first species being Honduras and for the second species Turkey. Although Mexico has important stands of *Liquidambar*, its resin is not currently traded, and there is no information available on its chemical composition, and whether it has economical potential or not. This study identifies the metabolites of the resin and essential oil. Resin was collected twice during 2013, once during the dry season and once during the rainy season (January and July, respectively). The sample consisted of 21 trees distributed among four communities at different altitudes (Santa Lucia, Tianguistengo, Xochimilco and Xalapa). The resins were analyzed to determine the concentration of total phenolic compounds, condensed tannins, the presence of acids, esters and terpenoids through the techniques of Folin-Ciocalteu, butanol-hydrochloric acid, titration with phenolphthalein and thin layer chromatography, respectively. Essential oils extracted from resins were analyzed by gas chromatography coupled to mass spectrophotometry (GC-MS). Data was analyzed using the MIXED procedure of SAS 9.0 statistical software and differences between means were detected using a Tukey-Kramer test. Results show increased concentrations of total phenols in resins collected during the dry season. No differences were found in the concentration

of these metabolites between communities. Condensed tannin concentration remained unchanged regardless of the season or community where the resin was collected. During the dry season, less free acids were found in the resins, but no effect of the collection site was detected. Results suggest that resin collection during the dry season results in resin of higher quality due to an increased accumulation of total phenols and less free acids. Condensed tannins may be found throughout the whole year without variations in their concentration. Thin layer chromatography showed the presence of more compounds during the dry season. Rf were calculated for both seasons and some of the values were similar to those reported for cinnamic and benzoic acid, also for cinnamyl cinnamate. Essential oils were obtained from the resin by hydrodistillation and the highest yield (9.3%) was obtained with samples from the community of Xalapa during the dry season. We identified 52 compounds, which varied by season. The major compounds are dihydro cinnamic alcohol, styrene, cardene, cinnamyl alcohol and alpha-pinene. Three of the compounds found had only been reported in essential oil from leaves and stem of *L. styraciflua*. These compounds are beta-myrcene, allo-aromadendrene and gamma-cadinene. This is the first report of azulene, phthalic acid, adipic acid, hymecromone (cumarin) and alpha-methyl-alpha-phenylsuccinimide (imide) in the essential oil of *L. styraciflua*. Evidence provided in this study underscores the effect that the environment has on the yield and type of metabolites found in the resin of *L. styraciflua*.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca otorgada para llevar a cabo mis estudios de Maestría.

Al Colegio de Postgraduados y al posgrado en Botánica, por haberme dado la oportunidad de haber realizado mis estudios de Maestría en esta importante institución académica.

A mi consejero el Dr. Víctor Conde Martínez, por su apoyo incondicional y consejos durante la realización de este trabajo.

A mis asesores el Dr. Marcos Soto Hernández por sugerirme atinadamente el tema de investigación, por su paciencia, tiempo, consejos, apoyo y correcciones para la conclusión de este trabajo. Al Dr. David Cibrián Tovar y la Dra. Heike Vibrans Lindemann por su apoyo constante en la fase de campo de mi investigación, consejos y correcciones de este proyecto.

Al M. en C. Gabriel Arriola Pizano y la Biol. María del Carmen Sánchez Carreón, por el tiempo dedicación, compañía y trabajo durante las colectas de campo en Hidalgo.

A los señores Marcelino Castellano Jiménez, Eleuterio Melo Díaz, Marco Aurelio Camacho Martínez, Diego Albertin Arteaga Bautista, Valentín Hernández Ortega, por su amabilidad, hospitalidad y cortesía al permitirme acceder a sus predios a coleccionar el material vegetal, motivo de esta tesis. Y al departamento de Ecología del municipio de Calnali, Hidalgo, por su apoyo económico cuando fue requerido.

DEDICATORIAS

Al Universo y a Dios por nunca dejarme de sorprender y colmarme de dichas, bendiciones y satisfacciones.

A mis padres, hermanos por su amor incondicional, paciencia y apoyo durante estos casi tres años de aprendizaje.

A Irma Moreno, Fabiola Bonilla, Carmen Laparra, Berenice Moreno, Ernesto Zarco y Arturo Preciado, por estar al principio y al final de esta historia siempre apoyándome.

A Pablo Domínguez Martínez, por estar en los momentos más difíciles, por su amor y apoyo incondicional.

A la familia que elegí durante el transcurso de este camino, Regina, Juan, Luis, Manuel, Ricardo, Cecilia, Lázaro, Salvador y Paul, incansables gracias por su patrocinio, apoyo, paciencia y amor.

A Christopher Salgado Vargas, porque te la debía pollo.

A todas mis amigas, amigos y amistades que conocí en la Maestría.

A todos aquellos que de alguna manera contribuyeron en este sueño y que por mi mala memoria pueda omitir.

CONTENIDO

1	INTRODUCCIÓN	1
2	REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1	Descripción taxonómica <i>Liquidambar styraciflua</i> L.	3
2.1.1	Sinonimia	3
2.1.2	Nombres comunes	4
2.2	Descripción morfológica de <i>Liquidambar styraciflua</i> L.	4
2.2.1	Raíces	6
2.2.2	Hojas	6
2.2.3	Flores	6
2.2.4	Frutos	7
2.3	Hábitat, ecología y distribución del <i>Liquidambar</i>	7
2.4	El bosque mesófilo de montaña	8
2.5	El género <i>Phoradendron</i>	11
2.5.1	Descripción morfológica del género <i>Phoradendron</i>	11
2.5.2	Sistema endofítico	12
2.5.3	Medio de dispersión de los muérdagos	13
2.5.4	<i>Phoradendron falcifer</i> Kuijt.	13
2.5.5	Sinonimia	14
2.5.6	La resina de <i>Liquidambar styraciflua</i> y <i>Phoradendron falcifer</i>	14
2.6	Usos históricos del liquidámbar en México	15
2.7	Usos en la actualidad de la resina de <i>Liquidambar styraciflua</i>	16
2.8	Usos medicinales del género <i>Liquidambar</i>	16
2.9	Resinas	19
2.10	Estructuras secretoras de resinas	20
2.11	Compuestos químicos que forman a las resinas	21
2.11.1	Aceites esenciales	23
2.11.2	Características organolépticas y valor ácido en los aceites esenciales	23
2.11.3	Terpenoides	24
2.11.4	Compuestos fenólicos	25
2.11.5	Taninos	25

2.12	Composición química de la resina de <i>Liquidambar styraciflua</i>	27
2.13	Extracción de las resinas	27
2.14	Mercado de resinas en México y el mundo	28
2.15	Gestión sustentable de productos no maderables	29
3	OBJETIVO GENERAL	31
3.1	Objetivos particulares	31
4	HIPÓTESIS	31
5	MATERIALES Y MÉTODOS	32
5.1	Área de estudio	32
5.1.1	Municipio de Calnali	33
5.1.2	Municipio de Tianguistengo	35
5.1.3	Municipio de Zacualtipán	37
5.2	Desarrollo del proyecto de investigación	40
5.2.1	Fase de campo	40
5.3	Análisis fitoquímico de la resina de <i>Liquidambar styraciflua</i>	45
5.3.1	Material vegetal	45
5.3.2	Preparación de los extractos	45
5.4	Descripción de las características organolépticas de resinas de <i>Liquidambar styraciflua</i>	46
5.5	Cromatografía en capa fina	46
5.6	Valor ácido	47
5.7	Fenoles totales	48
5.8	Taninos condensados	48
5.9	Extracción de aceites esenciales de resinas de <i>Liquidambar styraciflua</i>	49
5.10	Análisis de aceites esenciales por cromatografía de gases acoplada a espectrofotometría de masas (CG-EM)	51
5.11	Análisis estadístico	52
6	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	53
6.1	Parasitosis en árboles de <i>Liquidambar styraciflua</i>	53
6.2	Rendimiento de resinas	54
6.3	Características organolépticas de las resinas de <i>Liquidambar styraciflua</i>	57
6.4	Cromatografía en capa fina	60
6.5	Valor ácido	67

6.6	Fenoles totales	70
6.7	Taninos condensados	75
6.8	Efecto de <i>Phoradendron falcifer</i> en la concentración de ácidos libres, fenoles totales y taninos condensados en resinas de <i>Liquidambar styraciflua</i> .	77
6.8.1	Valor ácido	77
6.8.2	Fenoles totales	78
6.8.3	Taninos condensados	80
6.9	Aceites esenciales extraídos de resinas de <i>Liquidambar styraciflua</i>	82
6.10	Análisis por GC-MS de aceites esenciales de <i>Liquidambar styraciflua</i>	85
7	CONCLUSIONES	92
8	PERSPECTIVAS	93
9	LITERATURA CITADA	94
10	ANEXOS	101
10.1	Anexo 1. Resinas de <i>Liquidambar styraciflua</i> colectadas en época de lluvia en la comunidad de Tianguistengo, en el municipio de Tianguistengo, Hidalgo.	101
10.2	Anexo 1. Continuación. Resinas de <i>Liquidambar styraciflua</i> colectadas en época de lluvia en comunidades del estado de Hidalgo.	102
10.3	Anexo 2. Características organolépticas de las resinas de <i>Liquidambar styraciflua</i> antes del proceso de extracción. Colectadas en época de sequía, en la comunidad de Tianguistengo, Hidalgo.	103
10.4	Anexo 2. Continuación. Características organolépticas de las resinas de <i>Liquidambar styraciflua</i> antes del proceso de extracción. Colectadas en época de sequía, en las comunidades de Santa Lucía, Xochimilco y Xalapa, en Hidalgo.	104
10.5	Anexo 3. Características organolépticas de resinas de <i>Liquidambar styraciflua</i> antes del proceso de extracción. Colectadas en época de lluvia en la comunidad de Tianguistengo, en Hidalgo.	105
10.6	Anexo 3. Continuación. Características organolépticas de resinas de <i>Liquidambar styraciflua</i> antes del proceso de extracción. Colectadas en época de lluvia en las comunidades de Santa Lucía, Xochimilco y Xalapa, en Hidalgo.	106
10.7	Anexo 4. Características organolépticas de resinas de <i>Liquidambar styraciflua</i> después del proceso de extracción con solvente, muestras recolectadas en época de sequía.	107
10.8	Anexo 4. Continuación. Características organolépticas de resinas de <i>Liquidambar styraciflua</i> después del proceso de extracción con solvente, muestras recolectadas en época de lluvia.	108

LISTA DE SIGLAS Y ABREVIATURAS

APP	Proteína precursora del péptido beta-amiloide
BMM	Bosque Mesófilo de Montaña
CONABIO	Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad
DAP	Diámetro a la Altura de Pecho
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura)
GC-MS	Gas Chromatography-Mass Spectrometry
INEGI	Instituto Nacional de Estadística y Geografía
KOH	Hidróxido de Potasio
PS1	Presinilina/Presenilinas
SCCP	Scientific Committee on Consumer Products (Comité científico de productos al consumidor)
VAS	Vainillina-ácido sulfúrico

LISTA DE UNIDADES

cm	Centímetros
C₈-C₄₀	Alcanos con cadena de 8-40 átomos de carbono
eV	Electronvoltios
g	Gramos
h	Horas
L mol⁻¹ cm⁻¹	Litros por mol por centímetro
M	Molaridad (número de moles por cada litro de solución)

$\mu\text{g mL}^{-1}$	Micro gramos por mili litro
min	Minutos
μL	Microlitros
mL	Mililitros
mm	Milímetros
nm	Nanómetros
psi	Pounds-force per square inch (libra-fuerza por pulgada cuadrada, unidad de presión)
Rf	Relación de frente/factor de retención
UV	Luz ultravioleta
v/v	Volumen en volumen

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Clasificación taxonómica de <i>Liquidambar styraciflua</i> L.	3
2	Características de resinas, gomas, mucilagos, aceites, ceras y látex	20
3	Datos sobre algunas actividades primarias de Calnali	34
4	Cifras sobre la superficie de bosque y algunas actividades forestales en Calnali	34
5	Datos sobre algunas actividades primarias de Tianguistengo	36
6	Cifras sobre la superficie de bosque y algunas actividades forestales en Tianguistengo	36
7	Datos sobre algunas actividades primarias de Zacualtipán	39
8	Cifras sobre la superficie de bosque y algunas actividades forestales en Zacualtipán	39
9	Relación de árboles muestreados por comunidad en Hidalgo	41
10	Nombres asignados a las muestras de resina para el análisis en laboratorio	44
11	Cantidad de resina utilizada en la extracción de aceites esenciales, por cada comunidad en cada época de colecta	51
12	Evaluación de la infección de <i>Phoradendron falcifer</i> en árboles de <i>Liquidambar styraciflua</i>	55
13	Rendimiento de resinas de <i>Liquidambar styraciflua</i> colectadas en época de sequía y lluvia	57
14	Características organolépticas de resinas de <i>L. styraciflua</i> , que se comercializan por en diversos sitios en internet	61
15	Número de bandas encontradas en los cromatogramas por CCF de resinas de <i>Liquidambar styraciflua</i> .	64
16	Esquema de las bandas más representativas con su respectivo valor de Rf, encontradas en los cromatogramas por CCF de las muestras de resina de <i>Liquidambar styraciflua</i> , colectadas en época de sequía y lluvia.	66
17	Compuestos de referencia utilizados en CCF por Wagner & Bladt (2001), comparados con las bandas y Rf de resinas de <i>Liquidambar styraciflua</i> de Hidalgo	68
18	Rendimiento de aceites esenciales obtenidos de resinas de <i>Liquidambar styraciflua</i> en cada comunidad y época de colecta	84
19	Rendimiento de aceites esenciales obtenidos de resinas de <i>L. styraciflua</i> por comunidad, ubicadas de acuerdo a su altitud en orden ascendente de arriba hacia abajo	85
20	Composición química de aceites esenciales extraídos de resinas de <i>Liquidambar styraciflua</i> , en dos épocas de colecta, provenientes de cuatro comunidades de Hidalgo	88
20	Continuación	89
21	Compuestos identificados en aceites esenciales extraídos de resina, hoja y tallo de <i>Liquidambar styraciflua</i> y <i>Liquidambar orientalis</i> , provenientes de varios países	92

INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Parte aérea de <i>Liquidambar styraciflua</i> en un Bosque Mesófilo de Montaña	5
2	Corteza interna de un árbol de liquidámbar	5
3	Distribución del Bosque Mesófilo de montaña en la república mexicana	10
4	Anatomía de <i>Phoradendron falcifer</i> y parasitosis de <i>Phoradendron falcifer</i> sobre <i>Liquidambar styraciflua</i>	14
5	Biosíntesis de metabolitos secundarios que forman a las resinas	22
6	Mapa de usos de suelo del municipio de Calnali en el estado de Hidalgo	34
7	Mapa de uso de suelo del municipio de Tianguistengo en el estado de Hidalgo	36
8	Mapa de uso de suelo del municipio de Zacualtipán en el estado de Hidalgo	39
9	Árbol de <i>Liquidambar styraciflua</i> perforado y tratado con inyecciones de Etefón	41
10	Árboles de <i>Liquidambar styraciflua</i> con canoa de resinación	41
11	Pasos en la recolección de resina en árboles perforados de <i>Liquidambar styraciflua</i>	42
12	Recolección de resina de <i>Liquidambar styraciflua</i> , con jeringa acoplada a una aguja hipodérmica para ganado bovino	43
13	Determinación en campo del grado de parasitosis de <i>Phoradendron falcifer</i> sobre árboles de <i>Liquidambar styraciflua</i> , según la escala de Hawskworth	44
14	Rendimiento de resinas de <i>Liquidambar styraciflua</i> , colectadas en dos temporadas, sequía y lluvia, provenientes de diferentes comunidades del estado de Hidalgo	55
15	Resinas de <i>Liquidambar styraciflua</i> sin procesar, colectadas en época de sequía	58
16	Resinas procesadas de <i>Liquidambar styraciflua</i> , colectadas en época de sequía	58
17	Cromatograma de resinas de <i>Liquidambar styraciflua</i> , colectadas en época de sequía	61
18	Cromatograma de resinas de <i>Liquidambar styraciflua</i> , colectadas en época de lluvia	62
19	Valor ácido de resinas de <i>Liquidambar styraciflua</i> evaluadas en dos temporadas de colecta, sequía y lluvia	68
20	Valor ácido de resinas de <i>Liquidambar styraciflua</i> , evaluación entre comunidades y épocas de colecta	69
21	Concentración de fenoles totales en resinas de <i>Liquidambar styraciflua</i> de comunidades del estado de Hidalgo, en dos temporadas de colecta, sequía y lluvia	72
22	Concentración de fenoles totales en resinas de <i>Liquidambar styraciflua</i> , evaluación entre comunidades y épocas de colecta	72
23	Concentración de taninos condensados en resinas de <i>Liquidambar styraciflua</i> de comunidades del estado de Hidalgo, evaluados en dos épocas de colecta, sequía y lluvia	75
24	Concentración de fenoles totales en resinas de <i>Liquidambar styraciflua</i> , entre comunidades y épocas de colecta	76

INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
25	Efecto de la parasitosis por <i>Phoradendron falcifer</i> y de la temporada de colecta (sequía y lluvia) en el valor ácido de resinas de árboles de <i>Liquidambar styraciflua</i> provenientes de Tianguistengo, Hidalgo.	78
26	Efecto de la parasitosis por <i>Phoradendron falcifer</i> y de la temporada de colecta (sequía y lluvia) en la concentración de fenoles totales de resinas de árboles de <i>Liquidambar styraciflua</i> provenientes de Tianguistengo, Hidalgo	79
27	Efecto de la parasitosis por <i>Phoradendron falcifer</i> y de la temporada de colecta (sequía y lluvia) en la concentración de taninos condensados de resinas de árboles de <i>Liquidambar styraciflua</i> provenientes de Tianguistengo, Hidalgo	81

1 INTRODUCCIÓN

El uso de resinas en México data de tiempos prehispánicos (Purata, 2008), desde los primeros pobladores mesoamericanos, particularmente del pueblo azteca, que utilizaba diferentes resinas extraídas de pinos, las cuales servían como ofrenda a sus dioses o eran utilizadas medicinalmente para tratar enfermedades respiratorias. Este conocimiento quedó plasmado en varios de los códices mexicanos (códice Mendoza y códice de la Cruz-Badiano entre otros), donde se relata el uso de este exudado vegetal.

En nuestro país los principales géneros de especies productoras de resina son el género *Pinus* y el género *Bursera* (Linares & Bye, 2008; Purata, 2008; Arias-Toledo *et al.*, 2006). Sin embargo, hay otro género con potencial para ser utilizado con estos fines, el liquidámbar (Reitzenstein, 2007), concretamente la especie *Liquidambar styraciflua* L.

Styrax, storax o estoraque como se le conoce en el mundo comercial a la resina de liquidámbar (SCCP, 2005), es un producto obtenido a partir de la oleorresina del mismo, que proviene tanto de la especie *Liquidambar orientalis* Mill., conocida comercialmente como styrax asiático, así como de *L. styraciflua* conocida como styrax americano (SCCP, 2005; FAO, 2012). El alto valor que tienen las resinas de estas especies arbóreas, se debe al uso que le dan algunas industrias que obtienen grandes dividendos anualmente, como la industria farmacéutica, la industria cosmética y la industria perfumera y de esencias aromáticas.

Debido a que la resina de *L. styraciflua* tiene un elevado valor comercial en el mercado internacional (Reitzenstein, 2007; Gutiérrez, 2011), se perfila como una opción de producto forestal no maderable, para los pueblos en los que esta especie se encuentra de forma nativa. La explotación sustentable de los recursos forestales no maderables, es una alternativa económica

para las comunidades humanas que habitan los bosques, además de una opción saludable de preservar la biodiversidad (FAO, 2010).

Actualmente la extracción de la resina de liquidámbar en México es escasa, así mismo, no existe un análisis químico de este recurso forestal para nuestro país. La información existente describe los compuestos químicos de esta especie para Honduras (Fernandez *et al.*, 2005), así como de *L. orientalis* para Turquía (Chalchat *et al.*, 1994; Fernández *et al.*, 2005; Gurbuz *et al.*, 2013). Así mismo, los análisis químicos de resina de *L. styraciflua* reportados hasta ahora, no toman en cuenta la época de colecta como un factor que pueda tener efecto en la composición química de las resinas.

En este trabajo se llevó a cabo la caracterización fitoquímica de la resina de *L. styraciflua* para México, de muestras colectadas durante el 2013, en las temporadas de sequía (enero) y de lluvia (julio), en cuatro comunidades situadas a diferentes altitudes, dentro del estado de Hidalgo y ubicadas en una zona de bosque mesófilo de montaña, ecosistema característico de liquidámbar. Nuestra hipótesis tomó en cuenta la localización y la época de colecta, como factores que podrían influir en la concentración de los metabolitos encontrados y en la calidad de la resina. Dentro de nuestros objetivos estuvo el determinar, si la parasitosis de algunos árboles por el muérdago *Phoradendron falcifer* Kuijt. podría afectar la concentración de los compuestos analizados en las resinas.

Los resultados de nuestro trabajo representan un acercamiento al conocimiento de los compuestos químicos que pueden encontrarse en la resina de liquidámbar de México, los cuales podrían utilizarse a futuro, en diversos estudios farmacológicos. Así mismo, la comercialización de la resina de esta especie forestal, podría ser una actividad económica redituable y sustentable para diversas comunidades en varias regiones de nuestro país.

2 REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Descripción taxonómica *Liquidambar styraciflua* L.

Liquidambar styraciflua L. es una especie ubicada en el Orden Hamamelidales y en la familia Hamamelidaceae. Dicha familia cuenta con 12 géneros que son, *Distyliopsis*, *Disanthus*, *Distylium*, *Corylopsis*, *Exbucklandia*, *Altingia*, *Fothergilla*, *Hamamelis*, *Matudaea*, *Parrotiopsis*, *Liquidambar* y *Rhodoleia*. Las familias emparentadas con la familia Hamamelidaceae son: Cercidiphyllaceae, Eupterliaceae, Platanaceae, Altingiaceae y Myrothamnaceae (tomado y modificado de Cronquist, 1981).

2.1.1 Sinonimia

Los sinónimos de *Liquidambar styraciflua* L. basados en “The Plant List” (<http://www.theplantlist.org/tpl/record/kew-2348877>) son: *Liquidambar barbata* Stokes, *L. gummifera* Salisb., *L. macrophylla* Oerst. y *L. styraciflua* var. *mexicana* Oerst.

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de *Liquidambar styraciflua* L.

Clasificación taxonómica	
Clase	Equisetopsida C. Agardh
Subclase	Magnoliidae Novák ex Takht.
Super orden	Myrothamnanae Takht.
Orden	Saxifragales Bercht. & J. Presl
Familia	Hamamelidaceae
Genero	<i>Liquidambar</i> L.
Especie	<i>Liquidambar styraciflua</i> L.

Nota: La clasificación taxonómica de *L. styraciflua* fue tomada de la página de Tropicos® (2014) publicado en <http://www.tropicos.org> (accedido en Febrero 2014), a excepción del nombre de la familia, la cual se verifico en la base de datos de The International Plant Names Index (2014) publicado en internet <http://www.ipni.org> (accedido en Febrero 2014).

2.1.2 Nombres comunes

En la literatura se enumeran los siguientes nombres comunes para la especie estudiada: ocozote (del náhuatl cozotl, xochicotzocuáhuatl, norte de Puebla y Veracruz, norte de Oaxaca), liquidámbar (en varias partes del norte de la vertiente del Golfo), bálsamo (Sierra Madre del Sur, Oaxaca), yagabizugui (zapoteco, Oaxaca), molá (chinanteco, Oaxaca), ícob (huasteco, San Luis Potosí), copalillo, quirámbaro, somerio (San Luis Potosí e Hidalgo), copalme (Veracruz), estoraque (Oaxaca y Chiapas), ien-gau-o, ingamo (cuicateco, Oaxaca), nijté-pijo, nite-biito, yagahuille (zapoteco, Oaxaca), xochicatscuáhuatl (Veracruz), suchiate (Hidalgo), toshcui (zoque, Chiapas), ko'ma (totonaco, Puebla) y so te (tzeltal, Chiapas) (Pennington & Sarukhán, 2005).

2.2 Descripción morfológica de *Liquidambar styraciflua* L.

Liquidambar es un árbol que llega a medir hasta 60 m de alto y puede alcanzar un diámetro a la altura de pecho de hasta 1.5 m, el tronco es recto, con ramas ascendentes, delgadas y copa alargada o piramidal (Figura 1A). Presenta una corteza externa angostamente fisurada, suberificada de color café-grisácea (Figura 1B). La corteza interna presenta un color crema amarillento que cambia a pardo, ligeramente amarga y fibrosa (Figura 2). El grosor total de la corteza es de 5 a 10 mm. La madera presenta la albura de color crema amarillenta muy claro, con abundantes rayos muy finos.

Las ramas jóvenes poseen cicatrices de hojas caídas, moreno rojizas a pardo grisáceas, glabras, en ocasiones con lenticelas grandes y protuberantes (Pennington & Sarukhán, 2005).



Figura 1. Parte aérea de *L. styraciflua* en un Bosque Mesófilo de Montaña. A) Copa del árbol vista desde abajo. B) Fuste del árbol. Fotografía Fátima Rasgado.



Figura 2. Corteza interna de un árbol de liquidámbar. Fotografía Fátima Rasgado.

2.2.1 Raíces

Los árboles de liquidámbar poseen una raíz pivotante, con numerosas raíces secundarias. Sin embargo, el desarrollo de las raíces depende mucho del lugar donde se desarrollen las plantas. En algunos casos, la raíz pivotante no está presente o es muy pequeña. Tal es el caso, de aquellos árboles que llegan a crecer en zonas con abundante humedad, en las cuales el sistema radical es superficial, con raíces extendidas lateralmente (Loewe, 1992).

2.2.2 Hojas

La disposición de las hojas es en espiral y son simples; las láminas son más anchas que largas, de 4 x 5 a 11 x 15 cm, 3-5-lobadas, los lóbulos triangulares, con el margen aserrado, ápice a veces largamente acuminado, base de la hoja truncada o ligeramente cordada, el color es verde oscuro, opaco en la haz y verde pálido en el envés, la coloración de estas cambia a rojizas y cafés cuando están muy viejas, son glabras; presentan nervaduras palmeadas y prominentes en el envés, con un conjunto de pelos en el punto de su inicio en la base; las hojas tienen un agradable olor a trementina cuando se estrujan; cuentan con pecíolos de 1.5 a 9 cm de largo, pardos y glabros; las hojas tiernas son verde brillante y muy suaves (Pennington y Sarukhán, 2005).

Los árboles de esta especie cambian todo el follaje entre noviembre y febrero, tiempo en el que adquieren tonalidades muy características que van de amarillo, ocre y rojo (Pennington & Sarukhán, 2005).

2.2.3 Flores

L. styraciflua es una especie monoica; las flores están dispuestas en panículas terminales o axilares sobre ramas cortas laterales, de 5 a 10 cm de largo. Las flores masculinas están dispuestas en la parte superior de la panícula, cada fascículo de flores se encuentra en una ramita de 2 a 20 mm de largo, sostenida por una o varias brácteas ovadas, papiráceas, con el margen ciliado,

caedizas; el es perianto ausente; los estambres son numerosos, libres, con las anteras oblongas y glabras, dispuestos sobre un raquis corto y grueso de 5 a 10 mm de largo; el ovario es ausente. Las flores femeninas están dispuestas en cabezuelas de 6 a 8 mm de diámetro, sobre una ramita de 1 cm de largo; son flores actinomorfas, sostenidas por brácteas similares a las de las flores masculinas; el perianto es muy pequeño, de 4 a 6 lóbulos agudos o truncados, carnosos y papilosos; los estambres están ausentes; el ovario semiínfero tiene dos carpelos parcialmente libres en la parte superior, bilocular, con varios óvulos por lóculo; cada carpelo tiene un estilo de hasta 4 mm de largo, grueso, glabro y recurvado, la región estigmática es papilosa. La floración se presenta de enero a marzo (Pennington & Sarukhán, 2005).

2.2.4 Frutos

Los frutos son agregados en cabezuelas de 2.5 a 4 cm de diámetro, que cuelgan de un pedúnculo de 5 a 6.5 cm de largo, y son glabros; las cabezuelas son globosas, equinadas, leñosas, morenas a negro brillantes; están formados por una cápsula bivalvada, dehiscente por el ápice, con unas cuantas semillas de 6 a 8 mm de largo, aladas, morenas (Pennington & Sarukhán, 2005).

2.3 Hábitat, ecología y distribución del *Liquidambar*

L. styraciflua es una especie dominante del bosque mesófilo de montaña, aunque puede llegar a encontrarse en lugares abiertos, en bordes en los caminos, en acahuales y algunos claros. Puede formar parte de ecosistemas como el bosque de encino, bosque de pino, bosque de pino-encino y bosque tropical caducifolio.

Liquidambar es una planta originaria de Norteamérica, predominante en la región cercana al Atlántico. Se distribuye desde Connecticut, Estados Unidos, hasta la zona central de Nicaragua (Vázquez-Yanes *et al.*, 1999). En México es considerada una planta nativa, se encuentra distribuida en la vertiente del Golfo a lo largo de la Sierra Madre Oriental, desde el sur de Nuevo

León y Tamaulipas hasta el norte de Chiapas, y en la vertiente del Pacífico en la Sierra Madre del Sur en Oaxaca y en la Sierra del Soconusco en Chiapas. Es probable que se encuentre en algunas partes más protegidas y húmedas de la Sierra Madre del Sur de Guerrero y Oaxaca, así como también es probable se encuentre en Jalisco y Nayarit.

El hábitat característico de *L. styraciflua* es el bosque caducifolio húmedo, siendo frecuentemente la especie dominante. Se presenta también en comunidades secundarias o suelos perturbados. Comúnmente se localiza entre los 600 y 1500 m de altitud, en suelos de carácter arcilloso derivados de material calizo y volcánico en la vertiente del Golfo, y derivados del material metamórfico e ígneo en la del Pacífico (Pennington & Sarukhán, 2005).

2.4 El bosque mesófilo de montaña

El Bosque Mesófilo de Montaña (BMM), bosque templado húmedo, bosque caducifolio húmedo, bosque tropical de montaña o bosque de niebla, se caracteriza por ser un ecosistema con mucha humedad, abundancia de agua y un gran número de precipitaciones al año (Monterroso-Rivas, 2009).

La principal característica del BMM es la presencia de niebla, la cual tiene un papel preponderante en la distribución, dinámica y establecimiento de este ecosistema. La presencia de neblina y la abundante humedad, causan una menor descomposición de la materia orgánica. Dichas condiciones limitan la respiración de las raíces, la absorción de los nutrientes y la evapotranspiración. Así mismo, la presencia de la niebla no permite el paso directo de la luz al dosel del bosque, lo que conlleva a temperaturas más bajas y menor transpiración de las plantas (Toledo, 2009).

Estos acontecimientos hacen del BMM un ecosistema de muy lenta recuperación, frente a otros tipos de ecosistema (Toledo, 2009).

Según datos de INEGI (2005) publicados en la última revisión del estado del BMM por la CONABIO (2010), éste se distribuye en los estados de Durango, Sinaloa, Zacatecas, Nuevo León, Tamaulipas, San Luis Potosí, Colima, Jalisco, Querétaro, Hidalgo, Veracruz, Puebla, Estado de México, Guerrero, Morelos, Michoacán, Oaxaca, Tabasco y Chiapas (Figura 3), con superficies relictuales en algunos casos.

El BMM cuenta con una extensión territorial reducida; cubre menos del 1% de la superficie nacional, pero es el ecosistema con el mayor número de especies de flora y fauna en relación a su área (Toledo, 2009). Entre 2500 y 3000 especies de plantas vasculares habitan en este tipo de bosque (Rzedowski, 1996 en CONABIO, 2010), que constituyen casi 12% de la riqueza vegetal del país; el 30% son endémicas (Toledo, 2009).

La importancia ecológica del BMM no sólo radica en el número de endemismos y diversidad de especies con las que cuenta, sino que también juega un papel importante en la regulación de los ciclos hidrológicos. Gracias a los BMM los mantos acuíferos mantienen agua y su calidad. Los sedimentos se retienen y se evita el riesgo de inundaciones debido a su capacidad en la captación de agua (Toledo, 2009).

“Los *BMM* son en realidad un grupo de comunidades distribuidas en las montañas, las cuales poseen estructura, afinidad florística y composición de especies diversas. Dado su complejo origen y naturaleza, la clasificación y definición del *BMM* posee por lo tanto dificultades y ambigüedad” (CONABIO, 2010).

La mayoría de los BMM en México están formados por árboles caducifolios de clima templado, como liquidámbar (*Liquidambar*), encinos (*Quercus*), hayas (*Fagus*) y pinos (*Pinus*). Por otro lado, entre las especies que habitan el sotobosque, se distinguen algunas familias como

Acanthaceae, *Rubiaceae* y *Myrsinaceae*, entre las epífitas destacan las familias *Orchidaceae*, *Bromeliaceae*, *Piperaceae* y *Araceae* (Challenger, 1998 y Rzedowski, 2006 en CONABIO, 2010).

Además de la importancia ecológica los BMM, proveen de muchos productos con usos útiles para el ser humano; entre las especies destacan las que tienen usos maderables, medicinales, ceremoniales, alimentarios, y con fines comerciales para los habitantes de las comunidades que se localizan en ellos (CONABIO, 2010). Sánchez Velázquez y colaboradores (2008 citado en CONABIO, 2010) reportan 414 especies de plantas, que tienen al menos un uso.



Figura 3. Distribución del Bosque Mesófilo de montaña en la república mexicana. Imagen Salvador Esparza. Fuente CONABIO, 2010.

2.5 El género *Phoradendron*

Phoradendron es un género de plantas parásitas, con alrededor de 200 especies (Vázquez-Collazo *et al.*, 2006) perteneciente a la familia Viscaceae anteriormente ubicado en la familia Loranthaceae (Rzedowski y Calderón-Rzedowski, 2011^a; Rzedowski y Calderón-Rzedowski, 2011^b). La familia comprende alrededor de 400 especies, su distribución es cosmopolita (Rzedowski y Calderón-Rzedowski, 2011^a).

El género *Phoradendron* se distribuye en la región intertropical, desde la parte central de Estados Unidos, hasta América del Sur. En México podemos encontrarlo en casi todo el territorio nacional; alrededor de 60 especies de este género han sido descritas. Se distribuye hasta los 3000 m de altitud (Vázquez-Collazo *et al.*, 2006; Cibrián *et al.*, 2007).

Este género tiene importancia ecológica y económica, ya que parasita árboles como el encino, liquidámbar, citrus, juníperos, oyameles y muchos otros árboles.

2.5.1 Descripción morfológica del género *Phoradendron*

El género *Phoradendron* comprende arbustos hemiparásitos de partes aéreas de árboles y arbustos, pueden ser dioicos o monoicos (Rzedowski y Calderón-Rzedowski, 2011^a). Pueden ser erectos o colgantes, de tamaño variable desde unos cuantos centímetros hasta metros de longitud (Cibrián *et al.*, 2007).

Los tallos son generalmente ramificados, rollizos, cuadrangulares, comprimidos o aquillados, presentan casi siempre catáfilos escumiformes cerca de la base de las ramificaciones (Rzedowski y Calderón-Rzedowski, 2011^a). Las ramas pueden ser glabras o pubescentes, de una coloración verde, amarilla o verde amarillenta (Cibrián *et al.*, 2007).

2.5.1.1 Hojas

Las hojas son opuestas, perennes y muy desarrolladas, de textura coriácea y algunas veces suculentas (Cibrián *et al.*, 2007; Rzedowski y Calderón-Rzedowski, 2011^a), algunas son de más de 20 cm de largo, pero la mayor parte son menores a 5 cm y 2 cm de ancho, a veces pueden estar reducidas a escamas de color verde o amarillo; presentan venación basinervada o pinnatinervada; son lanceoladas o linear oblongas con el borde entero; el ápice es obtuso o agudo; la base es atenuada o curvada (Cibrián *et al.*, 2007).

2.5.1.2 Flores

Presenta inflorescencias en forma de espigas pedunculadas, comúnmente articuladas. Las flores están sumidas en su propio eje, dispuestas a menudo en hileras longitudinales. Las espigas presentan varios entrenudos, con dos a seis hileras de flores en cada nudo (Cibrián *et al.*, 2007; Rzedowski y Calderón-Rzedowski, 2011^a). Carecen de cálculo, presentan tres tépalos, son sésiles y de pequeño tamaño, unisexuales, pueden ser monoicas o dioicas; el perianto está dividido en tres partes (tépalos); el ovario es ínfero unilocular y uniovulado (Cibrián *et al.*, 2007).

2.5.1.3 Fruto

El fruto es una baya sésil, que puede ser globosa o elíptica e incluso ovoide; es tuberculado, puede presentarse rugoso o liso; es glabro o pubescente; los colores varían desde el blanco al verde, verde amarillento, anaranjado o rojo; presenta una semilla envuelta de un mucílago pegajoso (Cibrián *et al.*, 2007).

2.5.2 Sistema endofítico

“Se denomina sistema endofítico a la parte del organismo parásito que vive en el interior de la planta hospedante, conteniendo los canales de contacto y parasitación entre ambos seres vivos” (S.E.C.F., 2005).

P. falcifer, al ser un muérdago verdadero, posee un sistema endofítico que a diferencia de los muérdagos enanos, no invade el sistema vascular del hospedero, así mismo, no existe regeneración de nuevas yemas procedentes del endófito. Los muérdagos verdaderos como *P. falcifer*, generan un abultamiento o tumoración en el sitio donde se insertan al hospedero y desvían los vasos conductores del xilema de la planta hospedera hacia su propio sistema vascular para abastecerse de agua y minerales (Vázquez-Collazo *et al.*, 2006).

2.5.3 Medio de dispersión de los muérdagos

El principal medio de dispersión de los muérdagos verdaderos son los animales (zoocoria), siendo las aves su principal dispersor. Las semillas que estos animales llegan a ingerir, pasan por su tracto digestivo sin perder viabilidad ni las propiedades de adherencia del mucílago que poseen; durante su excreta, las semillas se adhieren a las ramas, hojas o troncos. La germinación ocurrirá siempre y cuando la planta donde se pose el ave sea compatible con la semilla del muérdago (Chazaro *et al.*, 1992 citado en Vázquez-Collazo *et al.*, 2006).

2.5.4 *Phoradendron falcifer* Kuijt.

P. falcifer es una planta parásita (Figura 4A), un tipo de muérdago verdadero cuyas plantas hospedantes pueden ser de los géneros *Clethra*, *Cornus* y particularmente de las especies como *Liquidambar styraciflua* (Figura 4B), *Quercus laurina* y/o *Quercus obtusata* (Cibrián *et al.*, 2007). Esta especie tiene amplia distribución en México; se distribuye en los estados de Colima, Chiapas, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Puebla, Querétaro, Quintana Roo, San Luis Potosí y Veracruz. Su presencia es de gran importancia en los bosques de transición de la Sierra Madre Oriental debido a que llega a causar morbilidad y mortalidad de relictos de bosques de *L. styraciflua* (Cibrián *et al.*, 2007).

2.5.5 Sinonimia

La especie tiene algunos sinónimos, de acuerdo a Tropicos® (<http://www.tropicos.org/Name/50220875?tab=synonyms>) en base a Kuijt (2003) y Rzedowski & Calderón de Rzedowski (2011): *Phoradendron falcatum* (Schtdl. & Cham.) Trel., *Viscum falcatum* Schtdl. & Cham. y en base a Kuijt (2003), *Viscum schiedeanum* DC.

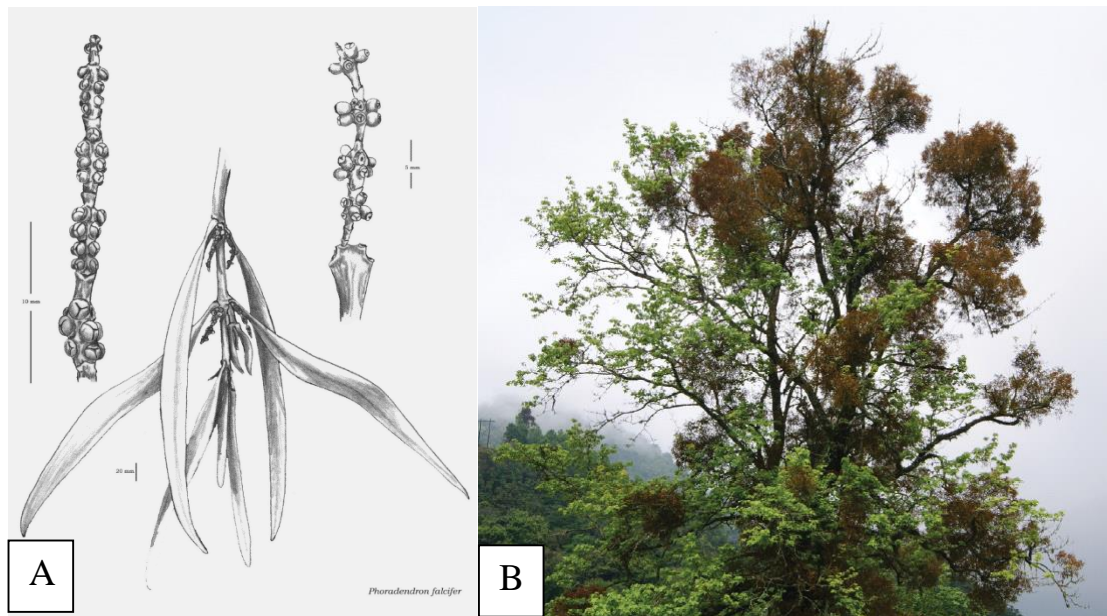


Figura 4. Anatomía de *Phoradendron falcifer* y parasitosis de *P. falcifer* sobre *L. styraciflua*. A) Ilustración de la anatomía de *P. falcifer*. Ilustración por Leticia Arango Caballero. B) Copa de un árbol de *L. styraciflua* parasitado por *P. falcifer*. Fotografía David Cibrián Tovar.

2.5.6 La resina de *Liquidambar styraciflua* y *Phoradendron falcifer*

En la sierra alta del estado de Hidalgo, esta especie representa un problema grande por su colonización en arboles de *L. styraciflua*. En un estudio forestal llevado a cabo por investigadores de la Universidad Autónoma de Chapingo, para controlar y eliminar la infección de esta plaga, se hicieron diversos tratamientos, utilizando reguladores de crecimiento como el etileno. La aplicación del etileno consistió en una inyección en la base de los árboles infectados, a dosis

comercial de 3 ml (Ethrel al 25.6 % de i.a.) por cada cm de diámetro a la altura del pecho (DAP). Se logró reducir la tasa de infección pero como efecto secundario, se observó que el etileno promovía la secreción de resina aromática (comunicación personal Cibrián, 2012).

2.6 Usos históricos del liquidámbar en México

El liquidámbar en la antigüedad fue muy utilizado por los aztecas, en náhuatl era llamado Xochiocotzótl (Peon y Contreras, 1873) o Xochicotzocuáhuatl. Un ejemplo de los usos que tenía por este pueblo, eran los mancebos de Tulantzinco (actual Tulancingo en el estado de Hidalgo) que llevaban tributos ante el rey Nezahualcóyotl de Tetzcuco (actual Texcoco), dentro de los cuales estaba el pan elaborado con liquidámbar y resina de liquidámbar (Códice Mendoza).

De la Garza (1990) en su libro “Sueño y alucinación en el mundo náhuatl y maya”, hace mención de algunos textos escritos por Francisco Hernández en los que relata cómo era utilizado el liquidámbar. Este era mezclado con tabaco y según Hernández: “fortalecía la cabeza, el estómago y el corazón, produciendo sueño, además servía para mitigar el dolor de cabeza ocasionado por causa fría”. En el mismo libro, se menciona que la resina de liquidámbar era mezclada con algunas flores psicoactivas (De la Garza, 1990).

El fraile De Torquemada (1975) relataba que la resina de liquidámbar era usada en la fabricación de un licor, el cual se mezclaba con la misma corteza del árbol, lo que hacía que se cuajara y a partir de dicho licor se elaboraban unos panes grandes que se envolvían en hojas de gran tamaño, para después usarlos para perfumar el entorno. Otro uso que le daban los aztecas era como objeto para el pago de impuestos y el comercio (Vázquez-Yanes *et al.*, 1999).

Los aztecas solían hacer ciertas mezclas que podían incluir tabaco finamente picado, carbón de leña y liquidámbar, estas sofisticadas combinaciones eran fumadas en pipas, a las cuales sólo tenían acceso las clases altas de la sociedad azteca, como Moctezuma II, quien disfrutaba además

de incluir también ámbar líquido, como le llamaban en ese tiempo a la resina de *L. styraciflua* (Loewe-Muñoz, 2010).

2.7 Usos en la actualidad de la resina de *Liquidambar styraciflua*

De los productos obtenidos del liquidámbar, la madera y la resina son de los principales bienes que se pueden comercializar. La madera de liquidámbar tiene un alto valor por su belleza, además de que al ser una madera pesada y dura es fácil manipularla en la carpintería. Por ello es utilizada en la fabricación de muebles, además es usada para cubrir revestimientos de interiores, en la producción de embalajes, cajas de cigarros, barriles, palillos de dientes, cabos de cerillos, abate lenguas, lambrín, chapas, contrachapeado, en la fabricación de pisos, entre otros usos (Vázquez-Yanes *et al.*, 1999; Loewe-Muñoz, 2010).

En México la madera se usa para elaborar artesanías, artículos torneados e instrumentos musicales; como material de construcción debido a su resistencia y dimensiones; en la elaboración de instrumentos agrícolas y mangos para herramientas (Vázquez-Yanes *et al.*, 1999).

La resina de *L. styraciflua* es usada como incienso para aromatizar tanto hogares como templos, su principal uso es como materia prima en la cosmética y en la perfumería, ya que es empleada para aromatizar jabones, cosméticos, esencias, pomadas y cremas (Vázquez-Yanes *et al.*, 1999). Así mismo, se utiliza en la fabricación de perfumes y productos farmacéuticos, en la elaboración de adhesivos y para perfumar el tabaco (Loewe-Muñoz, 2010).

2.8 Usos medicinales del género *Liquidambar*

En Honduras la resina de *L. styraciflua* es consumida en cápsulas, así como en tisana, tanto la resina como la corteza del árbol, aunque no se tiene muy bien documentado para que enfermedad en particular se usa (Reitzenstein, 2007).

En Nicaragua algunos de los usos populares del *L. styraciflua* involucran sus hojas en la preparación de tisanas, que alivian tanto picaduras de insecto, como diarreas, afecciones respiratorias, gonorrea y estimulan la sudoración. Las vaporizaciones son empleadas en afecciones del sistema respiratorio; como ungüento tópico la resina es utilizada para sanar heridas, desinfectar y ayuda en la cicatrización del ombligo en los recién nacidos (Bolt, 2012).

Otros estudios, en los que se han utilizado extractos de frutos de *L. styraciflua*, han detectado que dichos extractos poseen compuestos (triterpénicos de tipo lupano y oleanano) con características quimiopreventivas y antitumorales contra el cáncer de piel, en pruebas preliminares hechas *in vivo* e *in vitro* sobre carcinomas de piel de ratón (Fukuda *et al.*, 2005).

Además de los usos antes mencionados, la resina de *L. styraciflua* podría ser utilizada en un futuro no muy lejano para combatir enfermedades como la hipertensión (Ohno *et al.*, 2008), gracias a la actividad de compuestos que la conforman, tales como el bencil benzoato y bencil cinamato.

En un estudio etnobotánico de los usos de la resina de *Liquidambar orientalis* hecho en Turquía, en la región de Marmaris y en las islas aledañas a esta región, ubicadas al este del mar Egeo, se reporta que es empleada para combatir las úlceras, el dolor de estómago, así como su uso en heridas y cortaduras (Gürdal *et al.*, 2013). En otro análisis de la resina de *L. orientalis* desarrollado también en Turquía, acerca de su eficacia en la cicatrización y formación de epitelio en cerdos (Ocsel *et al.*, 2012), se encontró que la resina promueve la formación de tejido del epitelio en los porcinos que participaron en el estudio.

Algunos otros estudios hechos en *L. orientalis* describen un efecto inhibitor del crecimiento sobre algunas especies microbianas como *Bacillus brevis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Corynebacterium xerosis*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella*

pneumoniae, *Micrococcus luteus*, *Mycobacterium smegmatis*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens* y *Staphylococcus aureus* (Sagdıç *et al.*, 2005).

L. orientalis también es eficaz como agente conservante de la madera, contra el ataque de algunos hongos basidiomicetos (Kartal *et al.*, 2012), así como también en el control de nematodos, debido a que el aceite esencial de esta especie presenta actividad nematocida sobre *Bursaphelenchus xylophilus*, un nematodo que ocasiona la enfermedad de marchitamiento del pino (Kim *et al.*, 2008).

La medicina tradicional china frecuentemente menciona el uso de *L. orientalis* en las recetas de mezclas curativas para el control de cierto tipo de afecciones, que incluyen el tratamiento de convulsiones en infantes, así como accidentes cerebro vasculares (Jeon *et al.*, 2011). Una medicina china empleada para este tipo de enfermedades fue modificada y denominada KSOP1009, por un grupo de investigación en Corea. La nueva fórmula compuesta consiste de extractos etanólicos de ocho hierbas, que incluyó resina de *L. orientalis*, semilla de *Myristica fragrans*, rizoma de *Cnidium officinale*, madera de *Santalum album*, frutos de *Piper longum*, botones florales de *Eugenia caryophyllata*, polen de *Typha orientalis* y la raíz de *Salvia miltiorrhiza*. Se hicieron experimentos con KSOP1009 en ratones transgénicos (Tg-APP^{swe}/PS1^{dE9}) los cuales sobreexpresan las proteínas APP y PS1 (Jeon *et al.*, 2011). APP es la proteína precursora del péptido β -amiloide, principal componente de las placas amiloideas del tejido cerebral en pacientes que padecen la enfermedad de Alzheimer. PS1 presenilina o presenilinas (PS1) forma un grupo de proteínas encargadas de regular el procesamiento de la proteína APP, mediante la γ -secretasa, la cual degrada APP. En el estudio con KSOP1009 se probó su eficacia, al comprobar que ralentizó el deterioro de la memoria de los ratones, ocasionada por

el beta-amiloide, y disminuyó los niveles y la deposición de placas de beta-amiloide, en el cerebro de los ratones Tg-APP^{swe}/PS1^{dE9} (Jeon *et al.*, 2011).

2.9 Resinas

Las resinas son un tipo de exudado vegetal insoluble en agua, que se endurece cuando es expuesto al aire (Langenheim, 2003). Son productos del metabolismo secundario de las plantas, que sirven de defensa contra parásitos, herbívoros o polinizadores (Zulak *et al.*, 2010).

La mayoría de las plantas producen resinas, sin embargo son producidas en mayores cantidades por las gimnospermas, aunque algunas angiospermas dicotiledóneas los llegan a producir. Se generan cuando los árboles son heridos, lacerados o desgarrados y su utilidad dentro de los mismos es como agente coagulante y protector para cerrar heridas. Así mismo, evitan que se pierda la savia o que penetren algunos organismos patógenos o en respuesta a algún depredador, herbívoro o bacteria (Martin *et. al.*, 2002).

Las resinas están formadas por una mezcla liposoluble de compuestos volátiles y no volátiles como terpenos (mono y sesquiterpenos) y/o compuestos fenólicos que no forman parte del metabolismo primario (Leonhardt, 2011). Sin embargo, la composición química de las resinas no siempre es la misma, varía dentro de cada especie vegetal, en cada estación del año, en el estado de desarrollo de la planta, incluso individualmente, en cada parte de la planta y en respuesta al ataque de herbívoros (Leonhardt, 2011).

No todos los exudados que expele y produce una planta son resinas, muchas veces son confundidos con ceras, gomas, mucilagos, aceites y látex (Cuadro 2). Cada uno de estos compuestos difiere de las resinas en su composición y estructura química, así como en el tipo de estructura secretora, ruta metabólica de biosíntesis y función dentro de la misma planta (Langenheim, 2003).

Cuadro 2. Características de resinas, gomas, mucilagos, aceites, ceras y látex. Tomado y modificado de Langenheim, 2003.

	Principales compuestos	Solubilidad	Tejido secretor
Resinas	Terpenoides; Compuestos fenólicos	Soluble en lípidos	Canales resiníferos, bolsillos, cavidades, tricomas, ductos, células epidérmicas
Gomas	Polisacáridos	Soluble en agua	Cavidades
Mucilagos	Polisacáridos	Soluble en agua	Idioblastos, células epidérmicas, tricomas, ductos, cavidades
Aceites	Ácidos grasos y Glicerol	Soluble en lípidos	Ninguno
Ceras	Ácidos grasos esterificados con alcoholes de cadena larga	Soluble en lípidos	Células no especializadas de la epidermis
Látex	Mezcla compleja que puede incluir: Terpenoides, compuestos fenólicos, proteínas, carbohidratos, etc.	Soluble en lípidos	Laticíferos

2.10 Estructuras secretoras de resinas

La síntesis de resina ocurre en estructuras de secreción interna llamadas ductos. Dichas estructuras están llenas de células de parénquima, denominadas células epiteliales. Este tipo de compartimentos son más comunes en las coníferas, aunque pueden encontrarse en algunos árboles tropicales de las angiospermas. Se clasifican de acuerdo a la forma en la que se encuentran ordenadas las células de parénquima. Si el ducto se elonga, se nombra canal, si es redondeado se denomina bolsillo o quiste, y si se llega a alargar y tomar una forma irregular se llama cavidad (Langenheim, 2003).

Los árboles cuentan con un número de canales resiníferos que está determinado por la especie vegetal, sin embargo la cantidad de los canales resiníferos suele aumentar, debido a heridas o daños causados en la corteza. Además de las lesiones, sustancias como las auxinas pueden inducir la formación de canales resiníferos. Si se aplican de manera externa causan la formación de nuevos canales resiníferos, a nivel del xilema secundario, por una intensa actividad del cambium vascular (Fanh, 1988).

2.11 Compuestos químicos que forman a las resinas

Las resinas son compuestos químicos aromáticos mezclados con aceites volátiles, insolubles en agua. Como se mencionó anteriormente los principales compuestos presentes en las resinas son los terpenoides y los compuestos fenólicos, ambos son sintetizados por rutas diferentes en el metabolismo secundario (Figura 5). Mientras que los terpenoides se sintetizan por la ruta del ácido mevalónico o la ruta de la deoxixilulosa-5-fosfato, los compuestos fenólicos pueden producirse a través de la ruta del ácido shikímico y la ruta del ácido malónico (Langenheim, 2003).

En la naturaleza las resinas generalmente están formadas por dos fracciones de compuestos químicos, la fracción volátil y la fracción no volátil. A la fracción volátil de cualquier resina, se le conoce como aceite esencial, y está constituida principalmente por monoterpenos y sesquiterpenos, mientras que la fracción no volátil que es la resina en sentido estricto; la forman los diterpenos y triterpenos. Pero no en todas las familias de plantas, la resina está asociada a aceites esenciales (Langenheim 2003).

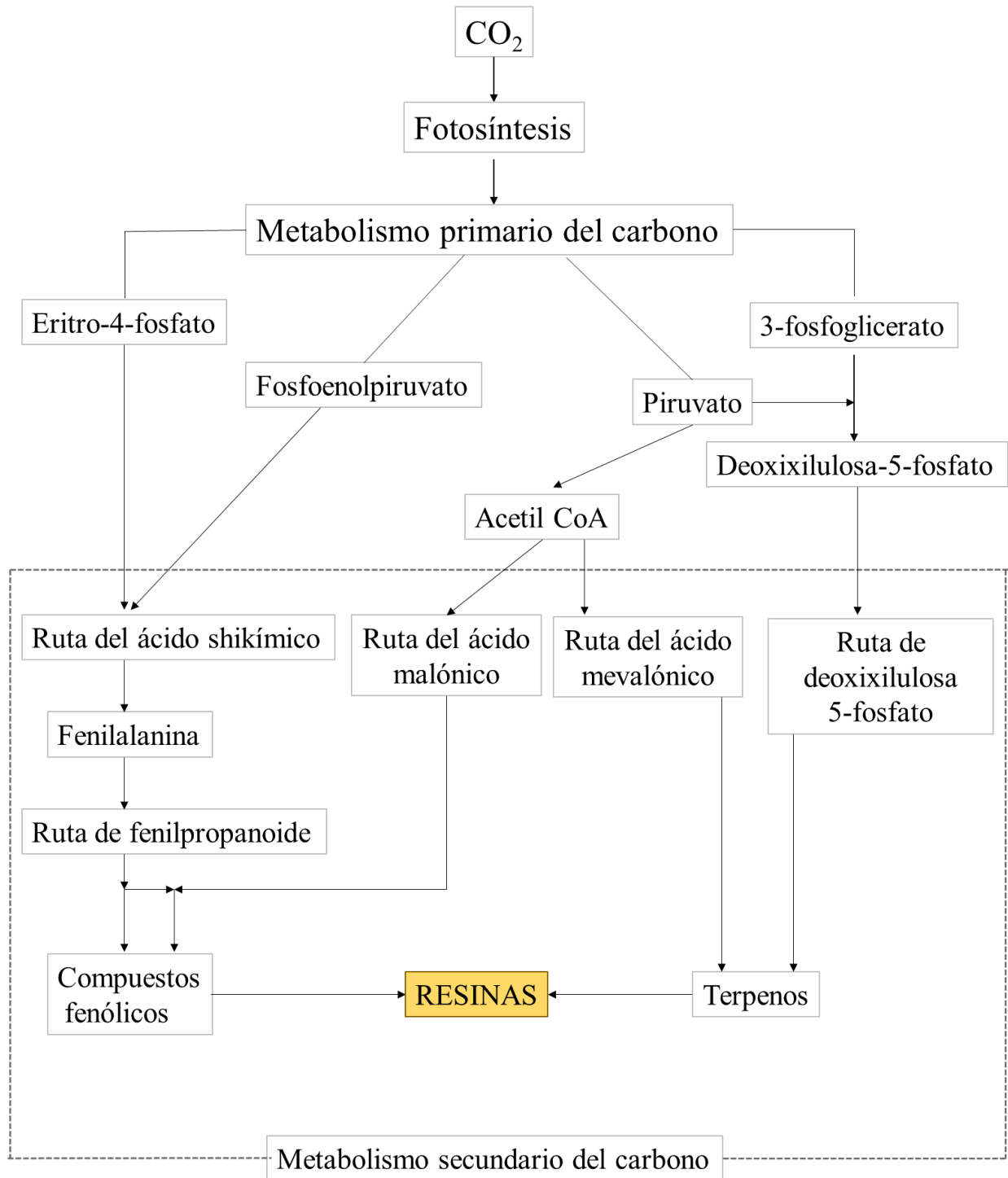


Figura 5. Biosíntesis de metabolitos secundarios que forman a las resinas. Se puede observar la conexión entre el metabolismo primario y secundario entre los compuestos y procesos (Tomado y modificado de Langenheim, 2003).

2.11.1 Aceites esenciales

Los aceites esenciales son una mezcla de compuestos químicos y volátiles asociados entre sí, que incluyen a los monoterpenos, sesquiterpenos y diterpenos. Todos los órganos de las plantas pueden contener aceites esenciales; por ejemplo, los podemos encontrar en las flores, frutos o en la madera de muchas plantas (Can Başer, 2007; Pallardy, 2007). Son producidos por células glandulares, tricomas o pelos glandulares, flores, hojas, tallos, y conductos especializados en tallos y hojas (Fanh 1988; Pallardy, 2007). Las plantas usualmente los sintetizan, debido a que sirven como defensa contra infecciones o parásitos, o son generados en respuesta a condiciones de estrés (Can Başer, 2007).

Existen diversos métodos para la extracción de aceites esenciales de los diferentes órganos en las plantas; la elección del método utilizado depende de cada situación en particular, así como de la naturaleza de las muestras (Can Başer, 2007; Handa *et al.*, 2008).

2.11.2 Características organolépticas y valor ácido en los aceites esenciales

Al transcurrir el tiempo los aceites esenciales envejecen y con ello hay un incremento de los ácidos libres. Este incremento se debe a la oxidación de los aldehídos y la hidrólisis de ésteres que forman cantidades equivalentes de ácidos orgánicos.

El valor ácido es una medida o valor que determina la calidad de los aceites esenciales, indicando la edad y estado de deterioro de un aceite. Sirve de referencia para saber si usar o no, un aceite esencial. Así mismo nos ayuda a saber cuánto tiempo más puede estar almacenado. En los aceites que no presentan un deterioro aparente, la cantidad de ácidos libres es menor. Dicha medida se basa en la cuantificación por un método colorimétrico de la cantidad de ácidos libres presentes en un aceite esencial (Williams, 1996).

Se mide como la cantidad en miligramos de KOH (Hidróxido de potasio) requeridos para neutralizar a los ácidos libres en 1 g de aceite esencial (Williams, 1996). “Una solución 1M de KOH contiene 56.1 g/l de KOH, cantidad necesaria para neutralizar los ácidos libres presentes en 10 g de aceite esencial; dada esta premisa 1 g de aceite esencial requiere 0.561 mg de solución KOH, para la neutralización de los ácidos libres presentes” (Williams, 1996).

Este método utiliza el reactivo de fenolftaleína, debido a que en soluciones ácidas es incoloro, en soluciones neutras ligeramente rosa y en soluciones alcalinas rosa brillante, lo que lo convierte en un perfecto método colorimétrico cualitativo.

2.11.3 Terpenoides

Los terpenoides son hidrocarburos aromáticos, formados por unidades de cinco carbonos denominadas isoprenos; a estas unidades comúnmente se les llama isoprenoides (Croteau *et al.*, 2000; Can Başer, 2007; Pallardy, 2007). Se encuentran presentes en todos los organismos vivos. Los primeros miembros de esta familia de compuestos fueron aislados de la trementina (Croteau *et al.*, 2000). A los terpenoides se les clasifica según el número de unidades de isopreno con las que cuenta, así podemos tener a los monoterpenos, formados por dos unidades de isopreno ($C_{10}H_{16}$), los sesquiterpenos que cuentan con tres unidades de isopreno ($C_{15}H_{24}$), los diterpenos que poseen cuatro unidades de isopreno ($C_{20}H_{32}$), y así sucesivamente (Croteau *et al.*, 2000; Langenheim, 2003; Pallardy, 2007).

Los terpenoides pueden ser sintetizados a través de dos moléculas precursoras, el isoprenildifosfato y dimetilalildifosfato (IPP y DMAPP por sus siglas en inglés). Estos precursores son sintetizados a partir de tres moléculas de acetil coenzima A, a través de la ruta clásica del ácido mevalónico o ruta del mevalonato, la cual se lleva a cabo en el citosol y es la ruta responsable de la síntesis de sesquiterpenoides (Croteau *et al.*, 2000; Can Başer, 2007).

Existe otra ruta propuesta para la síntesis de estos precursores de terpenoides. Dicha ruta involucra a la 1-deoxi-D-xilulosa-5-fosfato es conocida como la ruta no dependiente de mevalonato o ruta de la deoxixilulosa fosfato. Esta ruta se lleva a cabo en los cloroplastos y es la encargada de la síntesis de mono y di terpenos (Croteau *et al.*, 2000; Can Başer, 2007).

2.11.4 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos o fenoles se distinguen químicamente de otros compuestos, por presentar un grupo hidroxilo, unido a un anillo aromático, el benceno (Vermerris & Nicholson, 2006). Una gran variedad de compuestos están clasificados dentro de los compuestos fenólicos, de los cuales podemos mencionar, a los ácidos fenólicos, cumarinas, flavonoides, chalconas, auronas, flavonas, leucoantocianidinas, antocianidinas, antocianinas, benzofenonas, estilbenos, xantonas, betacianinas, lignanos, taninos hidrolizables y condensados, entre otros (Vermerris & Nicholson, 2006). La ruta de síntesis de estos compuestos es la ruta del ácido shikímico o ruta del shikimato (Lattanzio, 2013).

La función de los fenoles en las plantas se remonta a muchos años de evolución, ya que se sabe que estos compuestos forman parte de la principal defensa contra los diferentes tipos de estrés ambiental, como defensa contra los rayos ultravioleta, estrés hídrico y el ataque de herbívoros y patógenos.

2.11.5 Taninos

Los taninos son los compuestos de mayor peso molecular, que se encuentran en el grupo de los compuestos fenólicos. Se clasifican en taninos hidrolizables y taninos condensados, aunque existe una reciente clasificación que incluye a los florotaninos, que están presentes en algunas especies de algas (Lattanzio, 2013). La característica más importante de los taninos, es su

capacidad para precipitar proteínas. Así mismo, le confieren astringencia a las plantas que los contienen, y así constituyen en una excelente defensa contra los herbívoros.

Los taninos condensados también conocidos como proantocianidinas, son un tipo de compuesto fenólico cuya principal característica es la capacidad que tienen para precipitar proteínas (Vermerris & Nicholson, 2006; Salminen & Karonen, 2011) y causar interferencia en la absorción de las mismas, también funcionan como mecanismo de protección contra depredadores. Son característicos de especies leñosas (Taiz & Zeiger, 2002), abundantes en especies como *Quercus* spp. y *Castanea* spp. (Vermerris & Nicholson, 2006).

Pueden encontrarse en hojas, en cortezas y en los frutos, más específicamente en células de la epidermis de las hojas, glándulas dérmicas, células de corteza de corcho, en el látex, en los rayos medulares que forman los troncos de los árboles, así como en el duramen, en el parénquima de las células y en conductos de resina (McNair, 1930; Langenheim, 2003; Vermerris & Nicholson, 2006; Fromm, 2013). Además de encontrarse en los canales resiníferos, McNair (1930) reportó la presencia de taninos en la resina de árboles de la familia Hamamelidaceae, como una característica muy particular de esta familia de angiospermas. Debido a este dato importante, se decidió analizar la presencia de taninos condensados en las resinas de liquidámbar.

El análisis de taninos generalmente utiliza técnicas colorimétricas, como la técnica de butanol-HCl (butanol-ácido clorhídrico) utilizada en el presente trabajo. Dicha técnica es un método comúnmente empleado en el análisis de taninos condensados (Barbehenn & Constabel, 2011; Salminen & Karonen, 2011). Sin embargo, la coloración obtenida durante el proceso de determinación varía de acuerdo a las estructuras químicas específicas de cada tanino (Barbehenn & Constabel 2011).

2.12 Composición química de la resina de *Liquidambar styraciflua*

Dentro de los estudios químicos que se han hecho a las dos fracciones que forman a la resina de liquidámbar (fracción volátil y no volátil), Bolt (2012) menciona que está constituida por esterol, ácido cinámico, estiracina, estoresina y un grupo alcohol complejo.

La SCCP (Scientific Committee on Consumer Products) de la Comisión Europea, en un apartado de opinión sobre los extractos, bálsamos y aceites de *L. styraciflua*, menciona una serie de compuestos como componentes principales del bálsamo del extracto de *Liquidambar*: ácidos cinámico y benzoico con sus respectivos ésteres, alfa y beta estoresina, con su éster cinámico, estiracina, etil-fenil-propil cinamato, cinamato de bencilo, ácido cinámico libre, un aceite levógiro y trazas de vanillina (SCCP, 2005).

El nombre comercial que se le da a la resina de liquidámbar es storax o styrax. La comisión mencionada diferencia storax americano, storax hondureño, storax asiático, storax turco, entre otras, dependiendo del sitio de donde es proveniente la resina de liquidámbar (SCCP, 2005).

2.13 Extracción de las resinas

La mayoría de los métodos utilizados para la extracción de resina, ya sea de pino o liquidámbar requieren herir o lacerar la corteza del árbol (Purata, 2008; Reitzenstein, 2007). De esta forma se produce cierto tipo de estrés en la planta, que desemboca en la activación del metabolismo secundario y estimula la producción del exudado.

La extracción de la resina que mayormente se conoce es la que se emplea en pinos y copales. Este proceso requiere de conocimiento previo y de precisión al momento de hacer las incisiones en el tronco de los árboles (Linares & Bye, 2008; Purata, 2008). De preferencia se seleccionan los árboles más robustos y sanos. La extracción no es extensiva en un solo árbol, ya que hay periodos en los que se deja descansar y cicatrizar, el llamado tiempo de recuperación, que

dura entre 2-3 años en especies de copales y pinos (Linares y Bye, 2008). En el caso de *L. styraciflua* se menciona que el periodo de recuperación es de 5 años y sólo se aprovechan árboles con más de 20 años de edad (Reitzenstein, 2007).

La mejor época de colecta de resina en pinos es la época de secas o sequía, debido a que hay mejores condiciones para los recolectores para acceder a los sitios de colecta (Arias-Toledo et al., 2006), mientras que para el copal (Purata, 2008) y el liquidámbar la época de lluvias es mejor por la cantidad de resina recolectada (Reitzenstein, 2007). En los árboles de liquidámbar antes del periodo de lluvias se hacen canoas o pozos sobre la corteza de los árboles, para después de dos meses ir al sitio donde están los árboles lacerados y así recolectar la resina (Reitzenstein, 2007).

2.14 Mercado de resinas en México y el mundo

Las resinas explotadas en México tanto la resina del copal como la de los pinos se han devaluado enormemente. En 2005 en Nuevo San Juan Parangaricutiro Michoacán, población dedicada a la recolección de resina de pino, el precio por litro de resina era \$4.20 pesos. En promedio en esta comunidad se ha registrado que un pino produce un kilo de resina al mes, dependiendo del número de cortes verticales hechos en el fuste del árbol. En esta misma comunidad se registró una producción de 1000 toneladas en 1998 y de 500 toneladas durante el 2004 (Arias-Toledo *et al.*, 2006).

En comparación con el precio de la resina de pino, la resina de liquidámbar tiene un mayor valor de comercialización. El precio a menudeo de 1 kilo de resina de venta en un sitio de internet oscila en \$148.67 dólares (<http://www.scents-of-earth.com/storax.html>).

Los productores de resina de liquidámbar en Honduras llegan a obtener de 2.7-5.4 kg de resina por árbol al año. Un ejemplo en cifras, en una comunidad en Honduras que cuenta con 1000

árboles grandes de liquidámbar, se puede obtener un ingreso de \$813,758.4 dólares al año (Reitzenstein, 2007).

En México, en la actualidad, el liquidámbar es una especie que solo se explota maderablemente en algunos lugares. Su resina no es utilizada como en otros países centroamericanos como Honduras, donde su extracción es muy apreciada por el alto valor económico en el mercado Europeo y en Estados Unidos. En estos países se utilizan en la industria cosmética, en la industria de la perfumería y en la aromaterapia (Reitzenstein, 2007; Gutiérrez, 2011).

Las cifras presentadas nos dan una idea más clara del valor económico de la resina de liquidámbar en el extranjero. Es por ello que el estudio de la extracción y producción de forma sostenible de este recurso natural, es de suma importancia para el desarrollo económico de las comunidades rurales (Reitzenstein, 2007; Gutiérrez, 2011). Si se hace en forma adecuada representa una estrategia de manejo sustentable del BMM.

2.15 Gestión sustentable de productos no maderables

La utilización de los productos no maderables a escala mundial representa una alternativa de manejo sustentable de los recursos naturales de los bosques, ya que al ser utilizados se promueve la menor extracción de los recursos maderables para la comercialización. Así mismo, los recursos forestales no maderables tales como la resina, son una fuente importante de ingresos económicos.

La información compilada por la FAO (2010) demuestra la importancia de promover el uso de los recursos forestales no maderables e incluirlos en programas de desarrollo nacionales, ya que contribuyen en la disminución de la pobreza en las comunidades forestales. Además son una herramienta en los programas de desarrollo rural y en las estrategias de conservación de los bosques. En comunidades forestales de Honduras la comercialización de la resina de liquidámbar,

representa un producto forestal no maderable de mayor significancia en su economía (Reitzenstein, 2007).

En Honduras, se han desarrollado algunas reglas para la extracción sustentable. Se extrae resina sólo de árboles con al menos 20 años de edad, los cuales tienen periodos de descanso de 5 años para la cicatrización de las heridas producidas para la extracción (Reitzenstein, 2007). *Liquidambar* por sí misma es una especie con una elevada resistencia y rápida cicatrización lo que contribuye a que los periodos de descanso no sean tan largos.

“La sostenibilidad o sustentabilidad en el manejo forestal es alcanzable a diferentes escalas y por diferentes actores. Para ello no existe un modelo o receta, sino diversas herramientas y prácticas que, adaptadas a situaciones y contextos particulares, ayudan a alcanzar esta meta” (FAO, 2010).

Las comunidades que cuentan con industrias sostenibles procuran introducir mejoras en todas las esferas de la comunidad, como la eficiencia energética, los procesos de producción con reducción de residuos de todo tipo y conservación de los recursos naturales, la utilización de materiales inocuos y amigables ecológicamente, condiciones laborales seguras y capacitación de los recursos humanos. La sostenibilidad económica debe ser una parte esencial de estas consideraciones, dado que las mejoras continuas en la productividad y la rentabilidad son requisitos fundamentales para la viabilidad económica de la industria a largo plazo (FAO, 2011).

3 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la composición química de la resina y del aceite esencial de la resina de *Liquidambar styraciflua*.

3.1 Objetivos particulares

- Determinar la variación en la composición química de las resinas y de los aceites esenciales en resinas de *L. styraciflua*, en dos temporadas de recolecta.
- Determinar la variabilidad en la composición química de las resinas de *L. styraciflua* debido a la localización de los sitios de recolecta.
- Determinar las diferencias en la composición química de las resinas de *L. styraciflua* en árboles parasitados y no parasitados.

4 HIPÓTESIS

1.- La localización y estacionalidad (época de colecta) afectan la concentración y los tipos de metabolitos secundarios, que forman la resina y el aceite esencial de la resina de *Liquidambar styraciflua* L.

2.- La parasitosis de *Phoradendron falcifer* Kuijt. modifica la composición química de la resina de *L. styraciflua*

5 MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras de resina utilizadas en el presente proyecto fueron recolectadas en cuatro comunidades inmersas en tres municipios del estado de Hidalgo; Calnali, Tianguistengo y Zacualtipán.

5.1 Área de estudio

Los sitios donde se recolectó la resina de *L. styraciflua* están ubicados en el estado de Hidalgo, en cuatro predios situados en los municipios de Calnali, Tianguistengo y Zacualtipán. Los sitios de colecta se encuentran situados a diferentes altitudes dentro de cada municipio. Las comunidades muestreadas fueron: Santa Lucía y Xochimilco en el municipio de Calnali; ejido Tianguistengo, cercano a la cabecera municipal de Tianguistengo; ejido Xalapa, cercano a la cabecera municipal de Zacualtipán.

Los sitios muestreados forman parte de una porción de BMM, que fisiográficamente corresponde a la zona noreste del estado de Hidalgo, y la subprovincia del Carso huasteco, inmersa en la Sierra Madre Oriental. La región del Carso huasteco está caracterizada por sierras. Las áreas de menor elevación se ubican en la parte norte y noreste del estado y forman la región que se conoce como “La huasteca Hidalguense”. La Sierra Madre está surcada por los cañones de los ríos Moctezuma y Amajac. Debido a la complejidad de esta región con numerosas sierras y su exposición a los vientos alisios provenientes del Golfo de México las condiciones se vuelven propicias para el crecimiento y desarrollo del BMM, puesto que las elevaciones sirven como barrera de los vientos (Monterroso-Rivas, 2009).

5.1.1 Municipio de Calnali

El municipio de Calnali se encuentra ubicado en la sierra del estado de Hidalgo (Figura 6), situado a 20° 50' y 20° 59' latitud norte, 98° 35' y 98° 41' longitud oeste, a una altitud entre 200 y 1600 m. Está localizado a 28 km del municipio de Molango, muy cercano a Lolotla y Xochicoatlán, municipios que también se ubican dentro de la sierra hidalguense. Limita al norte, con los municipios de Tlanchinol, Huazalingo y Yahualica; al este con los municipios de Yahualica y Tianguistengo, al sur, con los municipios de Tianguistengo y Xochicoatlán; al oeste, con los municipios de Lolotla y Tlanchinol. La población consta de 16,962 habitantes; la actividad primaria es la agricultura (INEGI, 2009a).

Los climas que predominan son, semicálido húmedo con lluvias todo el año (84%) y templado húmedo con lluvias todo el año (16%). La temperatura oscila entre 16-24 °C, con precipitaciones anuales de 1900-2200 mm. El tipo de vegetación dominante es bosque, con una porción de selva; el resto de la porción de suelo lo ocupa la zona urbana y la agricultura (INEGI, 2009a).

Cuadro 3. Datos sobre algunas actividades primarias de Calnali. Fuente INEGI 2013.

CALNALI		
2005	2011	2011
Sup. agricultura (km ²)	Sup. sembrada total (ha)	Sup. cosechada total (ha)
65.65	7,599	7,599

Cuadro 4. Cifras sobre la superficie de bosque y algunas actividades forestales en Calnali. Fuente INEGI 2013.

CALNALI			
2005	2011	2011	2011
Sup. de bosque (km ²)	Vol. de producción forestal maderable (m ³)	Sup. reforestada (ha)	Árboles plantados
43.19	0	60	34,250

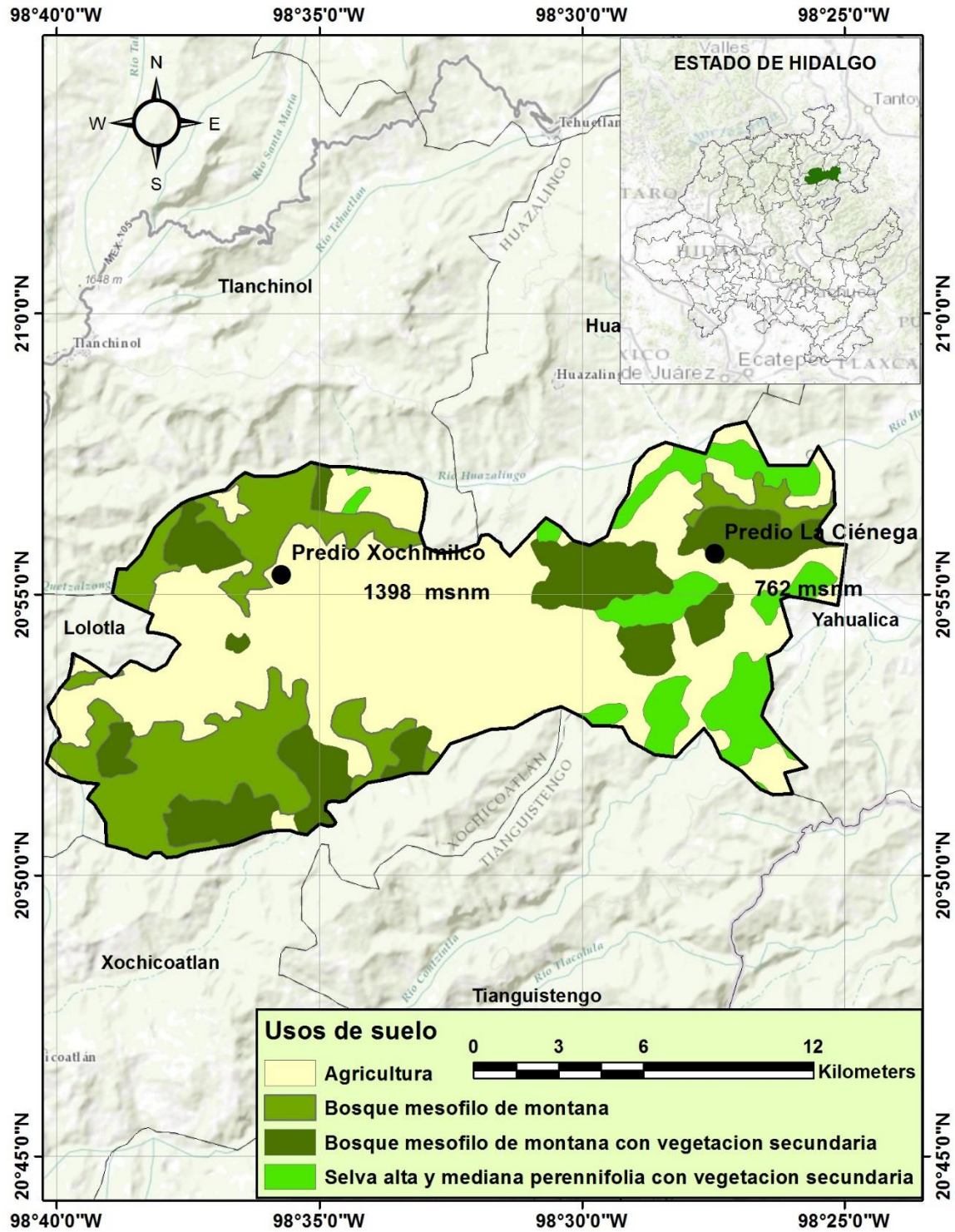


Figura 6. Mapa de usos de suelo del municipio de Calnali en el estado de Hidalgo. En el mapa pueden observarse la ubicación de los predios “Xochimilco” y “La Ciénega”. Imagen Salvador Esparza. Fuente CONABIO 2011.

5.1.2 Municipio de Tianguistengo

Se ubica geográficamente en el estado de Hidalgo a 20° 40' y 20° 54' de latitud norte y 98° 25' de longitud oeste, a una altitud entre 300 y 2100 m. Colinda al norte con los municipios de Xochicoatlán y Calnali (Figura 7); al este con el municipio de Yahualica y el estado de Veracruz; al sur von Veracruz y Zacualtipán; al oeste con Zacualtipán y Xochicoatlán. La población total de Tianguistengo es de 14,037 habitantes, la principal actividad económica es la agricultura, seguida de la industria de manufactura (INEGI, 2009b).

En este municipio predominan tres tipos de clima; templado húmedo con lluvias todo el año (48%), semicálido húmedo con lluvias todo el año (44%) y templado húmedo con abundantes lluvias en verano (8%). La temperatura es de 12-24 °C y presenta precipitación anual de 1900-2100 mm. Cuenta con dos tipos de vegetación, bosque y selva, siendo en mayor proporción el primero (INEGI, 2009b).

Cuadro 5. Datos sobre algunas actividades primarias de Tianguistengo. Fuente INEGI 2013.

TIANGUISTENGO		
2005	2011	2011
Sup. agricultura(km ²)	Sup. sembrada total (ha)	Sup. cosechada total (ha)
67.06	4,920	4,920

Cuadro 6. Cifras sobre la superficie de bosque y algunas actividades forestales en Tianguistengo.

Fuente INEGI 2013.

TIANGUISTENGO			
2005	2011	2011	2011
Sup. de Bosque (km ²)	Vol. de producción forestal maderable (m ³)	Sup. reforestada (ha)	Árboles plantados
63.46	0	5	3,000

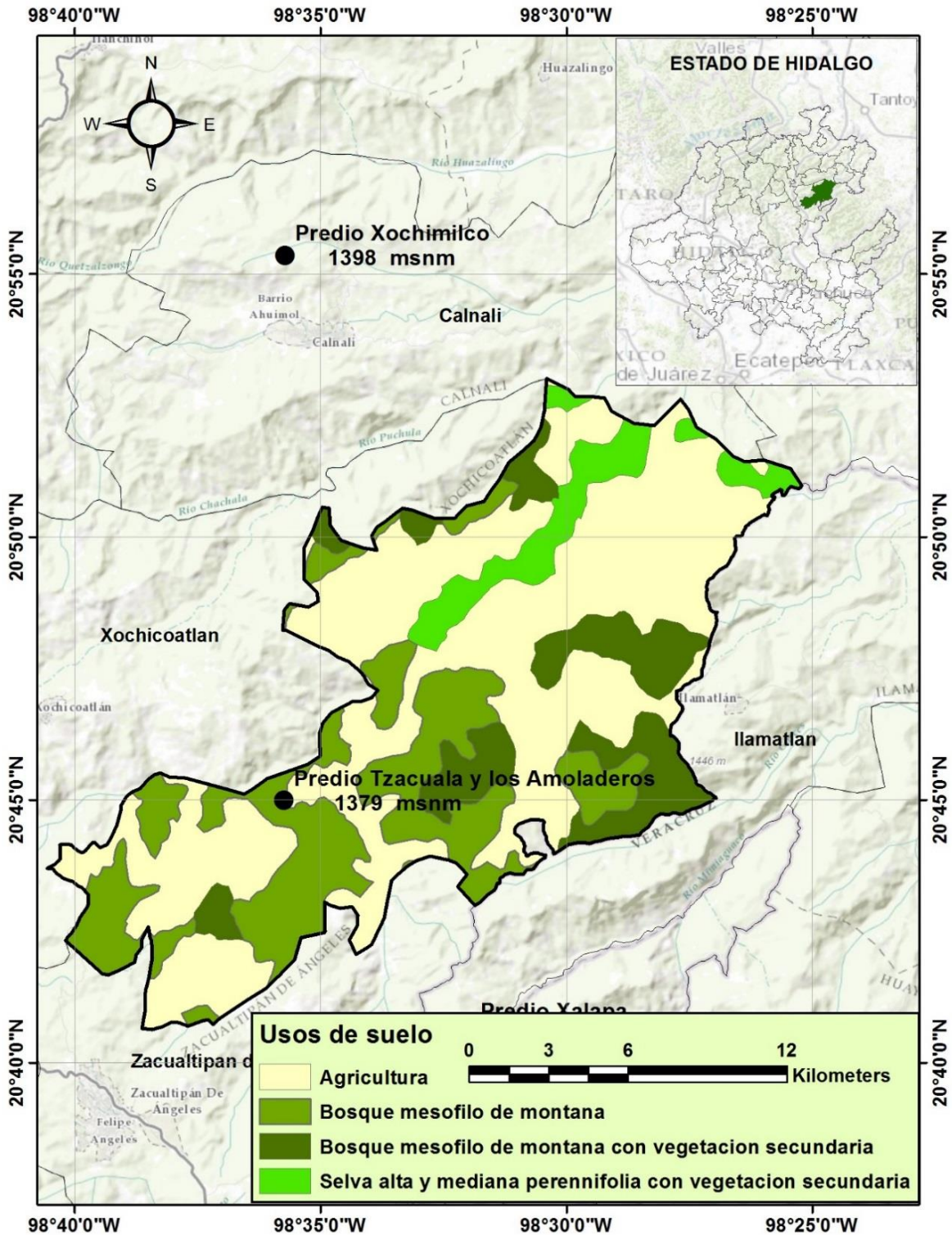


Figura 7. Mapa de uso de suelo del municipio de Tianguistengo en el estado de Hidalgo. En el mapa puede observarse la ubicación geográfica del predio “Tzacuala y los Amoladeros”. Imagen Salvador Esparza. Fuente CONABIO 2011.

5.1.3 Municipio de Zacualtipán

Está ubicado en el estado de Hidalgo en los paralelos 20° 33' y 20° 45' de latitud norte en los meridianos 98° 25' y 98° 43' de longitud oeste a una altitud entre 500 y 300 m. Colinda al norte con Tianguistengo y el estado de Veracruz (Figura 8); al sur con el estado de Veracruz y los municipios de San Agustín Metzquititlán y Metztlán; al oeste con los municipios de Metztlán y Xochiatipan. Zacualtipán ocupa el 1.31% de la superficie del estado (INEGI, 2009c); ocupa el segundo lugar en número de habitantes en la región de la huasteca hidalguense, con un total de 25,987 habitantes hasta el año de 2005 (Monterroso-Rivas 2009). Para el año 2010 se registraron 32,437 habitantes (INEGI, 2010).

Zacualtipán es de los municipios de la región de la huasteca hidalguense con menor marginación, ocupa el lugar 1750 (de 2440) a nivel nacional. Tan sólo el 14% de su población es analfabeta en personas de 15 años o más, el 35% de sus pobladores no culminaron sus estudios de primaria. El 66% de la población económicamente activa recibe ingresos de hasta 2 salarios mínimos. Zacualtipán es el municipio con mayor número de población económicamente activa de la región de la huasteca en Hidalgo.

En el rubro de servicios sólo el 7% de la población no cuenta con servicio de luz, drenaje ni excusado, y un 11% no tiene acceso a servicios de agua entubada (Monterroso-Rivas, 2009).

En Zacualtipán el mayor aprovechamiento de los recursos naturales es a través de la agricultura seminómada, cuyo cultivo principal es el maíz (*Zea mays* L), seguido del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), chile (*Capsicum annuum* L.), tomate de cáscara (*Physalis philadelphica* Lam.), entre otros.

Liquidambar es una de las especies forestales explotadas comercialmente en esta región del estado de Hidalgo. Se utiliza en la fabricación de palillos, abate lenguas y en algunas ocasiones para madera serrada (Monterroso-Rivas, 2009).

El BMM de este municipio se encuentra inmerso dentro de la Sierra Madre oriental y la Huasteca hidalguense. El BMM de Zacualtipán abarca un total de 30,148 hectáreas; está formado por tres estratos arbóreos: alto que abarca árboles de 20-40 m, el mediano de 8-20 m y el bajo de 2-8 m. Existe un listado florístico para esta zona en conjunto con el municipio de Eloxochitlán. La flora está formada por 110 familias, 266 géneros y 394 especies, siendo el grupo de las dicotiledóneas el de mayor abundancia, seguido por las monocotiledóneas, pteridofitas y gimnospermas (Alcántara-Ayala y Luna-Vega, 2001 citado en Monterroso-Rivas, 2009).

En los ejidos de Tzincoatlán y Tizapán, inmersos dentro del municipio de Zacualtipán, *Liquidámbar styraciflua*, es la especie dominante, con árboles de más de 20 m de altura (Monterroso-Rivas, 2009).

Cuadro 7. Datos sobre algunas actividades primarias de Zacualtipán. Fuente INEGI 2013.

ZACUALTIPÁN		
2005	2011	2011
Sup. de agricultura (km ²)	Sup. sembrada total (ha)	Sup. cosechada total (ha)
72.26	1,498	1,498

Cuadro 8. Cifras sobre la superficie de bosque y algunas actividades forestales en Zacualtipán. Fuente INEGI 2013.

ZACUALTIPÁN			
2005	2011	2011	2011
Sup. de bosque (km ²)	Vol. de producción forestal maderable (m ³)	Sup. reforestada (ha)	Árboles plantados
142.52	14,057	33	33

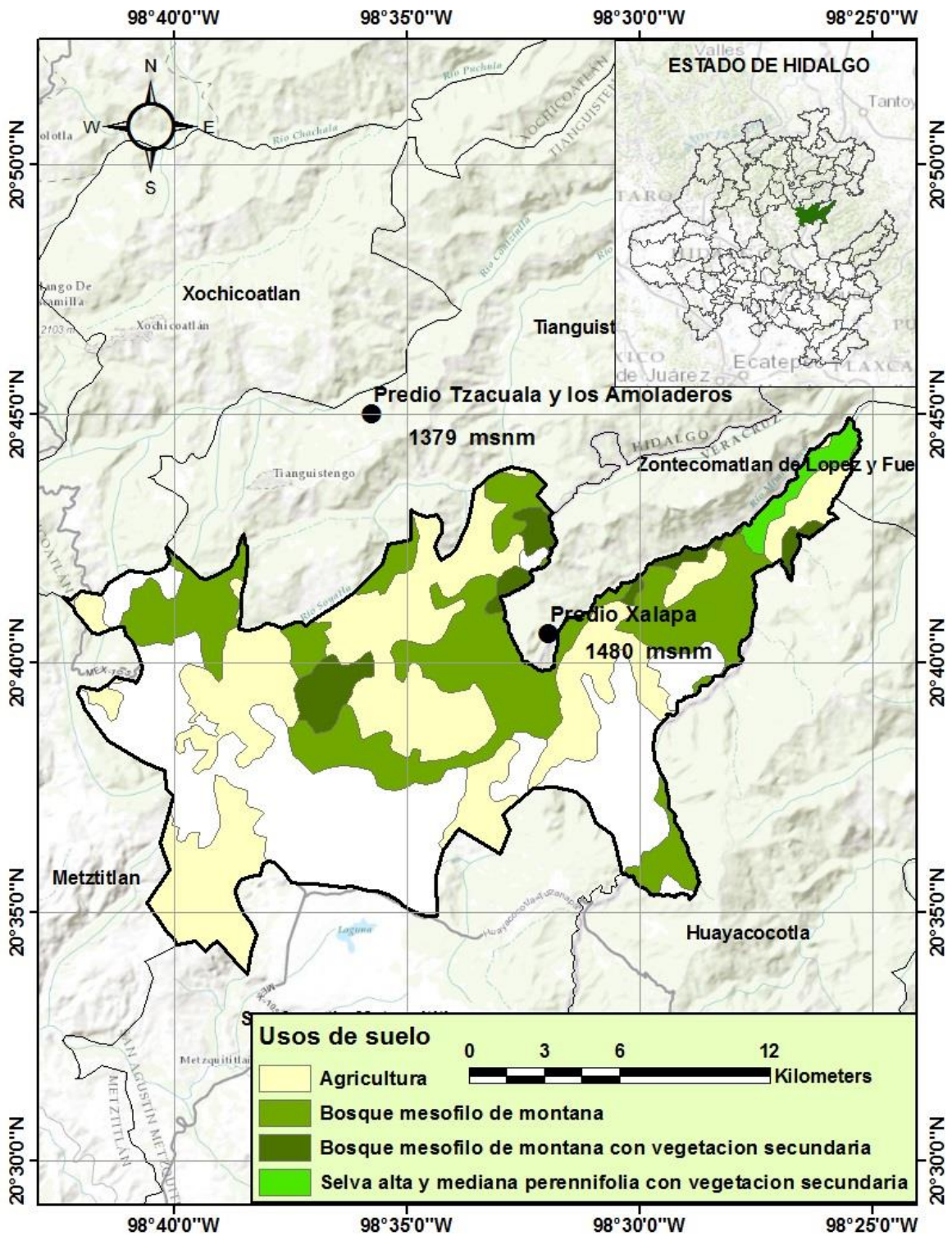


Figura 8. Mapa de uso de suelo del municipio de Zacualtipán en el estado de Hidalgo. En el mapa puede observarse la ubicación geográfica del predio “Xalapa”. Imagen Salvador Esparza. Fuente CONABIO 2011.

5.2 Desarrollo del proyecto de investigación

El trabajo de investigación se dividió en dos partes. La primera fue la fase de campo, en la que se recolectaron las muestras de resina y se determinó el grado de parasitosis de los árboles de *L. styraciflua* L. por efecto de *Phoradendron falcifer* Kuijt. La segunda consistió en el análisis de laboratorio, para la caracterización química de las resinas.

5.2.1 Fase de campo

La recolecta de resinas se efectuó en dos temporadas durante el 2013, en los meses de enero y junio correspondientes a las temporadas de sequía y lluvia, respectivamente. Se muestreó un total de 21 árboles, ubicados a diferentes altitudes en cada una de las comunidades visitadas (Cuadro 8), estas fueron: Matlatenco (Tianguistengo), Santa Lucía (Calnali), Tecpaco (Calnali) y Xalapa (Zacualtipán).

Cuadro 9. Relación de árboles muestreados por comunidad en Hidalgo.

Municipio	Comunidad	Predio	Altitud (m)	Coordenadas	No. Árboles
Tianguistengo	Matlatenco	Tzacuala y los Amoladeros	1379	^a 20° 44' 59.5"; ^b 98° 35' 44.1"	10
Calnali	Santa Lucía	La Ciénega	762	20° 55' 43.2"; 98° 35' 44.1"	3
	Tecpaco	Xochimilco	1398	20° 55' 21.0"; 98° 35' 42.6"	4
Zacualtipán	Xalapa	Xalapa	1480	20° 40' 34.1"; 98° 31' 56.7"	4
TOTAL					21

*a.= latitud norte; b= longitud oeste.

Meses antes de la recolección de resinas a varios árboles se les realizaron incisiones y cortes de canoa para inducir la producción de las resinas. Se eligieron aquellos árboles que presentaron resina al momento de la recolección en campo. Algunos de esos árboles fueron tratados durante

abril de 2012 (Figura 9 y 10), con inyecciones de ácido-2-cloroetilfosfónico (comúnmente llamado Etefón). Así mismo, se eligieron árboles que no se inyectaron pero fueron perforados y presentaron canoas extractivas durante la misma época (comunicación personal Cibrián, 2012).



Figura 9. Árbol de *Liquidambar styraciflua* perforado y tratado con inyecciones de Etefón, ubicado en el predio Xochimilco del municipio de Calnali. Fotografía Fátima Rasgado.



Figura 10. Árboles de *Liquidambar styraciflua* con canoa de resinación. A) Árbol ubicado en el predio la Ciénega del municipio de Calnali; B) Árbol ubicado en el predio Xalapa del municipio de Tlanguistengo. Fotografía Fátima Rasgado.

Las resinas se recolectaron con una espátula de acero inoxidable, en algunos casos se utilizó la ayuda de abate lenguas (Figura 11). Para las perforaciones con mayor profundidad en el fuste, se utilizaron jeringas de 10 mL acopladas a una aguja hipodérmica reutilizable para ganado bovino (Figura 12). Las muestras de cada árbol se depositaron en recipientes de vidrio. Durante la extracción de cada muestra la espátula y jeringa utilizadas se limpiaron con etanol al 100% para evitar contaminación entre muestras. En el caso de los abate lenguas, se usó uno por árbol muestreado. Posteriormente las muestras se cerraron herméticamente y se mantuvieron a temperatura ambiente (Anexo 1).



Figura 11. Pasos en la recolección de resina en árboles perforados de *Liquidambar styraciflua*. A) Se aflojó el tapón de plástico que cubría a la perforación; B) con ayuda de un desarmador y un martillo se removió el tapón; C) el tapón de plástico se retiró finalmente; D) se introdujo la espátula para remover la resina solida generada en la perforación; E) en algunos casos se extrajeron las resinas con ayuda de abate lenguas; F) la resina colectada se depositó en los recipientes correspondientes. Fotografía Fátima Rasgado.



Figura 12. Recolección de resina de *L. styraciflua*, con jeringa acoplada a una aguja hipodérmica para ganado bovino. Fotografía Fátima Rasgado.

El cuadro 10 muestra los nombres de los predios y las denominaciones que se usan a continuación para las muestras.

Cuadro 10. Nombres asignados a las muestras de resina para el análisis en laboratorio.

Municipio	Pedio	Denominación utilizada en el análisis	Árboles muestreados
Tianguistengo	Tzacuala y los Amoladeros	Tianguistengo	10
Calnali	La Ciénega	Santa Lucía	3
	Xochimilco	Xochimilco	4
Zacualtipán	Xalapa	Xalapa	4
TOTAL			21

5.2.1.1 Determinación del grado de parasitosis de los árboles de *L. styraciflua*

Para determinar el grado de parasitosis de los árboles muestreados se utilizó el sistema de evaluación de seis clases propuesta por Hawksworth (Hawksworth, 1977), usado generalmente para evaluar árboles infestados por muérdagos enanos. Este sistema evalúa de forma cualitativa la parasitosis de árboles infectados con muérdago; plantea dividir la copa del árbol en tres fracciones (Figura 13A), cada una de ellas se evalúa por separado. Se otorgan valores que van de cero a dos, de acuerdo al grado de parasitosis que se observe para cada fracción de la copa del árbol, al final se suman los valores designados a cada fracción y se obtiene una cifra del grado de parasitosis total del árbol (Figura 13B). Los valores del grado de parasitosis total por árbol con valores de 1-2 se clasificaron como árboles con nivel de infección leve. Valores de 3-4 se tomaron como un nivel de infección moderado y valores de 5-6 como infección severa (CONAFOR 2007).

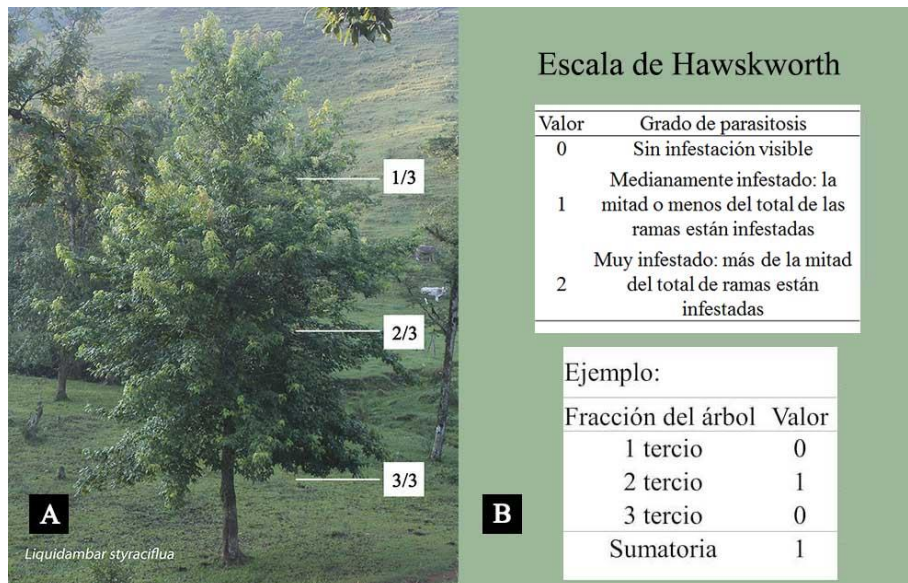


Figura 13. Determinación en campo del grado de parasitosis de *Phoradendron falcifer* sobre árboles de *Liquidambar styraciflua*, según la escala de Hawksworth. A) Fraccionamiento de la copa del árbol en tres secciones. B) Valores cualitativos de la escala y ejemplo de su uso en campo. Fotografía Fátima Rasgado.

5.3 Análisis fitoquímico de la resina de *Liquidambar styraciflua*

Para el análisis químico de las resinas se efectuaron pruebas preliminares para la determinación del disolvente a utilizar en la extracción de la resina, también se describieron las características organolépticas de las resinas. Así mismo, se hicieron diversos ensayos para determinar los metabolitos secundarios presentes y se determinó el grado de acidez.

5.3.1 Material vegetal

El material vegetal analizado consistió en muestras de resina provenientes de 21 árboles de *L. styraciflua*, colectadas en tres municipios del estado de Hidalgo, durante dos épocas de colecta (sequía y lluvia) (ver la sección sobre la fase de campo, 5.2.1).

5.3.2 Preparación de los extractos

Las pruebas preliminares para extracción de resinas, se hicieron probando tres disolventes, diclorometano (CH_2Cl_2), etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{O}$) y hexano (C_6H_{14}), grado analítico (J.T Baker®). Se tomó 1 mg de resina y se diluyó en 5 mL de disolvente.

Las muestras se extrajeron tres veces con 50 mL de diclorometano, el tiempo transcurrido para la primera extracción fue de 72 h. En las dos extracciones restantes las muestras se dejaron extraer 24 h.

Después de la extracción las muestras se filtraron con papel filtro Whatman® de poro 110 μm previamente saturado con diclorometano. Las tres extracciones se colectaron en un recipiente y se secaron con sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4 , marca J.T Baker®), posteriormente se filtraron con una bomba de vacío. Con el equipo de rota evaporación (Büchi® B-480) se evaporó la mayor cantidad de solvente posible. El residuo obtenido se colocó en viales de vidrio transparente de 1 mL con fondo plano y tapa de goma. Los viales se dejaron abiertos a temperatura ambiente por 24 h, para eliminar el resto del disolvente.

5.4 Descripción de las características organolépticas de resinas de *Liquidambar*

styraciflua

Los parámetros a describir fueron el olor, color, estado de agregación y apariencia de cada una de las muestras para las dos temporadas de colecta, tanto antes como después de ser extraídas con diclorometano (Anexos 2, 3 y 4).

5.5 Cromatografía en capa fina

Se utilizó el método descrito por Wagner & Blandt (2001) para la determinación de compuestos en aceites esenciales en cromatografía en capa fina. Como fase estacionaria se utilizaron placas de aluminio de 20 cm de largo por 20 cm de ancho, cubiertas por gel de sílice 60 con un espesor de 0.20 mm (Macherey-Nagel GmbH & Co. KG®).

Las placas fueron marcadas con una línea horizontal en cada extremo opuesto, la distancia entre ambas líneas fue de 18 cm, correspondientes a la distancia recorrida por el disolvente. Una de las líneas sirvió como referencia para el punto de aplicación de las muestras, la distancia entre ellas fue de 1.0 cm. Se tomaron 5 mg de resina de cada muestra que se disolvieron en 500 µL de diclorometano, se tomó una porción de la dilución y se aplicó con capilares de vidrio sobre las placas cromatográficas.

Los cromatogramas se desarrollaron en posición ascendente, en una cámara de vidrio para CCF, saturada durante 30 min con la mezcla de solventes de la fase móvil. La fase móvil estuvo formada de una mezcla de tolueno y acetato de etilo (ambos grado analítico J.T. Baker®), en proporción 93:7 v/v. Se usó vanilina-ácido sulfúrico (VAS: mezcla de una solución etanólica de vanilina al 1% y una solución etanólica de ácido sulfúrico al 10%) como reactivo de derivación en los cromatogramas. Después de la derivación las placas se colocaron en un horno previamente

calentado a 110 °C, durante 5-10 min hasta observar las bandas (compuestos). Los compuestos fueron detectados con luz UV (254 nm) proveniente de una cámara de luz UV especial para CCF.

Las bandas más representativas se identificaron visualmente y se marcaron. Se calculó el Rf de cada banda, el valor de Rf se reportó de acuerdo a un intervalo que abarcó desde el menor hasta el mayor valor, y de acuerdo a su presencia en la muestra de cada comunidad, para cada época de colecta. Dado que se identificaron los compuestos químicos en el análisis por CG-EM de los aceites esenciales extraídos de las resinas, no se utilizaron compuestos de referencia en los cromatogramas.

5.6 Valor ácido

Este método se basó en la determinación del valor ácido en aceites esenciales descrito por Williams (1996) y se aplicó a las resinas colectadas.

Para la evaluación de este parámetro de calidad, se hicieron dos repeticiones para cada muestra. Se pesaron 5 mg de cada resina, a las que se les añadió 200 µL de etanol (grado analítico J.T. Baker®), cada muestra se agitó por un minuto, posteriormente se agregaron 100 µL de solución alcohólica de fenolftaleína (J.T. Baker®) al 0.1%. Finalmente se titularon con solución de hidróxido de potasio 0.1 M.

Para calcular el valor ácido, se utilizó la ecuación descrita por la Norma Oficial Mexicana (NMX-F-101-SCFI-2012) para la determinación de ácidos grasos:

$$V.A. = \left(\frac{(Vol. \text{ de } KOH \text{ para titular } \times \text{ Normalidad de la sol. } KOH)(5.61)}{g \text{ de resina}} \right)$$

Donde V.A. = Valor ácido de la muestra analizada.

5.7 Fenoles totales

Para este análisis utilizamos el método descrito por Folin y Ciocalteu en 1927, dicha técnica fue modificada para las resinas y se hicieron análisis preliminares. Una vez estandarizada la técnica se tomó 5 mg de cada muestra de resina, se agregó 2 mL de agua destilada, posteriormente cada muestra fue agitada por un minuto; seguidamente se añadió 1 mL de solución acuosa de reactivo de Folin-Ciocalteu (en proporción 1:1), después de un minuto de haber agregado el reactivo de Folin y antes de transcurridos ocho minutos, se añadió 2 mL de solución de Na₂CO₃ (carbonato de sodio) al 20% y nuevamente se agitó cada muestra por alrededor de un minuto.

Después de procesar las muestras se dejaron en obscuridad total por un periodo de dos h y posteriormente se leyó la absorbancia en un espectrofotómetro (JENWAY® 6305) a una absorbancia de 760 nm.

El blanco consistió en una mezcla de 2 mL de agua destilada. Se añadió 1 mL de reactivo de Folin y 2 mL de carbonato de sodio, sin contenido de muestra.

Para la cuantificación de los fenoles totales, se elaboró una curva de calibración a partir de una solución de ácido gálico (C₆H₂ (OH)₃ COOH), a concentración de 20 µg mL⁻¹ de la cual se obtuvo la ecuación de la recta obtenida al graficar la curva de calibración.

5.8 Taninos condensados

En la determinación de taninos condensados se utilizó la técnica de Butanol-Ácido clorhídrico, también llamada técnica del butanol ácido, descrita por Scalbert (Scalbert, 1989 citado en Velmeris y Nicholson, 2008), la cual fue modificada para las resinas analizadas.

Se utilizaron 5 mg de resina disueltos en 2 mL de etanol (grado analítico J.T. Baker®), posteriormente se agregó 5 mL de solución de FeSO₄ (sulfato ferroso) disuelto en C₄H₁₀O-HCl (butanol-ácido clorhídrico) en proporción 3:2 respectivamente. Las muestras se agitaron por 30 s

y se colocaron durante 15 min a baño María previamente calentado a 95°C. Transcurrido este tiempo las muestras se dejaron enfriar durante 5 minutos y posteriormente se leyó la absorbancia a 530 nm. Para el blanco se tomaron 4 mL de etanol a los cuales se agregaron 10 mL de solución de sulfato ferroso disuelto en butanol-ácido clorhídrico, posteriormente se le aplicó el mismo tratamiento que a las muestras de resina.

La concentración de taninos condensados se puede determinar a partir del coeficiente de extinción molar ($\epsilon_{\text{mol}} = 34700 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Sin embargo, en este trabajo se preparó una curva de calibración con catequinas.

La curva de calibración se hizo a partir de una solución madre con una concentración de catequinas de $20 \mu\text{g mL}^{-1}$. Se realizaron varias diluciones utilizando desde 0-700 μL de la solución madre de catequinas y siguiendo el mismo procedimiento que se le dio a las muestras de resina. Para obtener la concentración de taninos condensados de las muestras de resina, se utilizó la ecuación de la recta obtenida al graficar la curva de calibración.

5.9 Extracción de aceites esenciales de resinas de *Liquidambar styraciflua*

La destilación por arrastre de vapor fue el método utilizado para extraer aceites esenciales de las resinas. Inicialmente se pensó destilar la resina de cada árbol muestreado, sin embargo, no en todos los casos se contó con la cantidad de muestra suficiente para ser destilada. Por ello se decidió agrupar todas las muestras de resina de cada comunidad por cada época de colecta y con ello se tuvo un total de 7 muestras. En la comunidad de Santa Lucía sólo se obtuvo aceite esencial para la época de sequía (Cuadro 10).

Para la hidrodestilación se utilizó un sistema de tipo Clevenger. Cada muestra de resina se sometió unos cuantos minutos a baño maría a una temperatura de entre 25-30 °C, hasta que las resinas estuvieran en estado líquido aparente. Seguidamente, las muestras se colocaron dentro de

un matraz de bola con capacidad de 100 mL; posteriormente se agregaron tres perlas de ebullición y un agitador magnético pequeño dentro del matraz y se añadieron 30 mL de agua destilada.

El equipo se montó sobre una placa calefactora acoplada a una placa de agitación magnética. Cada muestra permaneció en agitación constante a 90°C, por un periodo de 4 h continuas a partir de la ebullición. Transcurrido este tiempo, la emulsión de agua y aceite formada fue recuperada y posteriormente colocada dentro de un embudo de separación. Se hicieron tres lavados con 50 mL de diclorometano; el diclorometano recuperado se concentró en un rotavapor Büchi B-480® a 30°C, hasta evaporar la mayor cantidad de disolvente posible. El aceite obtenido se colocó en frascos de vidrio ámbar de 1 mL, se dejó evaporar el resto del disolvente durante 24 h a temperatura ambiente en una campana de extracción. Posteriormente se pesó y almacenó a 4°C hasta el momento de su análisis por CG-EM.

El rendimiento de aceite se reportó como porcentaje de aceite esencial. Este porcentaje se obtuvo multiplicando el peso del aceite libre de solvente por 100, y dividiéndolo entre el peso del material vegetal. Así mismo, se calcularon la media y desviación estándar del rendimiento de aceite esencial obtenido en cada comunidad, sin tomar en cuenta la época de colecta. Con la finalidad de observar que comunidad fue la más productiva.

Cuadro 11. Cantidad de resina utilizada en la extracción de aceites esenciales, por cada comunidad en cada época de colecta.

	SEQUIA	LLUVIA
Comunidad	Resina (g)	Resina (g)
Tianguistengo	33.94	48.65
Santa Lucía	4.80	0
Xochimilco	22.74	8.89
Xalapa	9.11	19.00

5.10 Análisis de aceites esenciales por cromatografía de gases acoplada a espectrofotometría de masas (CG-EM)

Para el análisis de los aceites esenciales se utilizó la técnica de CG-EM. Durante el análisis se utilizó un cromatógrafo Agilent Technologies® 6890 Series, acoplado a un detector de masas HP 5973. El sistema CG-EM usó una columna HP-5MS (5% fenil, 95% polidimetilsiloxano); con longitud de 30 m; diámetro interno I.D. 0.250 mm; grosor de la fase estacionaria 0.25 µm (J & W Scientific Columns from Agilent Technologies®). Se utilizó Helio como gas acarreador con un grado de pureza de 99.9 % a un flujo de 1 mL min⁻¹; la temperatura del horno comenzó en 60°C y aumentó 1°C min⁻¹ hasta alcanzar una temperatura de 220°C, en donde se mantuvo durante 3 min.

La temperatura del inyector en modo “splitless” fue de 250°C, a 7.96 psi; la temperatura de interfase fue de 280°C. Para el detector de masas, la temperatura de la fuente de iones fue de 230°C y la del cuadrupolo de 250°C. La energía de ionización fue de 70 eV. Cada muestra de aceite esencial se inyectó dos veces (1 µL cada vez, de una mezcla con proporción 95:5 de diclorometano-aceite esencial, respectivamente), en las condiciones mencionadas anteriormente.

En la validación e identificación de los compuestos presentes en los aceites, se utilizó una mezcla de *n*-alcanos (de C8-C40 carbonos marca Supelco Analytical®), para calcular los índices de Kovats.

Los índices de Kovats se calcularon a partir de la fórmula de Van de Dool y Kratz (Hübschmann, 2009):

$$I_k = 100 \cdot C + 100 \frac{(t'_R)_x - (t'_R)_C}{(t'_R)_C + 1 - (t'_R)_C}$$

Donde C es el número de carbonos en el compuesto, $(t'_R)x$ es el tiempo de retención corregido de los compuestos, el cual se calculó usando un compuesto de bajo tiempo de retención (tolueno), el tiempo de retención de este compuesto se restó al tiempo de retención de los alcanos y picos de muestra; $(t'_R)c + 1$ es el tiempo de retención corregido del alcano después del pico de interés, y $(t'_R)c$ es el tiempo de retención corregido del alcano antes del mismo pico (Hübschmann, 2009).

5.11 Análisis estadístico

Se hicieron dos análisis diferentes, el primer análisis determinó el efecto de las temporadas de colecta y la localización de las comunidades, sobre la concentración de los metabolitos. Este análisis involucró como variables, las concentraciones de fenoles totales y taninos condensados obtenidas por época de colecta y por cada comunidad. Los datos de la concentración se obtuvieron a partir de ecuaciones aplicadas a las curvas de calibración con ácido gálico (fenoles totales) y catequinas (taninos condensados). Por otro lado, también se analizó la calidad de las resinas, tomando como medida de calidad el valor ácido obtenido por época de colecta y por cada comunidad.

El segundo análisis se hizo para determinar el efecto de la parasitosis y la temporada de colecta, sobre la concentración de fenoles totales y taninos condensados, así como la calidad de las resinas en el valor ácido. Para este análisis sólo se tomó en cuenta a la comunidad de Tianguistengo, ya que fue la única comunidad con el mismo número de árboles parasitados y no parasitados.

En los dos análisis los datos se analizaron mediante el procedimiento MIXED del programa estadístico SAS versión 9.0 (SAS Institute Inc. Campus Drive, Cary, North Caroline USA),

acoplado con el programa pdmix800 para SAS, ajustando las medias a una prueba de Tukey-Kramer.

6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Parasitosis en árboles de *Liquidambar styraciflua*

De los 21 árboles muestreados de *Liquidambar*, 8 árboles no presentaron parasitosis por *P. falcifer*, 5 los cuales se encuentran en Tianguistengo y 3 en Santa Lucía. De los 13 árboles que presentaron diferentes grados de parasitosis, sólo 2 árboles tuvieron el máximo nivel de infestación (grado 5, en una escala de 0-5); dichos individuos se ubicaron en las comunidades de Xochimilco y Xalapa (Cuadro 11).

En el estado de Hidalgo se tiene reportado a *Phoradendron falcifer* sobre árboles de *Liquidambar styraciflua* en un gradiente altitudinal de 903-1993 m (Cibrián-Tovar y Cibrián-Llenderal, 2011). Estos datos concuerdan con los recabados en el presente trabajo, para los municipios muestreados en Hidalgo, donde se encontraron árboles parasitados por *P. falcifer* en altitudes de 1398 m (Xochimilco, Calnali), 1379 m (Tianguistengo) y 1480 m (Xalapa, Zacualtipán). Esto sugiere que en los sitios muestreados *P. falcifer* no modificó para 2013 el patrón de desplazamiento en el intervalo de altitudes reportadas en 2011 para el estado de Hidalgo.

En los estados de Querétaro y Michoacán también se ha reportado la presencia de *P. falcifer* sobre *L. styraciflua*, en altitudes desde 1550-2100 m (Rzedowski y Calderón-Rzedowski, 2011) y 2370 m (Vázquez-Collazo *et al.*, 2006) respectivamente.

En Querétaro y Michoacán *P. falcifer* ha rebasado los valores altitudinales reportados en Hidalgo, lo que indica que podría encontrarse en sitios a mayor altitud.

Cuadro 12. Evaluación de la infección de *Phoradendron falcifer* en árboles de *Liquidambar styraciflua*.

Evaluación de infección por <i>P. falcifer</i> en árboles de <i>L. styraciflua</i>					
Comunidad	No. Árbol	1/3 de copa	2/3 de copa	3/3 de copa	Nivel de infección del árbol
Tianguistengo	1	1	1	1	3
	2	1	1	0	2
	3	0	0	0	0*
	4	0	0	0	0*
	5	0	0	0	0*
	6	0	1	1	2
	7	1	1	0	2
	8	1	1	1	3
	9	0	0	0	0*
	10	0	0	0	0*
Xochimilco	1	0	1	0	1
	2	2	2	1	5**
	3	0	1	1	2
	4	2	2	0	4
Santa Lucía	1	0	0	0	0
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0
Xalapa	1	1	2	0	3
	2	1	1	0	2
	3	2	2	1	5**
	4	1	1	0	2

Nota: *Árboles que no presentaron parasitosis. **Árboles parasitados con mayor grado de infestación. 0= sin infestación; 1-2= infestación leve; 3-4= infestación moderada; 5-6= infestación severa. Árboles con grado de infección de 1-2 son susceptibles a tratamiento de poda de saneamiento. Árboles con grado de infección de 3-6 requieren un programa de manejo (CONAFOR, 2007).

6.2 Rendimiento de resinas

Se escogió al diclorometano como solvente para la maceración de las muestras, por su capacidad para diluir a las resinas.

Se esperaba encontrar diferencias en la cantidad total de resina cosechada (rendimiento) entre las comunidades, debido a que el número de individuos muestreados no fue el mismo en cada una. Tianguistengo fue la comunidad con más individuos (10 árboles) y de la que se obtuvo mayor cantidad de resina en las dos colectas. En la época de colecta, también se esperaba encontrar diferencias, sin embargo, el análisis estadístico no mostró diferencias significativas en el rendimiento de resina entre comunidades, así como entre las épocas de colecta y en la interacción de estas dos variables (Figura 14 y Cuadro 13).

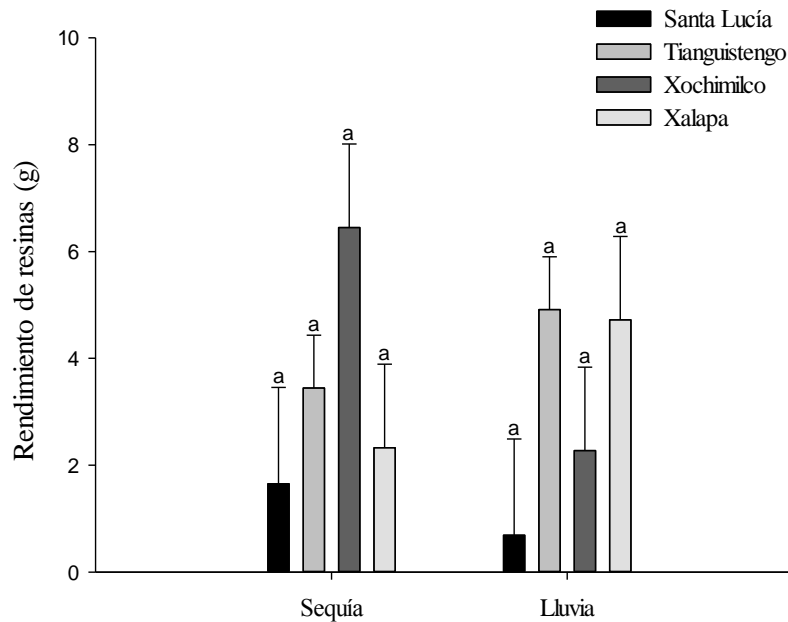


Figura 14. Rendimiento de resinas de *L. styraciflua*, colectadas en dos temporadas, sequía y lluvia, provenientes de diferentes comunidades del estado de Hidalgo. Las líneas sobre las barras representan la media del total de resina colectada por comunidad. Barras sin superíndice en común son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

Cuadro 13. Rendimiento de resinas de *Liquidambar styraciflua* colectadas en época de sequía y lluvia.

Época	Santa Lucía	Tianguistengo	Xochimilco	Xalapa	P>
Sequía	1.652a±1.803	3.444a±0.988	6.452a±1.562	2.328a±1.562	0.135
Lluvia	0.689a±1.803	4.916a±0.988	2.273a±1.562	4.723a±1.562	0.135

*Se reportan la media y el error estándar para cada comunidad, en cada época de colecta. Medias sin superíndice en común son significativamente diferentes ($P < 0.05$). El número de árboles muestreados varió en cada comunidad (Tianguistengo 10 muestras, Santa Lucía 3 muestras, Xochimilco 4 muestras y Xalapa 4 muestras).

En Honduras la mayor producción de resina se obtiene en la temporada de lluvias que inicia en el mes de junio y termina en diciembre, a partir de junio mensualmente los recolectores llegan a los rodales de liquidámbaar y hacen entre 5 a 7 colectas, con un promedio de 6 colectas hasta el mes de diciembre (Reitzenstein, 2007). Desafortunadamente estos datos no presentan un análisis estadístico que pudiera compararse con los datos del rendimiento de resina obtenidos en el presente trabajo. Sin embargo, la época de colecta con mayor rendimiento de resina en Honduras concuerda con la época de mayor rendimiento en Hidalgo.

Aunque nuestro análisis estadístico no demuestra diferencias en las variables analizadas (Figura 20), no podemos dejar de lado el hecho de que cuando se trabaja con modelos biológicos como los árboles, existen diversos factores ambientales que podrían influir en la producción de resina, independientemente de las variables consideradas.

Una causa importante a tomar en cuenta son los llamados factores intrínsecos que afectan a cada árbol, tales como la tensión de la madera, lesiones internas, entre otras, que pueden ocasionar la formación de canales resiníferos (Langenheim, 2003; Fanh, 1990; Evert, 2006 citado en Fromm, 2013; Lee & Eom, 1988 citado en Gardiner, *et al.*, 2014). Así mismo, las diferencias dasométricas entre los árboles, así como el número de canoas o perforaciones, fueron parámetros

que no se tomaron en cuenta en este trabajo y que quizás podrían influir en el rendimiento de resina.

Otro factor para tomar en cuenta en el rendimiento de resinas es la evolución en las plantas. Se sabe que las gimnospermas tienen un mayor porcentaje de producción de resinas que va de 0.8 al 25%, con respecto a las angiospermas que presentan valores de 0.7 al 3% (Pallardy, 2007).

En Honduras, es común encontrar diferencias en el volumen de resina colectada por árbol de *L. styraciflua*, debido a factores como la edad, tamaño y vitalidad de los árboles (Reitzenstein, 2007). Otro de los factores que influyen en el volumen de resina cosechada, según lo que mencionan los recolectores de resina en Honduras, es la formación de venas o bolsas de resina en los troncos de los árboles de liquidámbar, como respuesta a heridas internas, (Reitzenstein, 2007).

6.3 Características organolépticas de las resinas de *Liquidambar styraciflua*

Los elementos cualitativos que se observaron en las resinas antes de procesar incluyeron el contenido de impurezas y cuerpos extraños, estado de agregación, olor y color. Casi todas las muestras de resina presentaron componentes diferentes a su naturaleza, tales como trozos de corteza del mismo árbol (Figura 15). Algunas partes de la corteza presentaron hongos en la superficie, a su vez se encontró pelo de vaca y sedimentos de partículas oscuras no identificadas. La mayoría de las muestras se recolectaron en estado semisólido, aunque algunas fueron sólidas. Los colores que presentaron fueron amarillo claro, café oscuro, miel, ámbar, blanco y café muy oscuro casi negro. El olor predominante en todas las muestras en las dos épocas de colecta fue el que es característico de la resina (Anexo 2 y Anexo 3).

Las características de las resinas sin procesar, como la viscosidad y el estado físico, concuerdan con las características físicas reportadas para la resina en crudo de *L. styraciflua*

producida en Honduras (Gutiérrez, 2011), ésta también es viscosa y puede ser semisólida; respecto al color, sólo se reporta una coloración marrón y no se menciona el olor.

La FAO en su publicación sobre productos forestales no maderables (Ciesla, 2002), describe a la resina de *L. styraciflua* como pegajosa, café y semisólida. La FAO (1995) indicó en un capítulo referente a gomas, látex y resinas, que la calidad de la resina de *L. styraciflua* es de mejor calidad que la que se ofrece comercialmente en Asia, correspondiente a la especie *Liquidambar orientalis*.

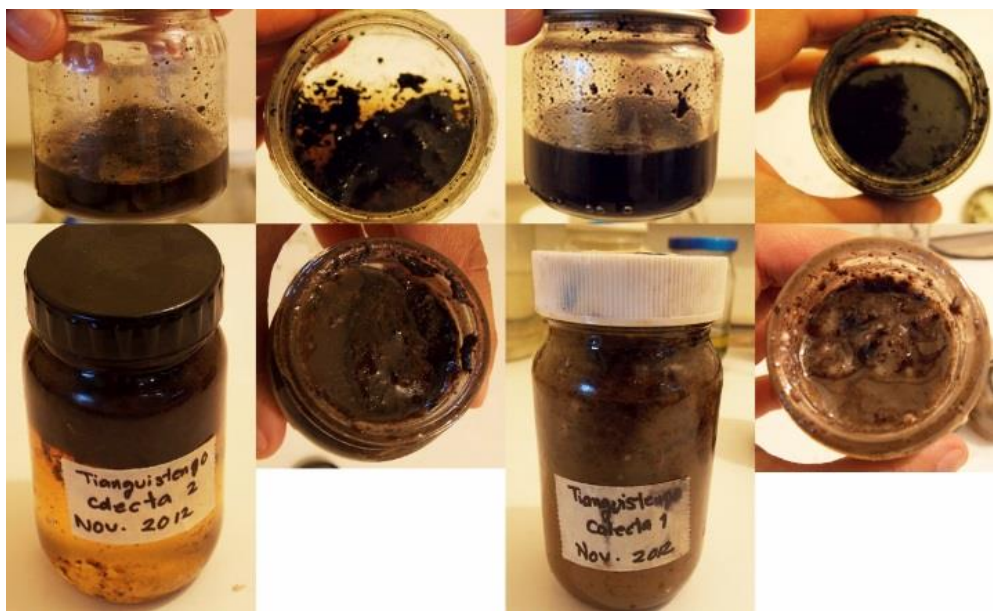


Figura 15. Resinas de *Liquidambar styraciflua* sin procesar, colectadas en época de sequía. Pueden observarse algunas impurezas en las muestras provenientes de Tianguistengo, Hidalgo. Fotografía Fátima Rasgado.

Después de ser procesadas con diclorometano, la mayoría de las resinas fueron levemente viscosas en las dos temporadas de colecta (Figura 16). Sin embargo, cuatro muestras presentaron mayor viscosidad, T4 (Tianguistengo), Xo4 (Xochimilco) y Xal1 (Xalapa) en época de sequía y

Stl3 (Santa Lucía) en época de lluvia. Sólo cinco muestras presentaron un estado casi sólido o semisólido, que corresponden a las muestras T4 y T10 (Tianguistengo), Xo2 y Xo4 (Xochimilco) y Xal1 (Xalapa), todas de la época de lluvia (Anexo 4).

Los colores de la época de sequía fueron ámbar, café oscuro, amarillo-ámbar, rojo-ámbar y ámbar con residuos de resina blanca. Para la época de lluvia los colores observados fueron amarillo-ámbar, amarillo claro, rojo-ámbar, café oscuro y café claro (Anexo 4). El olor predominante en las muestras tanto en sequía como en lluvia, fue el característico de las resinas con notas de olor a miel y algunas presentaron notas a madera.

La viscosidad y el estado físico de las resinas procesadas concuerdan con las descripciones de resinas que se comercializan en diversos sitios en internet. Así mismo presentan variación en el color y olor, tal como lo describen algunos proveedores de resinas en el mercado (Cuadro 14).



Figura 16. Resinas procesadas de *L. styraciflua*, colectadas en época de sequía. En esta imagen puede apreciarse la coloración particular de muestras provenientes de Tianguistengo. De izquierda a derecha las muestras corresponden a los árboles de 1-5 y de arriba hacia abajo a los árboles 6-10. Fotografía Fátima Rasgado.

Cuadro 14. Características físicas y organolépticas de resinas de *Liquidambar styraciflua*, que se comercializan por en diversos sitios en internet.

Producto	Viscosidad	Estado físico	Color	Olor	Empresa proveedora
Extracto de resina de styrax	-	Líquido	Café	Dulce/resinoso	Penta International Corporation 50 Okner Parkway, Livingsgton, New Jersey 07039, USA. www.pentamfg.com
Styrax resina de Honduras	Viscoso	Líquido	Marrón pálido	Dulce/floral y picante	The John D. Walsh Company, Inc. 25 Executive Parkway, Ringwood, New Jersey 07456, USA. www.johndwalsh.com
Honduras styrax gum	-	Líquido	Rojizo/Amarillo claro	Parecido al olor del ámbar gris	Olibanum, una división de Graziani Vía Karol Wojtila No.6, Zona industrial Pian di Laura, Lorenzana, Pisa 56043, Italia. www.olibanum.net
Storax resina de Honduras	Viscoso	Semi-líquido	Obscuro	Notas a miel	Soma Luna LLC. Bloomington, Indiana 47402, USA. www.somaluna.com
Styrax resina de Honduras	Viscoso	Líquido	Ámbar	-	Sigma-Aldrich Química S. de R.L. de C.V. Parque Industrial Toluca 2000, calle 6 Norte No.107, Toluca 50200, México. www.sigmaaldrich.com/mexico.html

6.4 Cromatografía en capa fina

En la cromatografía en capa fina se empleó el método descrito por Wagner & Bladt (2001) para la identificación de compuestos presentes en aceites esenciales, los cuales generalmente contienen alcoholes terpénicos, aldehídos, cetonas, esteres y derivados del fenilpropano. Esta técnica también ha sido utilizada en la determinación de estos mismos compuestos en bálsamos, gomas y oleorresinas (Wagner & Bladt 2001).

Los resultados de la derivación con vainillina-ácido sulfúrico (VAS), mostraron que en las resinas de Hidalgo, hay mayor número de bandas en época de sequía (Figura 17), con respecto a la época de lluvia. Esto significa que estas muestras contienen un mayor número de compuestos químicos.

Se observó que las muestras de resina provenientes de la misma comunidad (Figura 18) mostraron mayor similitud en el número y color de banda durante la época de lluvia que en sequía.

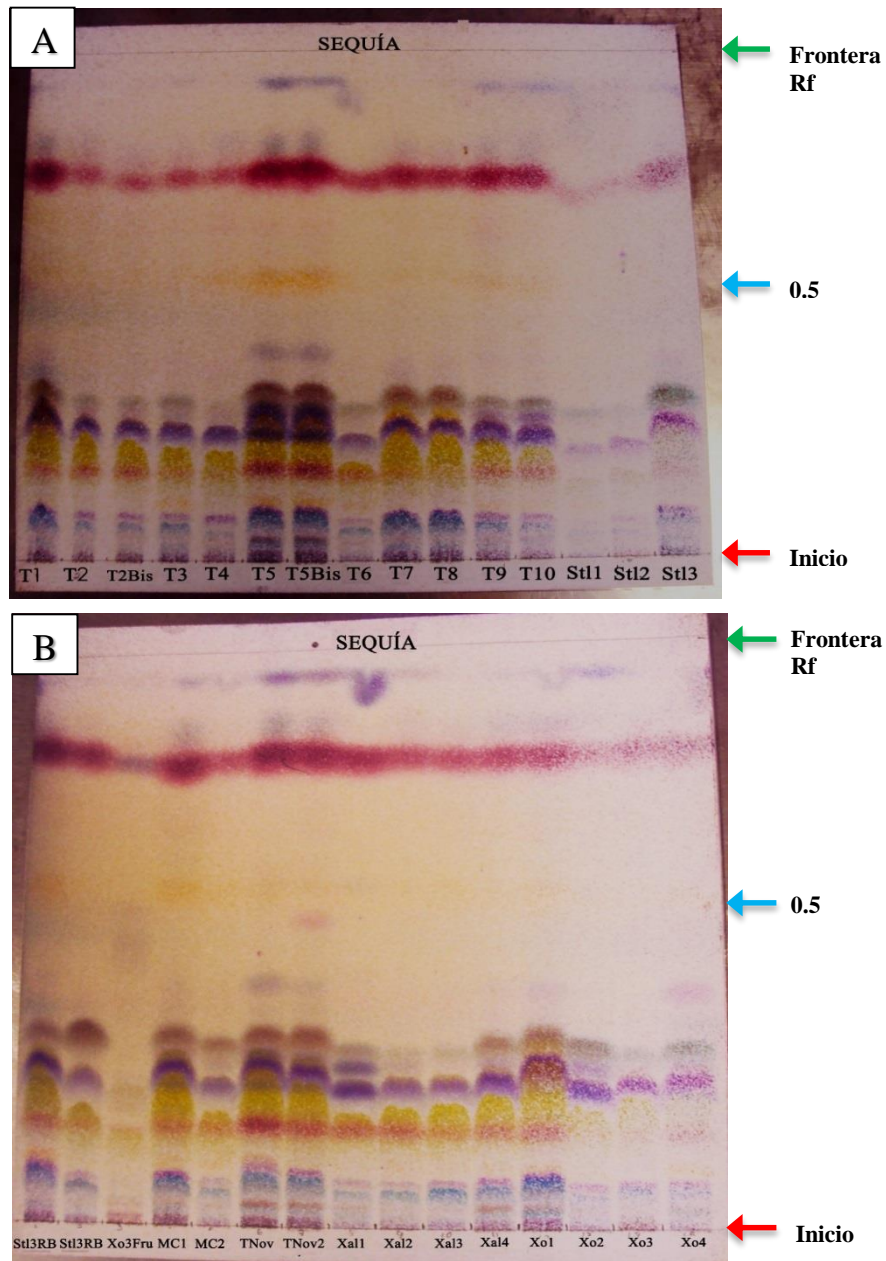


Figura 17. Cromatogramas de resinas de *Liquidambar styraciflua*, colectadas en época de sequía. Las muestras de resina de cada comunidad, están colocadas según el orden de aparición. A) T1-T10, Tianguistengo y St11-St13 Santa Lucía. B) Xal1-Xal4, Xalapa. Xo1-Xo4, Xochimilco.

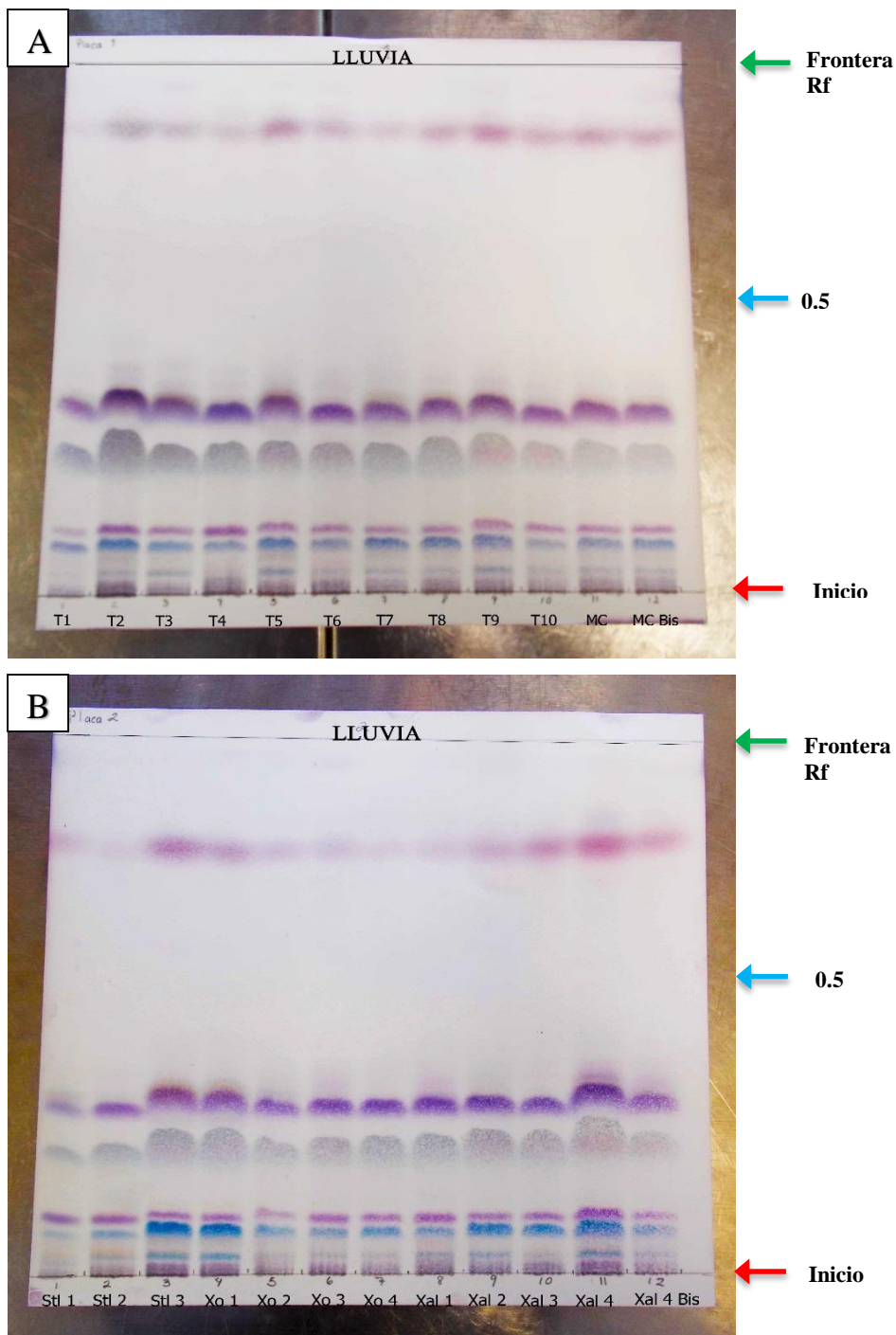


Figura 18. Cromatogramas de resinas de *Liquidambar styraciflua*, colectadas en época de lluvia. Las muestras de resina de cada comunidad, están colocadas según el orden de aparición. A) T1-T10, Tianguistengo. B) Stl1-Stl3, Santa Lucía; Xo1-Xo4, Xochimilco; Xal1-Xal4, Xalapa.

Cuadro 15. Número de bandas encontradas en los cromatogramas por CCF de resinas de *Liquidambar styraciflua*. Se presentan los datos de resinas provenientes de cada árbol por comunidad, en la época de sequía y lluvia.

Árbol por comunidad	Sequía	Lluvia
T1	16	6
T2	13	8
T3	14	9
T4	14	7
T5	20	9
T6	11	8
T7	13	7
T8	13	7
T9	16	8
T10	15	8
Stl1	12	8
Stl2	12	8
Stl3	13	8
Xo1	19	7
Xo2	16	7
Xo3	11	7
Xo4	13	7
Xal1	14	7
Xal2	15	7
Xal3	13	7
Xal4	17	7

Nota: Las abreviaturas con letra y número corresponden al sitio y número de árbol muestreados respectivamente; **Stl**: Santa Lucía, árboles del 1-3; **T**: Tianguistengo, árboles del 1-10; **Xo**: Xochimilco, árboles del 1-4; **Xal**: Xalapa, árboles del 1-4.

En sequía tres bandas estuvieron presentes en todas las comunidades (Cuadro 16), las cuales corresponden a bandas en color púrpura (R_f entre 0.001-0.2), morado (R_f entre 0.2-0.3) y magenta (R_f entre 0.65-0.7). En la temporada de lluvia se observaron cinco bandas sobresalientes

en todas las comunidades (Cuadro 16), las bandas corresponden a los colores azul (Rf entre 0.08-0.09), lila (Rf entre 0.09-0.12), morado (Rf entre 0.30-0.34), gris (Rf entre 0.21-0.24) y magenta (Rf entre 0.78-0.87).













Las muestras de Santa Lucía (Stl1, Stl2 y Stl3) presentaron colores menos intensos en las bandas de la época de sequía, con respecto a la época de lluvia. En época de sequía Stl1, Stl2 y Stl3 presentaron bandas en púrpura (Rf=0.006), azul (Rf=0.04), morado (Rf=0.20) y magenta (Rf=0.70). En la misma época sólo Stl3 presentó una banda verde olivo (Rf=0.20); Stl1 fue la única muestra en presentar bandas en gris (Rf=0.26) y azul violeta (Rf=0.82); Stl1 y Stl3 presentaron una banda en lila (Rf=0.91). En la época de lluvia, Stl1, Stl2 y Stl3 mostraron bandas en púrpura (Rf=0.02), azul (Rf=0.08), lila (Rf=0.10), morado (Rf=0.32), gris (Rf=0.22) y magenta (Rf=0.78). En esa misma época sólo Stl2 y Stl3 exhibieron una banda celeste (Rf=0.03). Mientras que Stl1 fue la única en presentar una banda amarilla (Rf=0.04).

En Tianguistengo en la temporada de sequía T1 a T10 presentaron bandas en color púrpura (Rf= 0.01), verde olivo (Rf= 0.20), morado (Rf=0.22) y magenta (Rf=0.72). Durante la misma temporada T1, T2, T3, T5, T6, T7, T8, T9 y T10 mostraron una banda azul (Rf=0.07); T2, T3, T4, T6, T9 y T10 presentaron una banda gris (Rf=0.28). Una banda azul violeta (Rf=0.80) se observó en T1, T2, T4, T5, T6, T7, T8, T9 y T10, mientras que una banda lila (Rf=0.92) se presentó en T1, T3, T5, T6, T7 y T10. En la época de lluvia no se encontraron diferencias en las bandas de T1-T10, las bandas observadas fueron púrpura (Rf=0.01), celeste (Rf=0.04), azul (Rf=0.08), lila (Rf=0.11), morado (Rf=0.33), gris (Rf=0.24) y magenta (Rf=0.87).

Xochimilco presentó bandas con colores menos intensos durante la temporada de sequía. En esta época las bandas observadas en Xo1-Xo4 fueron púrpura (Rf=0.001), azul (Rf=0.08), verde olivo (Rf=0.18), morado (Rf=0.23) y magenta (Rf=0.7). Sólo una banda en azul violeta

(Rf=0.8) estuvo presente en Xo1 y Xo2. En esta misma comunidad durante la época de lluvia se observaron bandas en púrpura (Rf=0.02), celeste (Rf=0.03), azul (Rf=0.08), lila (Rf=0.10), morado (Rf=0.30), gris (Rf=0.22) y magenta (Rf=0.78).

Cuadro 16. Esquema de las bandas más representativas con su respectivo valor de Rf, encontradas en los cromatogramas por CCF de las muestras de resina de *Liquidambar styraciflua*, colectadas en época de sequía y lluvia.

Color	<i>Sequía</i>		<i>Lluvia</i>	
	Muestra	Rf	Muestra	Rf
 Púrpura	Todas	0.001-0.2	Presente en todas	0.01-0.03
 Celeste	*	*	La mayoría excepto Stl1	0.03-0.04
 Amarillo	*	*	Sólo Stl1-Stl3 y Xal1	0.04-0.06
 Azul	La mayoría excepto T4, Stl1 y Stl2	0.08-0.09	Todas	0.08-0.09
 Verde olivo	La mayoría excepto Stl1 y Stl2	0.15-0.2	*	*
 Lila	*	*	Todas	0.09-0.12
 Morado	Todas	0.2-0.3	Todas	0.30-0.34
 Gris	La mayoría excepto T1, T5, T7, T8, Stl2, Stl3, Xo1-Xo4 y Xal4	0.25-0.3	Todas	0.21-0.24
 Magenta	Todas	0.65-0.7	Todas	0.78-0.87
 Azul-violeta	La mayoría excepto T3, T6, Stl2, Stl3, Xo3, Xo4 y Xal1-Xal3	0.7-0.8	*	*
 Lila	Sólo T1, T3, T5, T6, T10, Stl1 y Stl3	0.9-0.94	*	*
 Violeta	Sólo Xo1-Xo4, Xal1, Xal2 y Xal4	0.9-0.95	*	*

Nota: Los asteriscos indican que no se encontró la banda en el cromatograma durante esa época de colecta. Los colores de las bandas se obtuvieron después de utilizar vanilina-ácido sulfúrico como reactivo de derivación. Las condiciones de la CCF se mencionan en el texto, los colores que aparecen en el cuadro pueden compararse con aquellos que presentan los cromatogramas originales en las Figuras 21 y 22.

En Xalapa durante la época de sequía en Xal1-Xal4 se encontraron bandas en púrpura (Rf=0.01), azul (Rf=0.08), verde olivo (Rf=0.19), morado (Rf=0.24), magenta (Rf= 0.7). Sólo Xal1, Xal2 y Xal3 presentaron una banda en gris (Rf=0.3); Xal 4 fue la única muestra en presentar una banda azul violeta (Rf= 0.86); sólo Xal1, Xal2 y Xal4 presentaron una banda violeta (Rf=0.94). En la época de lluvia Xal1-Xal4 presentaron bandas en color púrpura (Rf=0.02), celeste (Rf=0.04), azul (Rf=0.08), lila (Rf=0.10), morado (Rf=0.31), gris (Rf=0.23) y magenta (Rf=0.79).

Son escasos los trabajos que mencionan el empleo de la cromatografía en capa fina aplicada a resinas, bálsamos y oleorresinas. Sin embargo, algunos exudados como el bálsamo del Perú (*Myroxylon pereirae* (Royle) Klotzsch), el bálsamo de Tolú (*Myroxylon balsamum* (L.) Harms), el benjuí de Sumatra (*Styrax benzoin* Dryand.) y el benjuí de Siam (*Styrax tonkinensis* (Pierre) Craib ex Hartwich), han sido analizados con esta técnica, utilizando las mismas condiciones de fase móvil y estacionaria (Wagner & Bladt 2001) utilizadas en el presente trabajo. Los bálsamos antes mencionados presentan algunos compuestos en común, entre sí mismos y con especies del género liquidámbar como *L. styraciflua* y *L. orientalis*.

Algunos de esos compuestos son el ácido cinámico, ácido benzoico, cinamato de cinamilo, benzoato de cinamilo, cinamato de propilo, benzoato de cumarilo, cinamato de coniferilo y benzoato de bencilo, que pueden observarse en análisis por cromatografía en capa fina. Estos compuestos aparecen en formando bandas características en colores azul y violeta (Cuadro 17), cuando se usa como reactivo de derivación VAS (Wagner & Bladt 2001). Nuestros cromatogramas presentaron bandas que coinciden con los colores azul y violeta reportados para los compuestos antes mencionados (Cuadro 16).

Cuadro 17. Compuestos de referencia utilizados en CCF por Wagner & Bladt (2001), comparados con las bandas y Rf de resinas de *Liquidambar styraciflua* de Hidalgo.

Compuesto de referencia	Intervalo de Rf	Banda con la que coincide	Intervalo de Rf de la banda que coincide
Ácido cinámico-ácido benzoico	0.05-0.1	Púrpura	0.001-0.2
Cinamato de cinamilo-cinamato de propilo	0.25-0.3	Gris	0.25-0.3
Benzoato de bencilo-benzoato de cinamilo	0.7-0.8	Azul-violeta	0.7-0.8

6.5 Valor ácido

Se determinó el valor ácido de las resinas de *L. styraciflua*, con el propósito de contar con un análisis que midiera su calidad, previendo que a futuro estas puedan comercializarse en México. En general este análisis es aplicado a cualquier tipo de aceite esencial. Sin embargo, en el caso de *L. styraciflua*, la resina y no el aceite esencial es la forma más común de comercialización de los recolectores en Honduras (Reitzenstein, 2007; Gutiérrez, 2011), principal productor en América. Esto se debe a que no todos los recolectores cuentan con los aparatos necesarios para extraer los aceites esenciales.

Se observó que las resinas de la comunidad de Tianguistengo presentaron mayor valor ácido, que fue de 20.3, con respecto de las demás comunidades. Santa Lucía tuvo un valor ácido de 18.3, seguida de Xalapa con 16.4 y Xochimilco fue la comunidad con menor valor ácido 16.3. Estos resultados no fueron significativamente diferentes.

El análisis estadístico del valor ácido por temporada de colecta señaló que en época de lluvia se obtuvo mayor valor ácido con respecto a la época de sequía. Estos datos mostraron diferencias significativas (Figura 19). Por otro lado, en la comparación estadística de comunidad y época de colecta, se observó que en sequía las resinas de Tianguistengo presentaron mayor valor

ácido (17.7), comparado con el de las otras comunidades, aunque estadísticamente no hubo diferencias significativas entre ellas (Figura 20).

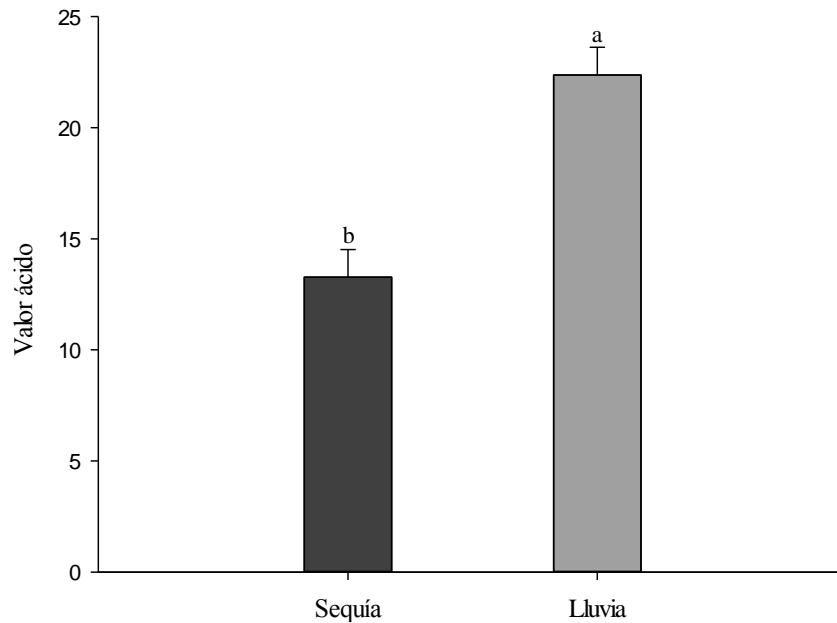


Figura 19. Valor ácido de las resinas evaluadas en dos temporadas de colecta, sequía y lluvia. Las barras representan la media y las líneas sobre las barras el error estándar. Barras sin superíndice en común son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

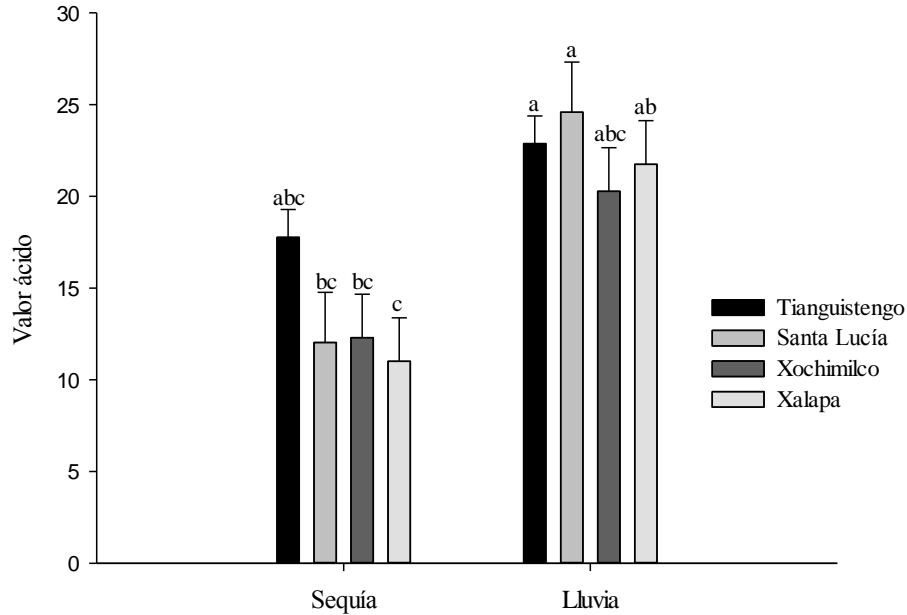


Figura 20. Valor ácido de resinas, evaluación entre comunidades y épocas de colecta. Las barras representan la media y las líneas sobre las barras el error estándar. Barras sin superíndice en común son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

No se encontraron diferencias significativas en el valor ácido de las resinas entre comunidades en la época de lluvia. Sin embargo, al comparar los valores obtenidos en sequía y lluvia, el valor ácido de Santa Lucía y Xochimilco fue significativamente mayor en lluvia respecto a sequía (24.5 y 20.2 respectivamente), Tianguistengo y Xochimilco no presentaron diferencias significativas entre épocas de colecta.

En general los resultados muestran una tendencia del efecto de la época de colecta sobre el valor ácido de las resinas. La temporada de colecta parece tener mayor incidencia en el contenido de ácidos libres en las resinas de *L. styraciflua*, más que el sitio de extracción en las comunidades.

Mientras la presencia de ácidos libres en gran cantidad en las resinas disminuye la calidad de las mismas, las cantidades absolutas encontradas en este trabajo no fueron altas, comparadas con los datos reportados en la literatura. El valor ácido reportado para la resina de liquidámbar en su versión comercial denominada storax, es de 50-85 para la especie *L. orientalis* y de 36-85 para *L. styraciflua* según datos del sitio en internet “pharmacopeia on line” (http://www.uspbpep.com/us/usp32/pub/data/v32270/usp32nf27s0_m78290.html). En cualquier caso, la época de sequía parece ser la mejor temporada para encontrar resinas de mejor calidad en el estado de Hidalgo.

Algunos otros exudados similares al styrax, como el bálsamo de Tolú han presentado valores de 100-160 (Gaud, 2008). Para el aceite destilado del mismo bálsamo se reporta un valor ácido de 24-80 (Burdock, 1997). En el caso del bálsamo de Perú se reportan valores entre 56.2-83, (Burdock, 2002). El valor ácido presentado por las resinas de *L. styraciflua* de Hidalgo tanto en época de sequía como de lluvia, está por debajo de los valores reportados para la resina de Honduras, así como de los bálsamos antes mencionados. Es importante mencionar que el contenido de ácidos libres en cualquier resina o aceite esencial, tiende a incrementar con el transcurso del tiempo, debido a la oxidación de los aldehídos y la hidrólisis de esteres (Williams, 1996).

6.6 Fenoles totales

La determinación de fenoles totales es un análisis que se practica a resinas o gomas, así como especies de interés forestal, alimenticio o farmacéutico. Generalmente se evalúa la corteza de los árboles, pero no las resinas directamente (Sultana *et al.*, 2007; Aspé & Fernández, 2011; Sharma *et al.*, 2013).

En las especies forestales, suelen existir depósitos de compuestos fenólicos, los cuales se observan en células del parénquima, así como en los canales resiníferos, en la lámina media, en

espacios intercelulares y en la pared celular de los vasos y traqueidas (Grosser *et al.*, 1974, citado en Fromm, 2013; Koch *et al.*, 2003; Kleist & Schmitt, 1999 citado en Fromm, 2013). Conjuntamente con la presencia de compuestos fenólicos en los canales resiníferos, algunas resinas pueden contener este tipo de compuestos. Estas resinas suelen denominarse resinas fenólicas y son características de las angiospermas; pueden ser secretadas desde el interior, o sobre la superficie de las plantas (Langenheim, 2003).

La comunidad de Xalapa presentó mayor concentración de fenoles totales ($65.3 \mu\text{g mL}^{-1}$), con respecto a Xochimilco que presentó valores más bajos ($16.2 \mu\text{g mL}^{-1}$). Aún con estos valores, la variabilidad entre las muestras fue tal que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las comunidades.

La concentración de fenoles totales por época de colecta en todas las comunidades, indicaron una mayor concentración en la época de sequía, con respecto a la época de lluvia (73.2 y $28.4 \mu\text{g mL}^{-1}$ respectivamente), esta diferencia entre épocas de colecta fue significativa (Figura 21).

En la Figura 22 se muestra que las comunidades de Tianguistengo, Xochimilco y Xalapa presentaron mayor concentración de fenoles totales durante la época de sequía (74.8 , 77.8 y $110.5 \mu\text{g mL}^{-1}$ respectivamente) con respecto a la época de lluvia, con diferencias altamente significativas. Santa Lucía en cambio presentó mayor concentración de fenoles totales en época de lluvia ($65.2 \mu\text{g mL}^{-1}$), con respecto a la época de sequía ($29.8 \mu\text{g mL}^{-1}$), sin embargo no se encontraron diferencias significativas.

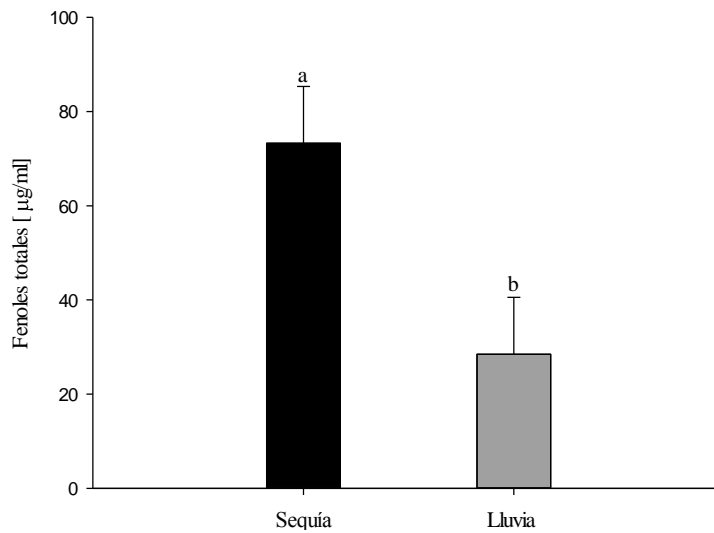


Figura 21. Concentración de fenoles totales en resinas de *L. styraciflua* de comunidades del estado de Hidalgo, en dos temporadas de colecta, sequía y lluvia. Las barras representan la media y las líneas sobre las barras el error estándar. Barras sin superíndice en común, son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

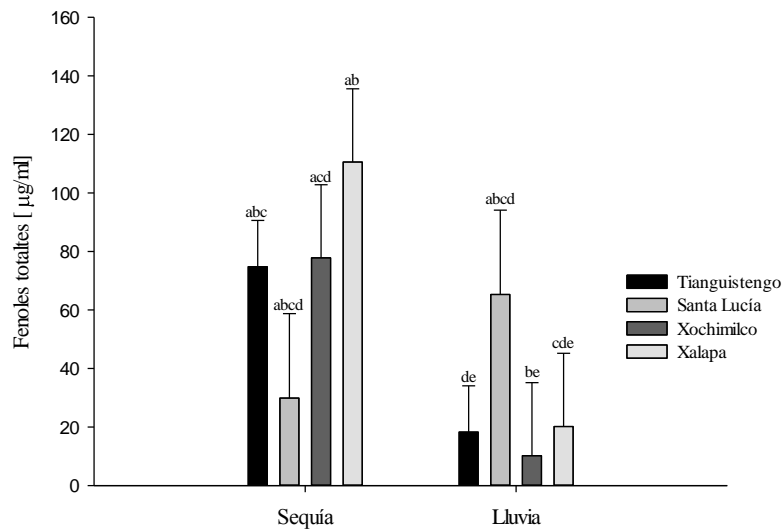


Figura 22. Concentración de fenoles totales en resinas de *L. styraciflua*, entre épocas de colecta y comunidades. Las barras representan la media y las líneas sobre las barras el error estándar. Barras sin superíndice en común, son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

Los resultados observados son muy variables, pero muestran un efecto de la época de colecta sobre la concentración de fenoles totales en las comunidades. Estos resultados pueden estar relacionados a una suma de factores tanto ambientales como fisiológicos y posiblemente genéticos, los cuales pueden tener incidencia en la producción en mayor o menor grado de este tipo de metabolitos (Langenheim, 2003).

Debido a que el enfoque de este estudio fue la determinación de los metabolitos en las resinas de liquidámbar, con los experimentos y resultados obtenidos no se puede afirmar que la mayor concentración de fenoles totales durante la época de sequía, se deba a una respuesta para contener con el estrés hídrico de esta temporada del año. Sin embargo, algunos autores mencionan que la baja disponibilidad de agua en el ambiente debido a la sequía provoca cambios en el metabolismo de las plantas, que pueden incrementar la concentración de algunos metabolitos como el ácido shikímico, compuesto involucrado en la ruta del ácido shikímico, ruta de síntesis de los compuestos fenólicos (Kaplan *et al.*, 2004).

Al situarse en el contexto de un bosque mesófilo de montaña es difícil imaginar que existan condiciones de sequía en alguna época del año, aunque dichas condiciones se presentan (Rzedowski, 1978). Debido a la abundante humedad en estos ecosistemas, la temporada de sequía no es tan notoria, ya que la humedad ambiental compensa la falta de agua en dicha temporada (Gual-Díaz *et al.*, 2014). Los bosques mesófilos de montaña en México, presentan diversas características ambientales según la región donde se ubiquen (Gual-Díaz *et al.*, 2014).

En lugares como la sierra del estado de Hidalgo, los bosques mesófilos presentan estacionalidad, la cual es evidente debido a la existencia de especies deciduas o caducifolias, como *L. styraciflua* (Gual-Díaz *et al.*, 2014). Aparentemente la temporada de sequía en el BMM de Hidalgo concuerda con la época de senescencia de *L. styraciflua*. Durante la senescencia ocurren

diversos cambios a nivel fisiológico y químico, debido a que existe una descompensación en la cantidad de luz y carbono asimilados (García-Plazaola *et al.*, 2003). En época de sequía *L. styraciflua* pierde casi todas sus hojas, y como sucede en algunas plantas deciduas antes de la pérdida de hojas durante el otoño, existe una movilización de nutrientes que se encuentran en las hojas, principalmente de nitrógeno. Dichos nutrientes son almacenados para la siguiente temporada (García-Plazaola *et al.*, 2003; Marchin *et al.*, 2010).

Se puede inferir que la mayor concentración de los fenoles totales en las resinas durante la sequía se deba a estrés físico (Fromm, 2013), causado por el daño a nivel de la corteza para inducir la resinación de los árboles. Este daño localizado pudo haber generado alguna respuesta a nivel fisiológico y celular, induciendo la formación de nuevos canales resiníferos (Fahn, 1988; Fromm, 2013; Ruelle, 2014) y la síntesis de metabolitos.

Algunos estudios indican que el aumento en la temperatura ambiental puede impulsar la actividad de las células meristemáticas del cambium vascular, involucradas en la formación de nuevos canales resiníferos (Fahn, 1988; Fromm, 2013). Así mismo, la variación en los compuestos químicos y su concentración en gimnospermas y angiospermas está determinada por factores que incluyen la respuesta de los árboles de manera individual, así como dentro de la población y entre poblaciones, y a los diferentes factores abióticos (Langenheim, 2003).

Los compuestos fenólicos en las resinas de *L. styraciflua*, podrían estar jugando un papel importante en la defensa contra patógenos. Estos compuestos son ampliamente distribuidos en el reino vegetal, dentro de sus funciones están el proporcionar pigmentación a las flores y proteger contra la luz ultravioleta. Sin embargo, la función más importante es servir de defensa contra herbívoros y patógenos, como hongos y bacterias (Langenheim, 2003; Velmerris & Nicholson, 2006; Mazid, Khan & Mohammad, 2011).

6.7 Taninos condensados

Los resultados obtenidos sobre la concentración de taninos condensados en resinas de *L. styraciflua*, fueron muy consistentes. No se encontraron diferencias significativas por comunidad ni por época de colecta (Figura 23 y 24).

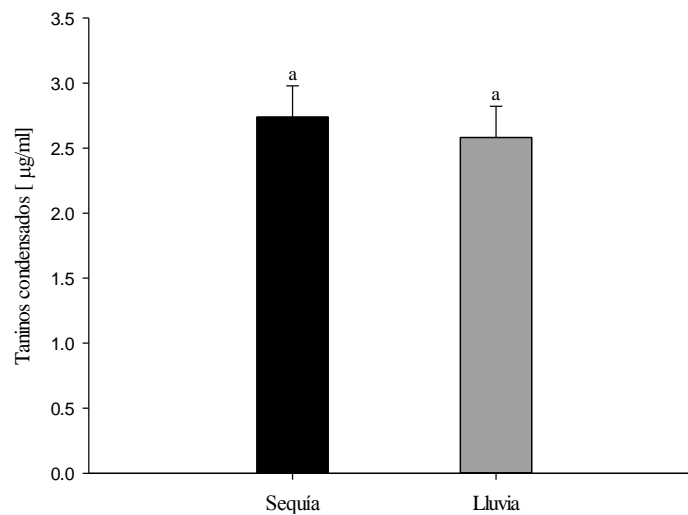


Figura 23. Concentración de taninos condensados en resinas de *Liquidambar styraciflua* de comunidades del estado de Hidalgo, evaluados en dos épocas de colecta, sequía y lluvia. Las barras representan la media y las líneas sobre las barras el error estándar. Barras sin superíndice en común, son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

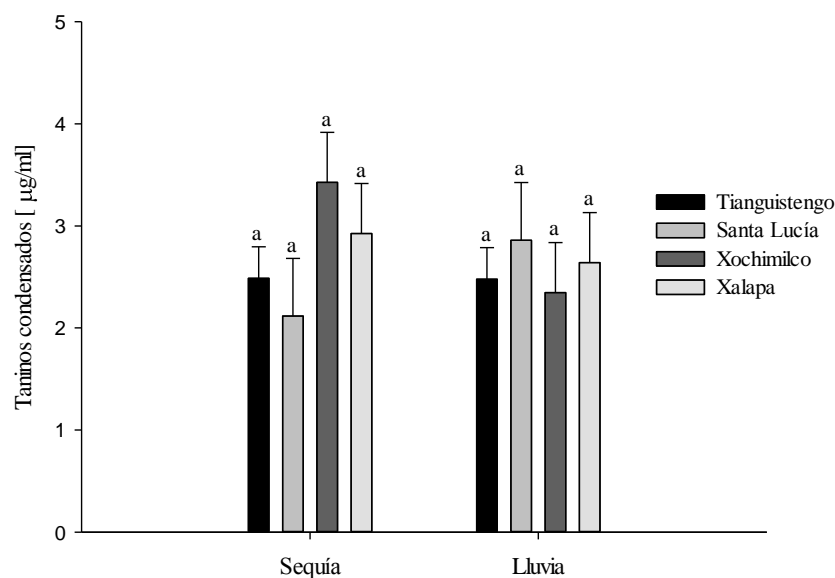


Figura 24. Concentración de fenoles totales en resinas de *Liquidambar styraciflua*, entre comunidades y épocas de colecta. Las barras representan la media y las líneas sobre las barras el error estándar. Barras sin superíndice en común, son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

Los resultados obtenidos indican la importancia de los taninos condensados como metabolitos característicos de las resinas de *L. styraciflua*. El metabolismo de *L. styraciflua* mantiene la concentración taninos condensados aun cuando las condiciones ambientales varíen de acuerdo a la altitud y época del año.

En otras especies del género liquidámbar, como *Liquidambar formosana*, se ha reportado la importancia de los taninos como defensa contra herbívoros. Sin embargo, los taninos identificados se encontraron en hojas y son taninos hidrolizables, diferentes químicamente a los taninos condensados (Hatano *et al.*, 1986).

De las resinas que son consideradas como resinas de primera clase, se incluyen a los bálsamos de Perú y de Tolú (Fabaceae) y el styrax (Hamamelidaceae), entre otros. Nuestros

resultados confirman los datos presentados por McNair (1930), quien reportó la presencia de taninos en el storax.

6.8 Efecto de *Phoradendron falcifer* en la concentración de ácidos libres, fenoles totales y taninos condensados en resinas de *Liquidambar styraciflua*.

Debido a que el número de árboles parasitados y no parasitados fue variable entre las comunidades, se optó por evaluar sólo la comunidad de Tianguistengo, por ser la única que presentó el mismo número de árboles parasitados y no parasitados. Se consideraron por separado los datos de las concentraciones de fenoles totales, taninos condensados y valor ácido provenientes de árboles parasitados y árboles sin parasitar. Para este análisis también se tomó a consideración la temporada de colecta de las resinas.

6.8.1 Valor ácido

No se encontraron diferencias significativas en la evaluación de los árboles parasitados y no parasitados por *P. falcifer*, sin involucrar el efecto de la temporada de colecta.

Los resultados de la Figura 25 no muestran diferencias en los árboles parasitados en época de sequía (20.5), ni en época de lluvia (23.0). Mientras que los árboles no parasitados, presentaron un valor ácido mayor en la temporada de lluvia (28.4), respecto al valor de la temporada de sequía (14.9).

Estos resultados no indican un efecto evidente de la parasitosis por *P. falcifer*, en el valor ácido en las resinas de *L. styraciflua*. Hasta ahora no hemos encontrado trabajos en los que se mencione el efecto de plantas parásitas sobre la producción de ácidos libres en resinas.

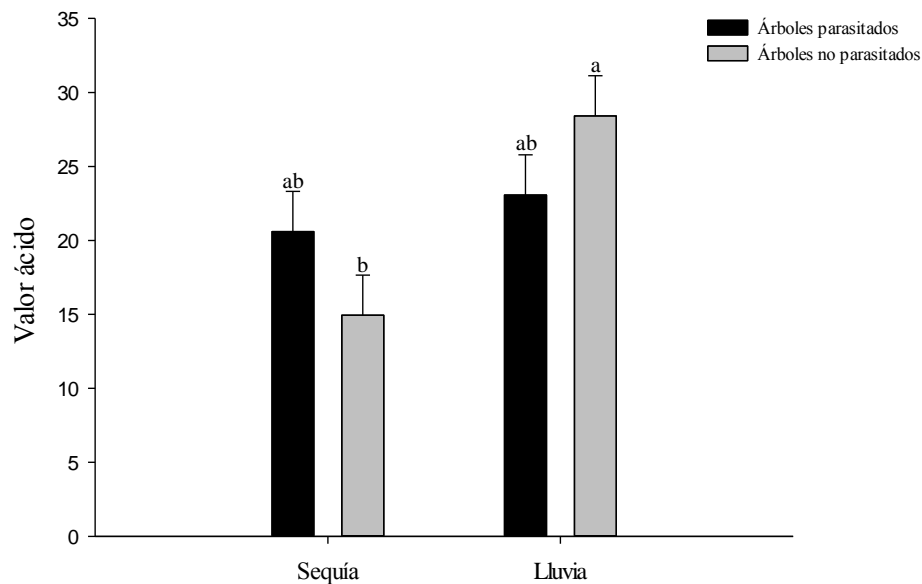


Figura 25. Efecto de la parasitosis por *Phoradendron falcifer* y de la temporada de colecta (sequía y lluvia) en el valor ácido de resinas de árboles de *Liquidambar styraciflua* provenientes de Tianguistengo, Hidalgo. Las barras representan la media y las líneas sobre las barras el error estándar. Barras sin superíndice en común, son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

6.8.2 Fenoles totales

No se encontraron diferencias significativas en la concentración de fenoles totales entre árboles parasitados y los que no lo eran. Aunque aparentemente el nivel de concentración de fenoles totales en árboles parasitados ($73.0 \mu\text{g mL}^{-1}$) promedio es casi cuatro veces mayor, que el de árboles no parasitados ($20.0 \mu\text{g mL}^{-1}$), estas diferencias resultan no ser relevantes estadísticamente por su fuerte variación.

La evaluación por época de colecta mostró que la concentración de fenoles totales tanto en árboles parasitados, como no parasitados es mayor en época de sequía con respecto a la época de lluvia.

La concentración de fenoles totales por efecto de parasitosis y temporada de colecta (Figura 26), mostró diferencias significativas, debido a que la concentración de fenoles totales fue mayor en los árboles no parasitados en la época de sequía ($114.4 \mu\text{g mL}^{-1}$), comparados con los de la época de lluvia ($31.5 \mu\text{g mL}^{-1}$). Mientras que los arboles parasitados no mostraron diferencia estadística en sequía versus lluvia ($35.1 \mu\text{g mL}^{-1}$ y $4.9 \mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente).

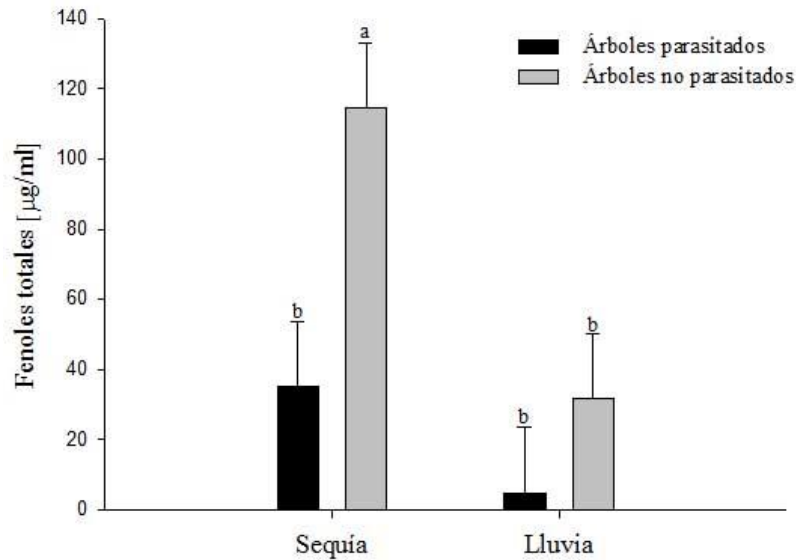


Figura 26. Efecto de la parasitosis por *Phoradendron falcifer* y de la temporada de colecta (sequía y lluvia) en la concentración de fenoles totales de resinas de árboles de *Liquidambar styraciflua* provenientes de Tianguistengo, Hidalgo. Se evaluaron árboles parasitados ($n=5$) y no parasitados ($n=5$). Las barras representan la media y las líneas sobre las barras el error estándar. Barras sin superíndice en común, son significativamente diferentes ($P<0.05$).

Aparentemente, los árboles no parasitados en la época seca producen más compuestos fenólicos, que los árboles parasitados. En otras palabras, la parasitosis de *P. falcifer* no induce la

producción de fenoles totales en las resinas de *L. styraciflua*, contrariamente, hay una disminución en la concentración de estos metabolitos.

El comportamiento fisiológico de los árboles hospederos de muérdagos del género *Phoradendron* indica que durante la época seca, los hospederos transfieren parte del carbono fijado durante la fotosíntesis a los muérdagos, así como ciertas cantidades de nitrógeno, lo que ocasiona un aumento en el estrés hídrico de la planta hospedante, y una serie de sucesos que incluyen la baja viabilidad y éxito reproductivo de la planta hospedante, lo que en algunos casos conducen a la muerte de éste (Gells *et al.*, 2002).

En los últimos años los estudios bioquímicos de la producción de metabolitos en plantas en respuesta al ataque de herbívoros (Baldwin *et al.*, 2002; Baldwin *et al.*, 2006; Dicke & Baldwin, 2010; Mazid *et al.*, 2011) han sido más estudiados, más que aquellos que involucran la respuesta químico-biológica de las plantas contra otros competidores (Metlen *et al.*, 2009), como el caso de plantas parásitas. Nuestro trabajo representa una contribución respecto a este tema, sin embargo, aún queda mucho por estudiar en materia de las interacciones biológicas planta-planta.

6.8.3 *Taninos condensados*

La concentración de taninos condensados de las resinas de *L. styraciflua*, fue constante en las tres evaluaciones de las muestras de Tianguistengo. En el análisis de árboles parasitados y no parasitados, no se encontraron diferencias significativas ($2.5 \mu\text{g mL}^{-1}$ y $2.4 \mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente). En la evaluación por temporada de colecta, para ambos estatus de parasitismo la concentración de taninos condensados fue la misma ($2.4 \mu\text{g mL}^{-1}$). Para la evaluación de parasitosis junto con la época de colecta (Figura 27), no se encontraron diferencias significativas en la concentración de taninos condensados, aun cuando los árboles parasitados tuvieron una concentración ligeramente mayor en época de sequía ($2.6 \mu\text{g mL}^{-1}$) respecto a la época de lluvia

($2.4 \mu\text{g mL}^{-1}$). Por otro lado, los árboles no parasitados tuvieron un breve incremento en la época de lluvia ($2.4 \mu\text{g mL}^{-1}$) respecto a la época de sequía ($2.3 \mu\text{g mL}^{-1}$).

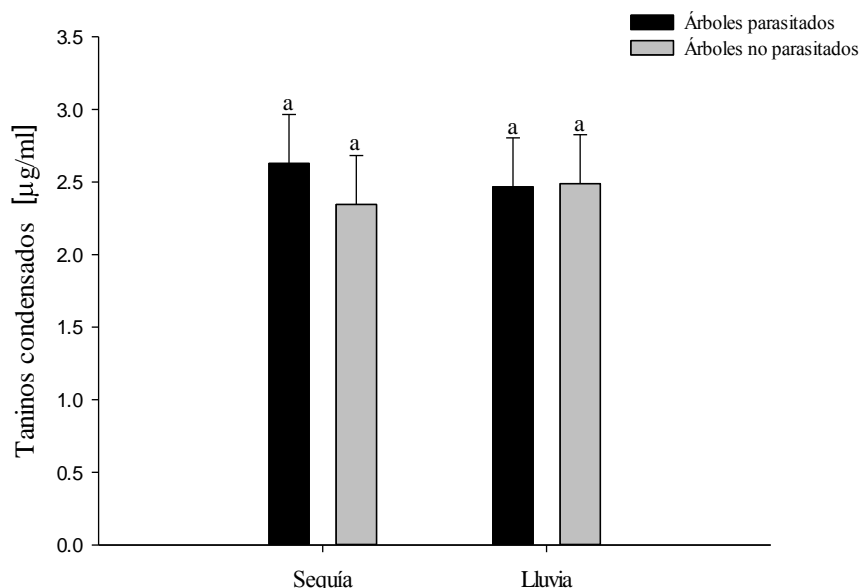


Figura 27. Efecto de la parasitosis por *Phoradendron falcifer* y de la temporada de colecta (sequía y lluvia) en la concentración de taninos condensados de resinas de árboles de *Liquidambar styraciflua* provenientes de Tianguistengo, Hidalgo. Las barras representan la media y las líneas sobre las barras el error estándar. Barras sin superíndice en común, son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

La presencia permanente de los taninos condensados nos hace pensar en la importancia de estos compuestos en las plantas, y particularmente en las especies leñosas como *L. styraciflua*, puesto que están presentes en las resinas, independientemente de la parasitosis y la temporada de colecta.

La producción de taninos condensados, es muy común entre las plantas dicotiledóneas y varía con base al genotipo, condiciones ambientales y la etapa de desarrollo de cada individuo. Para conocer más sobre la actividad biológica y ecológica de estos metabolitos, no basta con la

sola determinación de su presencia en algún tejido, cuanto mayor sea la investigación de estos compuestos, como la elucidación de su estructura molecular, se tendrá una mejor idea al respecto de su actividad de defensa, o actuación dentro de los mecanismos fisiológicos de las plantas (Barbehenn & Constabel 2011).

6.9 Aceites esenciales extraídos de resinas de *Liquidambar styraciflua*

En la extracción de aceites esenciales de las resinas de *L. styraciflua*, no se consideró el factor parasitosis. Para este análisis se juntó la resina colectada de todos los árboles de cada comunidad por cada época de colecta. No se tuvo suficiente material de Santa Lucía en la época de lluvia para este análisis, así que los datos a continuación se basan en siete muestras (dos muestras por cada comunidad, para época de sequía y época de lluvia). Para el rendimiento de aceites esenciales se calculó el porcentaje de aceite obtenido (Cuadro 18).

Xalapa fue la comunidad que obtuvo mayor rendimiento de aceite esencial, en las dos épocas de colecta (9.34% en sequía y 7.06% en lluvia), con respecto a las otras comunidades. Para esta comunidad, la época de sequía obtuvo el mayor porcentaje de rendimiento. Santa Lucía fue la comunidad que presentó el menor porcentaje en rendimiento de aceite esencial en la época de sequía (0.03%). Tlanguistengo presentó casi el doble del porcentaje de rendimiento de aceite esencial en la época de lluvia (1.60%) con respecto a la época de sequía (0.85%). Xochimilco produjo casi ocho veces más aceite esencial en la época de lluvia (1.66%), que en la época de sequía (0.22%).

Cuadro 18. Rendimiento de aceites esenciales obtenidos de resinas de *Liquidambar styraciflua* en cada comunidad y época de colecta.

Altitud (m)	Muestra	<u>SEQUÍA</u>		<u>LLUVIA</u>	
		*TM (g)	RA (%)	TM (g)	RA (%)
762	Santa Lucía ^a	4.80	0.033	-	-
1379	Tianguistengo ^b	33.94	0.85	48.65	1.60
1398	Xochimilco ^c	22.74	0.22	8.89	1.66
1480	Xalapa ^d	9.11	9.34	19.00	7.06

***TM**: Tamaño de la muestra; **RA (%)**: Porcentaje de rendimiento de aceite; **a**: n=3; **b**: n=10; **c**: n=4; **d**: n=4. El guion indica la ausencia de aceite esencial.

Aparentemente la época de lluvia es la temporada del año, donde más de una comunidad obtuvo mayor rendimiento de aceite esencial, es de particular atención destacar que así como la temporada de colecta demostró un evidente efecto sobre el rendimiento de las resinas, la altitud de las comunidades muestreadas, también podría ejercer un efecto similar. Nuestros datos presentaron variabilidad en rendimiento de aceites esenciales, lo cual está en función de las diferentes cantidades de resina utilizadas en la extracción, dicha variabilidad podría estar relacionada con las condiciones ambientales de cada temporada de colecta, que afectan tanto la producción de resina como el contenido de compuestos como fenoles totales, esteroides y terpenoides (Langenheim, 2003; Schmidt, 2010).

Otros factores como el clima, el tipo de suelo o el estrés ocasionado por la presencia de patógenos (bacterias e insectos), también pueden afectar tanto el rendimiento en la producción, como la composición química de los aceites esenciales (Langenheim, 2003; Schmidt, 2010). Así mismo, es importante mencionar que la fracción volátil de las resinas es sólo una porción pequeña

de los componentes totales de las resinas (Langenheim, 2003), como se muestra también en este trabajo.

La comparación de medias del rendimiento de aceites por comunidad, sin tomar en consideración la época de colecta (Cuadro 19), mostró que Xalapa presentó el más alto porcentaje de rendimiento de aceite esencial de 3.90%, seguida de Tianguistengo con 0.64%. Mientras que Xochimilco presentó un porcentaje de 0.31% y Santa Lucía obtuvo el porcentaje de rendimiento más bajo 0.01%, debido a que no se obtuvo la muestra de la época de lluvia.

Cuadro 19. Rendimiento de aceites esenciales obtenidos de resinas de *Liquidambar styraciflua* por comunidad.

Comunidad	Altitud (m)	TM (g)	RA ^x (g)	RA ^{y, z} (%)
Santa Lucía ^a	762	4.806	0.001	0.01 ± 0.001
Tianguistengo ^b	1379	82.597	0.536	0.64 ± 0.34
Xochimilco ^c	1398	31.639	0.100	0.31 ± 0.06
Xalapa ^d	1480	28.120	1.097	3.90 ± 0.34

***TMR**: Tamaño de la muestra de resina; **RA**: Rendimiento de aceite; **x**: Media del rendimiento de aceite; **y**: Porcentaje de la media del rendimiento de aceite; **z**: Desviación estándar.

Los trabajos consultados sobre el análisis de la composición química del aceite esencial de resina de *L. styraciflua*, no proporcionan información sobre el rendimiento de aceite esencial (Chalchat *et al.*, 1994; Gurbuz *et al.*, 2013), quizás porque algunos autores mencionan que el rendimiento de aceites es muy variable, incluso puede llegar a variar en un mismo individuo, entre individuos de la misma población, así como entre poblaciones (Langenheim, 2003).

Fernández y colaboradores (2005) reportan un rendimiento de aceite esencial del 0.8% de resina de *L. styraciflua* proveniente de Honduras, y para *L. orientalis* un rendimiento del 0.6%, ambos a

partir de 200g de muestra, con un tiempo de destilación de 4 h, la temperatura del proceso de hidrodestilación no es reportada.

Genther (1943) reportó un rendimiento de aceite de 0.5% en *L. orientalis*, y tiempo después mencionó que dicha producción podría elevarse hasta 1.0% si la temperatura del proceso de hidrodestilación se elevaba (Guenther, 1952 citado en Lawrence, 2007). Estos datos resultan contrastantes con el rendimiento que se obtuvo de los aceites esenciales de resina de *L. styraciflua* de Hidalgo, ya que el más alto valor de rendimiento alcanzó un 9.3% (en Xalapa), porcentaje alto comparado con el del aceite proveniente de *L. styraciflua* de Honduras de 0.8% (Fernández *et al.*, 2005).

Las hojas y tallos de liquidámbar son otras fuentes importantes de aceites esenciales, sin embargo, el rendimiento y la composición química de estos órganos, con respecto a la de las resinas varía ampliamente (Wyllie & Brophy, 1989; Chalchat *et al.*, 1994; Fernandez *et al.*, 2005; Lawrence, 2007; El-Readi *et al.*, 2013; Gurbuz *et al.*, 2013).

6.10 Análisis por GC-MS de aceites esenciales de *Liquidambar styraciflua*

El análisis químico de los aceites esenciales identificó un total de 52 compuestos que representan el 52.13%, 72.46%, 88.0% y 67.77% del porcentaje total de los compuestos detectados en las comunidades de Santa Lucía, Tianguistengo, Xochimilco y Xalapa, respectivamente. La parte complementaria al 100% del total de compuestos detectados en los aceites de cada comunidad, estuvo formado por trazas, las cuales no se reportan en este trabajo, ya que sólo se tomaron en cuenta los compuestos más abundantes. El número de compuestos y la concentración de los mismos fue variable en cada comunidad y para cada época de colecta (Cuadro 20).

Los compuestos mayoritarios fueron el alcohol dihidro cinámico 43.01%, estireno 30.9%, cardeno 25.5%, alcohol de cinamilo 22.8% y alfa-pineno 20.1%. Los compuestos que presentaron

menor proporción, fueron el alcohol bencílico 0.58%, cinamaldehído 0.4%, beta-mirceno, alloaromadendreno, acetato de cinamilo con 0.2% cada uno, canfolenal 0.16%, cinamato de bencilo 0.13% y benzaldehído 0.09%.

El alcohol dihidro cinámico presentó el mayor porcentaje, tanto en época de sequía, como en la época de lluvia en la comunidad de Tianguistengo, con porcentajes de 35.24% y 43.01 %, respectivamente. Las comunidades de Xochimilco y Xalapa también presentaron porcentajes altos de alcohol dihidro cinámico en ambas temporadas de colecta. En el caso de Xochimilco, se observaron porcentajes de 11.8% para sequía y 13.2% para lluvia. Así mismo, Xalapa presentó valores de 22.02% en sequía y 26.4% en lluvia. Santa Lucía, no presentó este compuesto.

Otro compuesto que mostró un porcentaje alto dentro de los aceites fue el estireno, con 30.9% en la comunidad de Xalapa en temporada de sequía y 22.04% en temporada de lluvia. Xochimilco presentó estireno, pero sólo en la época de lluvia, con un porcentaje de 16.27%. En Tianguistengo se encontraron valores de 1.26% y 1.74% en sequía y en lluvia, y para Santa Lucía 0.36% en época de sequía.

Cardeno fue otro compuesto mayoritario, sin embargo, sólo se presentó en Xochimilco en época de sequía con una proporción de 25.5%. Por otro lado, el alcohol de cinamilo se encontró en Santa Lucía con un valor de 22.80% y en Tianguistengo con valor de 6.46%, ambos en época de sequía.

El alfa-pineno se identificó en mayor proporción en Xochimilco en época de lluvia, con un valor de 20.1% y 5.2% para la época de sequía. Tianguistengo reportó valores de 0.45% y 0.62% en sequía y lluvia, respectivamente. Xalapa también presentó alfa-pineno en su composición química, sin embargo, este compuesto sólo se observó en época de lluvia con un valor de 8.47%. Santa Lucía no presentó alfa-pineno en época de sequía.

Cuadro 20. Composición química de aceites esenciales extraídos de resinas de *Liquidambar styraciflua*, en dos épocas de colecta, provenientes de cuatro comunidades de Hidalgo.

COMPUESTO	TR	IK	QUAL	% del total de aceite ^a ± SD (Sequía)				% del total de aceite ^a ± SD (Lluvia)			
				Sta. Lucía	Tianguiestengo	Xochimilco	Xalapa	Sta. Lucía	Tianguiestengo	Xochimilco	Xalapa
Estireno	5.7	837	97	0.36±0.06	1.26±0.69	-	30.90±0.34	~	1.74±0.05	16.27±0.6	22.04±0.13
Cardeno	5.8	839	97	-	-	25.50±2.44	-	~	-	-	-
Alfa-Pineno	6.9	1055	96	-	0.45±0.23	5.20±0.28	-	~	0.62±0.01	20.10±0.6	8.47±0.21
Alilbenceno	7.6	965	96	-	-	-	1.42±0.07	~	-	-	-
Fenil ciclopropano	7.6	965	95	-	-	-	-	~	-	-	3.60±0.07
Benzaldehído	8.6	780	96	0.09±0.01	0.62±0.31	0.60±0.01	-	~	0.82±0.002	-	-
Beta-Pineno	8.9	1083	96	-	-	1.40±0.04	-	~	-	4.60±0.04	1.50±0.05
Beta-Mirceno	9.7	1096	90	-	-	0.20±0.01	-	~	-	1.0±0.02	-
Silvestreno	11.9	1028	90	-	-	-	-	~	-	0.70±0.02	-
Fenol	13.5	651	95	1.49±0.16	0.45±0.21	0.2±0.01	-	~	0.57±0.01	0.30±0.01	1.20±0.01
Gama-Terpineno	14	1057	90	-	-	-	-	~	-	0.10±0.01	-
Alcohol bencílico	14.6	767	96	1.75±0.40	0.61±0.23	0.50±0.01	0.58±0.01	~	0.89±0.01	0.40±0.03	0.04±0.03
Acetofenona	15.6	880	94	3.60±0.02	5.62±2.69	14.30±0.08	1.60±0.02	~	7.79±0.19	3.80±0.1	4.10±0.05
Alcohol-alfa-metil-bencílico	16	890	96	2.16±0.08	2.0±0.83	-	1.20±0.01	~	2.81±0.08	2.30±0.1	2.80±0.04
Linalool	18.4	1013	87	-	-	-	-	~	-	0.20±0.01	-
Alfa-Canfolenal	20	1030	88	-	0.16±0.08	-	-	~	0.21±0.01	-	-
Pinocarveol	21.5	1046	93	-	-	0.30±0.01	-	~	-	-	-
Alcanfor	21.5	1046	98	1.03±0.10	-	-	-	~	-	-	-
Mirtenol	28	1010	92	-	0.71±0.42	0.50±0.03	-	~	-	-	0.7±0.01
4-etil-fenol	31	837	94	-	-	5.20±0.11	4.50±0.09	~	6.24±0.04	3.20±0.2	3.30±0.01
Alcohol dihidro cinámico	34.2	966	96	-	35.24±17.06	11.80±0.38	22.02±0.45	~	43.01±0.59	13.2±0.9	26.40±0.11
Cinamaldehído	37.2	993	94	-	1.69±1.29	0.4±0.04	-	~	2.52±0.01	0.60±0.3	0.40±0.06
Ácido benzoico	40.7	723	90	2.01±0.15	-	-	-	~	-	-	-
Alfa-Cubebeno	43.2	1544	96	-	0.73±0.39	3.80±0.16	-	~	1.41±0.06	2.90±0.2	-
Alcohol cinámico	44.16	951	94	-	-	-	-	~	8.50±0.07	-	-
Ciclozativeno	44.63	1555	90	-	-	-	-	~	-	-	0.50±0.06
Ácido hidrocinámico	44.7	1155	83	-	-	-	-	~	-	1.0±0.01	-
Alcohol de cinámico	45.9	967	94	22.80±0.45	6.46±3.18	-	-	~	-	-	-

Cuadro 20. Continuación.

COMPUESTO	TR	IK	QUAL	% del total de aceite ^a ± SD (Sequía)				% del total de aceite ^a ± SD (Lluvia)			
				Sta. Lucía	Tianguistengo	Xochimilco	Xalapa	Sta. Lucía	Tianguistengo	Xochimilco	Xalapa
Acetato de dihidro cinamilo	47.24	1177	90	-	-	0.30±0.00	-	~	-	-	-
Beta-Cubebena	50.1	1106	97	-	0.51±0.33	3.20±0.13	-	~	-	1.70±0.03	1.10±0.04
Ácido cinámico	49.7	1198	96	0.24±0.02	-	-	-	~	-	-	-
Beta-Cariofileno	51.2	1526	99	-	0.33±0.15	5.10±0.18	-	~	0.43±0.01	3.20±0.04	2.70±0.04
Gama-Cadineno	54.7	1541	94	-	1.54±0.04	-	-	~	-	-	-
Ácido dihidrocinámico	54.8	942	89	0.59±0.02	-	-	-	~	-	-	-
Allo-aromadendreno	55.8	1550	98	-	-	0.20±0.01	-	~	-	0.20±0.01	-
Acetato de cinamilo	57.1	1158	93	0.22±0.01	-	0.20±0.01	-	~	-	-	-
Gama-muroloeno	58.4	1560	98	0.25±0.01	1.09±0.27	2.10±0.07	-	~	1.27±0.01	1.70±0.01	1.60±0.03
Cinamato de etilo	59.7	1184	96	0.71±0.01	-	-	-	~	-	-	-
(+)-Epi-biclosesquifelandreno	59.7	1584	95	-	0.39±0.08	0.60±0.04	-	~	-	0.60±0.01	-
Delta-Cadineno	64	1528	97	0.41±0.00	1.56±0.64	3.20±0.15	2.80±0.32	~	2.09±0.03	2.60±0.00	2.60±0.04
Cadinen-1,4-dieno	65	1531	98	-	0.23±0.05	0.50±0.05	-	~	0.27±0.01	0.3±0.02	-
Ácido trans-cinámico	67	949	98	0.47±0.04	-	-	-	~	-	-	-
Óxido de cariofileno	70.4	1578	89	0.27±0.01	-	0.50±0.04	-	~	-	0.40±0.02	-
Azuleno	76.8	1536	83	1.36±0.04	-	-	-	~	-	-	-
Alfa-Copaeno	79.1	1556	95	3.06±0.17	1.68±0.69	2.20±0.15	2.70±0.35	~	2.18±0.08	1.80±2.1	-
Ácido ftálico	111.2	1671	95	0.27±0.04	-	-	-	~	-	-	-
Cinamato de bencilo	124	1611	99	0.61±0.10	-	-	-	~	0.13±0.02	-	-
Himecromona	129.9	1078	96	3.0±0.50	-	-	-	~	-	-	-
Alfa-metil-alfa-fenilsuccinimida	142.3	1263	72	1.45±0.23	-	-	-	~	-	-	-
Ácido adípico	149	2207	96	1.0±0.11	-	-	-	~	-	-	-
Cinamato de cinamilo	152	1640	88	3.0±0.50	9.14±9.11	0.90±0.36	-	~	2.36±0.39	0.60±0.25	-

^a El porcentaje de composición en los aceites es el promedio de dos análisis. La identificación de los compuestos se basó en los datos del espectro de masas según la biblioteca NIST versión 2002. Para la validación de los compuestos se calculó el índice de Kovats, a partir de una serie de *n*-alcanos (Supelco Analytical®) de C8-C40 carbonos. **TR**= Tiempo de retención; **QUAL**= Indica el porcentaje de confiabilidad en la identificación del compuesto; **IK**= Índice de Kovats; **SD**= Desviación estándar. El guion indica que determinado compuesto no está presente en el aceite esencial. La tilde indica que en la comunidad de Santa Lucía no se analizó el aceite esencial para la época de lluvia.

Los análisis que existen hasta la fecha sobre la composición química de los aceites esenciales de resinas de liquidámbar son pocos, y sólo se han enfocado en aquellos provenientes de Honduras y Turquía (Chalchat *et al.*, 1994; Fernández *et al.*, 2005; Gurbuz *et al.*, 2013), ya que ambos países son los principales productores de resina a nivel mundial. Sin embargo, a pesar de que en nuestro país, existen rodales de liquidámbar de un tamaño significativo y con potencial para la comercialización, no se han hecho análisis de este tipo antes del presente trabajo. Por lo que este trabajo representa el primer estudio sobre la composición química de aceites esenciales de resina de *L. styraciflua* en México. Así mismo, es el primer trabajo en el que se evalúa la composición de los aceites esenciales de resina de liquidámbar según la época de colecta (sequía y lluvia).

El análisis por CG-EM de las resinas de Hidalgo mostró una gran variedad de compuestos con proporciones diferentes. Algunos compuestos se presentaron en todas las comunidades y en las dos temporadas de colecta, otros sólo en alguna comunidad o temporada. Existen reportes que han evidenciado que la CG-EM ha identificado alrededor de 20 compuestos reportados en aceites esenciales extraídos de resinas, hojas y tallos del género *Liquidambar* (Chalchat *et al.*, 1994; Fernández *et al.*, 2005; Gurbuz *et al.*, 2013), estos compuestos pueden observarse en el Cuadro 21.

El alcohol dihidro cinámico, cardeno, himecromona y alfa-metil-alfa-fenilsuccinimida fueron compuestos identificados en el presente trabajo, que no se han reportado como parte de los aceites esenciales de *L. styraciflua* (Chalchat *et al.*, 1994; Fernández *et al.*, 2005). Sin embargo, en la fracción volátil de la resina de *L. orientalis* (Gurbuz *et al.*, 2013), se ha observado un porcentaje de alcohol dihidro cinámico (3.4%) en concentraciones bajas, comparado con los encontrados en todas las comunidades de Hidalgo, donde Tianguistengo presentó el mayor porcentaje (43.01% en época de lluvia).

El beta-mirceno y allo-aromadendreno identificados en Xochimilco y el gama-cadineno en Tianguistengo (todos observados en época de sequía), sólo han sido reportados en el aceite esencial extraído de hojas y tallos de *L. styraciflua* (Wyllie & Brophy, 1989; El-Readi *et al.*, 2013), de colectas hechas en las cuatro estaciones del año.

Los compuestos mayoritarios observados en los aceites esenciales de Hidalgo (estireno, alfa-pineno y beta-cariofileno), también presentaron altos porcentajes en la fracción volátil de resinas de Turquía y Honduras (Fernandez *et al.*, 2005). Los análisis por CG-EM de aceites de resinas de *L. styraciflua* que existen hasta ahora (Chalchat *et al.*, 1994; Fernandez *et al.*, 2005; Gurbuz *et al.*, 2013) presentan variabilidad en el tipo, número y la proporción de los compuestos identificados. Estas diferencias pueden atribuirse a los diferentes métodos utilizados en cada caso de estudio, así como a las diferencias en la procedencia, manejo y almacenamiento de las muestras, a los procesos de extracción de las mismas, y a las características ambientales de cada sitio del que se obtuvieron. Además, algunos de estos estudios no toman en cuenta la temporada de colecta. Hasta antes de este trabajo existía un sólo reporte sobre el efecto estacional en la variación de la composición química de aceites esenciales, pero extraídos de hojas y tallos de *L. styraciflua* (El-Readi *et al.*, 2013). Sin embargo, en ese trabajo no se menciona el efecto estacional como un factor que influye en la composición química de aceites esenciales. Las evidencias obtenidas en este estudio, aluden la influencia importante de las condiciones ambientales en cada época de colecta, sobre la variación química y abundancia de los metabolitos.

Cuadro 21. Compuestos identificados en aceites esenciales extraídos de resina, hoja y tallo de *Liquidambar styraciflua* y *Liquidambar orientalis*, provenientes de varios países.

COMPUESTO	% del total de aceite de resina					% del total de aceite de hoja		% del total de Aceite de tallo
	México a*	Honduras a, 1	Honduras a, 2	Turquía b,1	Turquía b,3	Australia a,4	Egipto a**,5	Egipto a**,5
Estireno	30.9	30.9	1.8	70.4	81.9	-	-	-
Alfa-pineno	20.1	19.6	-	19	3.5	18	26.17	11.08
Benzaldehído	0.82	0.6	-	tr	0.1	-	-	-
Beta-pineno	4.6	4.1	0.2	4.3	0.6	1.4	10.06	5.58
Beta-mirceno	1	tr	-	0.4	-	0.5	3.97	2.38
Gama-terpineno	0.1	0.1	-	0.1	-	8.9	0.48	0.61
Alcohol bencílico	1.75	-	-	-	0.1	-	-	-
Acetofenona	14.3	3.2	0.2	0.2	0.3	-	-	-
Linalool	0.2	-	-	-	tr	-	-	-
Pinocarveol	0.3	-	-	tr	-	-	-	-
Mirtenol	0.71	0.1	-	tr	-	-	-	tr
4-etil-fenol	6.24	-	-	-	1.9	-	-	-
Alcohol dihidro cinámico	43.01	-	-	-	3.4	-	-	-
Cinamaldehído	2.52	tr	-	tr	0.2	-	-	-
Alfa-cubebeno	3.8	2.1	0.2	tr	-	-	-	-
Alcohol cinámico	8.5	0.9	4.1	0.3	-	-	-	-
Alcohol de cinamilo	22.8	-	-	-	6.9	-	-	-
Beta-cariofileno	5.1	20.2	1.8	0.2	-	1.3	2.51	5.52
Gama-cadineno	1.54	-	-	-	-	0.4	2.22	3.13
Allo-aromadendreno	0.2	-	-	-	-	0.2	0.75	2.24
Acetato de cinamilo	0.22	tr	0.1	tr	tr	-	-	-
Gama-muroleno	2.1	tr	-	tr	-	tr	0.12	0.93
Cinamato de etilo	0.71	-	0.2	-	0.1	-	-	-
Delta-cadineno	3.2	1.6	-	0.1	tr	0.6	2.37	4.17
Óxido de cariofileno	0.5	0.4	0.4	tr	-	-	0.4	0.41
Alfa-copaeno	3.06	0.9	-	tr	tr	tr	0.21	0.24
Cinamato de bencilo	0.61	0.1	1.7	tr	-	-	-	-
Cinamato de cinamilo	9.14	0.2	38	0.4	-	-	-	-

Nota: El guion indica la ausencia del compuesto en la muestra. tr: compuesto traza <0.1%. *Resultados de *L. styraciflua* del presente estudio. **Los datos corresponden a la temporada de verano, en hoja y tallo. a: *L. styraciflua*; b: *L.orientalis*. 1: Fernandez *et al.*, 2005; 2: Chalchat *et al.*, 1994; 3: Gurbuz *et al.*, 2013; 4: Wyllie & Brophy, 1989; 5: El-Readi *et al.*, 2013.

7 CONCLUSIONES

Nuestros resultados indicaron que el rendimiento de las resinas es independiente de la altitud, época de colecta o la interacción de estas dos variables. Así mismo, el grado de viscosidad y el estado semisólido de nuestras resinas, es el mismo reportado para las resinas provenientes de Honduras, por diferentes empresas dedicadas a su comercialización. Respecto a la coloración, ésta varía en la época del año en la que se colecten (sequía o lluvia) las resinas. Los olores que predominaron fueron a miel y notas de madera.

La cromatografía en capa fina fue muy útil en la identificación de compuestos como los ácidos cinámico y benzoico, así como los cinamatos de bencilo y cinamilo, que han sido reportados para otros bálsamos y benjuís. Con respecto al valor ácido determinado en las resinas, sólo la época de colecta tiene un efecto en la cantidad de ácidos libres.

La variación en la concentración de compuestos fenólicos, estuvo determinada por la época de colecta, la cual tuvo incidencia en la mayor o menor concentración de estos compuestos en las resinas. Los taninos condensados están presentes en concentraciones similares independientemente del sitio o época de colecta.

Nuestro análisis no encontró un efecto de la parasitosis de *P. falcifer* en la cantidad de ácidos libres (valor ácido) y la concentración de fenoles totales y taninos condensados presentes en las resinas.

Aparentemente en época de lluvia hay mayor producción de aceites esenciales. La comunidad de Xalapa fue la que produjo mayor cantidad de aceite en las dos épocas muestreadas.

La variabilidad en la composición química de los aceites esenciales fue alta y tuvo cierta relación con su origen y la época del año. Se identificaron 52 compuestos y los de mayor porcentaje

fueron el bencenopropanol 43.01%, estireno 30.9%, cardeno 25.5%, alcohol de cinamilo 22.8% y alfa-pineno 20.1%. El porcentaje del estireno fue el mismo que el reportado por Fernández y colaboradores (2005) para el aceite esencial proveniente de Honduras, mientras que el porcentaje de alfa-pineno fue mayor en nuestros aceites, que el reportado por esos mismos autores.

8 PERSPECTIVAS

Los resultados obtenidos en el presente trabajo, son el primer acercamiento al conocimiento de la composición química de las resinas y aceites esenciales de *L. styraciflua* en México. Aún quedan análisis pendientes que incluyan un mayor número de variables, relacionadas con las características físicas de los árboles a muestrear, así como el número de repeticiones y el número individuos en cada época de colecta. Así mismo, sería importante incluir la extracción de aceites esenciales de resinas provenientes de Honduras y analizarlos conjuntamente con los aceites obtenidos en México, con diferentes técnicas. Estos otros análisis podrían contribuir a conclusiones más amplias, sobre el papel que juegan los mecanismos fisiológicos y genéticos, involucrados en la respuesta ambiental de las plantas.

9 LITERATURA CITADA

- Arias-Toledo A. A. & Chávez-López A. 2006. Resina: entre la madera y el desarrollo comunitario integral. Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la Biodiversidad. *Biodiversitas* 65: 1-7.
- Aspé, E. & Fernandez, K. 2011. Comparison of phenolic extracts obtained of *Pinus radiata* bark from pulpa and paper industry and sawmill industry. *Maderas, Ciencia y Tecnología* 13: 243-252.
- Baldwin, I. T., Kessler, A. & Halitschke R. 2002. Volatile signaling in plant-plant-herbivore interactions: what is real?. *Current Opinion in Plant Biology* 5: 351-354.
- Baldwin, I.T., Halitschke, R., Paschold, A., von Dahl, C.C. & Preston C.A. 2006. Volatile signaling in plant-plant interactions: “talking trees” in the genomics era. *Science* 311: 812-815.
- Barbehenn, R. V. & Constabel, C. V. 2011. Tannins in plant-herbivore interactions. *Phytochemistry* 72: 1551-1565.
- Bolt A. 2012. Plantas medicinales del macizo de Peñas Blancas. Centro de Entendimiento con la Naturaleza, Macizo de Peñas Blancas, Reserva de la Biósfera de Bosawas. Nicaragua. 149p.
- Burdock, G. A. 2002. Fenaroli's handbook of flavor ingredients. 5a. Ed. CRC Press. Boca Raton, Florida, USA. pp: 1516-1517.
- Burdock, G. A. 1997. Encyclopedia of food and color additives. CRC press. Boca Raton, Florida, USA. pp: 2805-2807.
- Can Başer, K. & Demirci, F. 2007. Capítulo 4. Chemistry of essential oils. En: Berger, R.G. (Ed.). Flavours and fragrances. Chemistry, bioprocessing and sustainability. Springer. Berlin, Heidelberg. pp: 43-83.
- Chalchat, J.C., Garry, R.P. & Mathieu, J.P. 1994. Composition of the volatile fraction from Honduras styrax, *Liquidambar styraciflua* L. *Journal of Essential Oil Research* 6: 73-75.
- Cibrián T. D., Alvarado R. D. y García D. S. E. 2007. Enfermedades forestales en México. Universidad Autónoma Chapingo; CONAFOR-SEMARNAT, México; Forest Service USDA, EUA; NRCAN Forest Service, Canadá y Comisión Forestal de América del Norte, COFAN, FAO. Chapingo, México. 587 p.
- Cibrián-Tovar, D., & Cibrián-Llenderal, V. 2011. Distribución ecológica y propuesta de manejo integrado de muérdago (*Phoradendron* sp.) del suchiate (*Liquidámbur*), en el bosque mesófilo de montaña de la sierra alta del estado de Hidalgo. Informe hecho para fundación produce por la División de Ciencias Forestales (DISIFO) de la Universidad Autónoma Chapingo. 55 p.

- Ciesla, W. 2002. Capítulo 5. *Styrax*. Non-wood forest product from temperate broad-leaved trees. Non-wood Forest Products 15. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Roma, Italia. pp: 37-45.
- CONABIO. 2010. El bosque mesófilo de montaña en México: Amenazas y oportunidades para su conservación y manejo sostenible. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D.F. 196 p.
- CONAFOR. 2007. Manual de sanidad forestal. Comisión Nacional Forestal. Coordinación General de Conservación y Restauración. Gerencia de Sanidad Forestal. Jalisco, México. 75 p.
- Cronquist, A. 1981. An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press. New York, USA. pp: 1262.
- Croteau, R., Kutchan, T. & Lewis, N. 2000. Capítulo 24. Natural products (secondary metabolites). En: Buchanan, B., Gruissem, W. & Jones, R. (Eds.). *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Physiologists. pp: 1250-1318.
- De la Garza, M. 1990. Sueño y alucinación en el mundo náhuatl y maya. 1a. Ed. Instituto de Investigaciones Filológicas. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. pp: 95.
- De Torquemada, J. 1975. Capítulo LIII. Vol. I. De las rentas y gasto de casa que tenía el rey Nezahualcóyotl de Tezcuco; y del concierto de sus audiencias y república, que es mucho de notar. *Monarquía Indiana*. Instituto de Investigaciones Históricas. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. pp: 231-234.
- Dicke, M. & Baldwin, I. T. 2010. The evolutionary context for herbivore-induced plant volatiles: beyond of the “cry for help”. *Trends in Plant Sciences* 15: 167-175.
- El-Readi, M. Z., Eid, H.H., Ashour, M. L., Eid, S.Y., Labib, R. M., Sporer F. & Wink M. 2013. Variations of the chemical composition and bioactivity of essential oils from leaves and stems of *Liquidambar styraciflua* (Altingiaceae). *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 65: 1653-1663.
- Fahn, A. 1988. Secretory tissues in vascular plants. *New Phytologist* 108: 229-257.
- FAO. 1995. Gums, resins and latexes of plant origin. *Non Wood Forest Products* 6: 68-70.
- FAO. 2010. Evaluación de los recursos forestales mundiales 2010. Informe principal. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia. 381 p.
- FAO. 2010. Casos ejemplares de Manejo Forestal Sostenible en América Latina y el Caribe. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia. 284 p.
- FAO 2011. Capítulo 2. “La creación de industrias forestales sostenibles”. Situación de los bosques del mundo. Organización de las Naciones Unidas la Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia. pp: 32-62.

- Fernandez, X., Lizzani-Cuvelier, L., Loiseau, A.M., Perichet, C., Delbecque, C. & Arnaudo, J.F. 2005. Chemical composition of the essential oils from Turkish and Honduras styrax. *Flavour and Fragrance Journal* 20: 70-73.
- Fukuda Y., Sakai K., Matsunaga H., Tokuda H. & Tanaka R. 2005. Cancer chemopreventive activity of lupane- and oleanane- type triterpenoids from de cones of *Liquidambar styraciflua*. *Chemistry and Biodiversity* 2: 421-428.
- Fromm, J. 2013. Parte I. Basic processes of wood formation. Xylem development in trees: from cambial divisions to mature wood cells. En: Fromm J. (Ed.). *Cellular aspects in wood formation*. Springer. Berlín, Alemania. pp: 1-39.
- García-Plazaola, J. I., Hernández, A. & Becerril, J. M. 2003. Antioxidant and pigment composition during autumnal leaf senescence in woody deciduous species differing in their ecological traits. *Plant Biology* 5: 557-566.
- Gaud, R. S., Surana, S. J., Talele G. S., Talele, S. G. & Gokhale, S.B. 2006. Natural excipients. 2a. Ed. Editorial Nirali Prakashan. Bangalore, Karnataka, India pp: 100.
- Gells, B.W., Wiens, D. & Hawksworth, F. G. 2002. Capítulo 3. Phoradendron in Mexico and the United States. En: Geils, B.W., Cibrian-Tovar, J. & Moody B. (tech. coords.). *Mistletoes of North American conifers*. Gen. Tech. Rep. RMRS-GTR-98. Ogden, UT: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Research Station. pp: 19-28.
- Gual-Díaz, M. & Rendón-Correa A. (comps.). 2014. *Bosques mesófilos de montaña de México: diversidad, ecología y manejo*. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México. 352 p.
- Gurbuz, I., Yesilada, E., Demirci, B., Sezik, E., Demirci, F. & Baser, K.H.C. 2013. Characterization of volatiles and anti-ulcerogenic effect of Turkish sweetgum balsam (*Styrax liquidus*). *Journal of Ethnopharmacology* 148: 332-336.
- Gürdal, B. & Külhür Ş. 2013. An ethnobotanical study of medicinal plants in Marmaris (Muğla, Turkey). *Journal of Ethnopharmacology* 146: 113-126.
- Gutiérrez, M. 2011. Análisis de la cadena de valor de la resina de *Liquidambar* en el departamento de Olancho, Honduras. Programa de Fomento al Manejo Sostenible de Recursos Naturales y Desarrollo Económico Local-PRORENA. Tegucigalpa, Honduras. 39 p.
- Handa, S., Kanuja, S., Longo, G. & Rakesh, D. (Eds.). 2008. *Extraction technologies for medicinal and aromatic plants*. International Centre for Science and High Technology. Trieste, Italia. 260 p.
- Hatano, T., Kira, R., Yoshizaki, M. & Okuda, T. 1986. Seasonal changes in the tannins of *Liquidambar formosana* reflecting their biogenesis. *Phytochemistry* 25: 2787- 2789.

Hawskworth, F.G. 1977. The 6 class mistletoe rating system. Gen. Tech. Rep. RM-48. Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Forest and Range Experiment Station. Ogden, UT. USA. 7 p.

Hübschmann, H.J. 2009. Capítulo 3. Evaluation of GC/MS. Handbook of GC/MS: Fundamentals and Applications. 2a Ed. Wiley-VCH. Weinheim, Alemania. pp: 309-313.

INEGI. 2009. Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. Calnali, Hidalgo. Clave geoestadística 13014. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. México, D.F. 9 p.

INEGI. 2009. Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. Tianguistengo, Hidalgo. Clave geoestadística 13060. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. México, D.F. 9 p.

INEGI. 2009. Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. Zacualtipán, Hidalgo. Clave geoestadística 13081. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. México, D.F. 9 p.

INEGI. 2010. México en cifras: información nacional, por entidad federativa y municipios. <http://www.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras> Consultado el 10 de agosto de 2012.

Jeon, S., Bose, S., Hur, J., Jun, K., Kim, J., Cho K. & Koo, B. 2011. A modified formulation of Chinese traditional medicine improves memory impairment and reduces AB level in the Tg-APP^{swe}/PS1^{dE9} mouse model of Alzheimer's disease. *Journal of Ethnopharmacology* 137: 783-789.

Kartal, N.S., Terzi e., Yoshimura, T., Arango, R., Clausen, C.A. & Green, F. 2012. Preliminary evaluation of storax and its constituents: Fungal decay, mold and termite resistance. *International Biodeterioration & Biodegradation* 70: 47-54.

Kim, K., Seo, S., Lee, S., Shin, S. & Park, I. 2008. Nematicidal activity of plants essential oils and components from coriander (*Coriandrum sativum*), oriental sweetgum (*Liquidambar orientalis*) and valerian (*Valeriana wallichii*) essential oils against pine wood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 7316-7320.

Koch, G., Puls J. & Bauch J. 2003. Topochemical characterization of phenolic extractives in discoloured beechwood (*Fagus sylvatica* L.). *Holzforschung* 57: 611-618.

Langenheim, J. H. 2003. Plant resins: chemistry, evolution, ecology and ethnobotany. Timber Press. Portland, Oregon, USA. 586 p.

Lattanzio, V. 2013. Capítulo 50. Phenolic compounds: Introduction. In: Ramawat, K. & Mérillon J-M. (Eds.). Natural products, phytochemistry, botany and metabolism of alkaloids, phenolics and terpenes. Springer. Berlin, Heidelberg. pp: 1543-1580.

Lawrence, B.M. 2007. Styrax oil. *Progress in essential oils. Perfumer & Flavorist* 32: 163-165.

- Leonhardt, S., Schmitt, T. & Blüthgen, N. 2011. Tree resin composition, collection behavior and selective filters shape chemical profiles of tropical bees (Apidae: Meliponini). PLoS ONE 6(8): 1-10
- Linares, E. & Bye, R. 2008. El copal en México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Biodiversitas 78: 8-11.
- Loewe-Muñoz, A. 2010. Apuntes sobre algunas latifoliadas de maderas valiosas 3. Liquidambar (*Liquidambar styraciflua* L). División silvicultura, Instituto Forestal. Chile.
- Marchin, R., Zeng, H. & Hoffmann W. 2010. Drought-deciduous behavior reduces nutrient losses from temperate deciduous trees under severe drought. Oecología 163: 845-854.
- Martin, D., Tholl, D., Gershenzon, J. & Bohlmann, J. 2002. Methyl jasmonate induces traumatic resin ducts, terpenoid resin biosynthesis, and terpenoid accumulation in developing xylem of Norway spruce stems. Plant Physiology 129: 1003-1018.
- McNair, J. B. 1930. Gum, tannin, and resin in relation to specificity, environment and function. American Journal of Botany 17: 187-196.
- Monterroso-Rivas, A.I. [ed.]. 2009. El Bosque mesófilo de montaña en el estado de Hidalgo: perspectiva ecológica frente al cambio climático. 1a Ed. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 146 p.
- Otsel, H., Zafer, T., Mustafa, S., Burhan, K., Ender, D.S. & Gokalan, K.I. 2012. Effects of oriental sweet gum storax on porcine wound healing. Journal of Investigative Surgery 25: 262-270.
- Ohno, O., Ye, M., Koyama, T., Yazawa, K., Mura, E., Matsumoto, H., Ichino, T., Yamada, K., Nakamura, K., Ohno, T., Yamaguchi, K., Ishida, J., Fukamizu, A. & Uemura D. 2008. Inhibitory effects of benzyl benzoate and its derivatives on angiotensin-II, induced hypertension. Biorganic & Medicinal Chemistry 16: 7843-7852.
- Pallardy, S.G. 2007. Capítulo 8. Lipids, terpenes and related substances. Physiology of Woody plants. 3a Ed. Academic Press, USA. pp: 217-232.
- Pennington, T. D. & Sarukhan, J. 2005. Árboles tropicales de México. Manual para identificación de las principales especies. Segunda edición. Universidad Nacional Autónoma de México y Fondo de Cultura Económica. México, D. F. 521 p.
- Peon y Contreras, J. 1873. Romance III. La Revelación. Romances mexicanos. Impresos por Díaz de León y White. México. pp: 143-156.
- Purata, S.E. (Ed.) 2008. Uso y manejo de los copales aromáticos: resinas y aceites. CONABIO/RAISES. México, D.F., 60 p.

Reitzenstein, E. 2007. El ámbar líquido de Honduras. Análisis de la cadena productiva de la resina de Liquidambar (*Liquidambar styraciflua*) desde las comunidades rurales hasta los mercados de exportación. DED, Tegucigalpa, Honduras. 14 p.

Ruelle, J. 2014. Capítulo 2. Morphology, anatomy and ultrastructure of reaction wood. *En*: Gardiner B., Barnett J., Saranpää P. & Gril J. (eds.). The biology of reaction wood. Springer. Berlín, Alemania. pp: 13-35.

Rzedowski, J. 1978. Vegetación de México. Editorial Limusa. México, D. F. 432 p.

Rzedowski, J. y Rzedowski-Calderón, G. 2011a. Viscaceae. *En*: flora del Bajío y de regiones adyacentes. Fascículo 170. Coedición entre el Instituto de Ecología A.C. y la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D.F. pp: 1-27.

Rzedowski, J. y Rzedowski-Calderón, G. 2011b. Principales hospederos y algunos otros datos ecológicos de las especies de Viscaceae en el estado de Querétaro. *En*: flora del Bajío y de regiones adyacentes, México. Fascículo complementario XXVI. Coedición entre el Instituto de Ecología A.C. y la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D.F. pp: 1-7.

Sagdıç, O., Özkan, G., Özkan, M. & Öşçelik, S. 2005. A study on inhibitory effects of sığla tree (*Liquidambar orientalis* Mill. var. *orientalis*) storax against several bacteria. *Phytotherapy Research* 19: 549-551.

Salminen, J. P. & Karonen, M. 2011. Evolutionary ecology in plant. Chemical ecology of tannins and other phenolics: we need a change in approach. *Functional Ecology* 25: 325-338.

S.C.C.P. 2005. Opinion on *Liquidambar* spp. balsam extracts and oils (storax). Scientific Committee on Consumer products. European Commission Health & Consumer Protection. 342 p.

Schmidt, E. 2010. Capítulo 4. Production of essential oils. *En*: Baser, K.H.C & Buchbauer, G. (Eds.). Handbook of essential oils: Science, technology and applications. CRC Press. Boca Raton, Florida, USA. pp: 83-119.

Sharma, P., Chaturvedi, N., Upadhyay, M. & Varma, S. 2013. Quantitative determination of total phenolic content in stem bark and leaves extracts of *Mandhuca longifolia*. *International Journal of Pharm Tech Research* 5: 1150-1154.

S.E.C.F. 2005. Diccionario forestal. 1a. Ed. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. 1326 p.

Sultana, B., Amwar, F. & Przybylski, R. 2007. Antioxidant activity of phenolic components present in barks of *Azadirachta indica*, *Terminalia arjuna*, *Acacia nilotica* y *Eugenia jambolana* Lam. trees. *Food Chemistry* 104: 1106-1114.

Taiz, L. & Zeiger, E. 2002. Capítulo 13. Secondary metabolites and plant defense. *Plant Physiology*. 3a. Ed. Sinauer Associates Inc. Sunderland, MA, USA. pp: 283-308.

Toledo, T. 2009. El bosque de niebla. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. *Biodiversitas* 83: 1-6.

Vázquez-Collazo, I., Villa-Rodríguez, A. & Madrigal-Huendo, S. 2006. Los muérdagos (Loranthaceae) en Michoacán. Libro técnico No.2. División forestal, Uruapan Michoacán. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional de Pacífico Centro, campo experimental, Uruapan. Editorial Litho Quality. Uruapan, Michoacán, México. 93 p.

Vázquez-Yanes, C., Batis-Muñoz, A. I., Alcocer-Silva, M. I., Gual-Díaz, M. & Sánchez-Dirzo, C. 1999. Árboles y arbustos potencialmente valiosos para la restauración ecológica y la reforestación. Reporte técnico del proyecto J084. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad - Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. pp: 134-137.

Vermerris, W. & Nicholson, R. 2006. Capítulo 6. The role of phenols in plant defense. *En: Phenolic compound biochemistry*. Springer. USA pp: 211-230.

Wagner, H. & Blatt, S. 2001. Capítulo 6. Drugs containing essential oils (*Aetherolea*), balsams and oleo-gum-resins. *Plant drug analysis. A thin layer chromatography atlas*. 2a. Ed. Springer. Heidelberg, Alemania pp: 149-192.

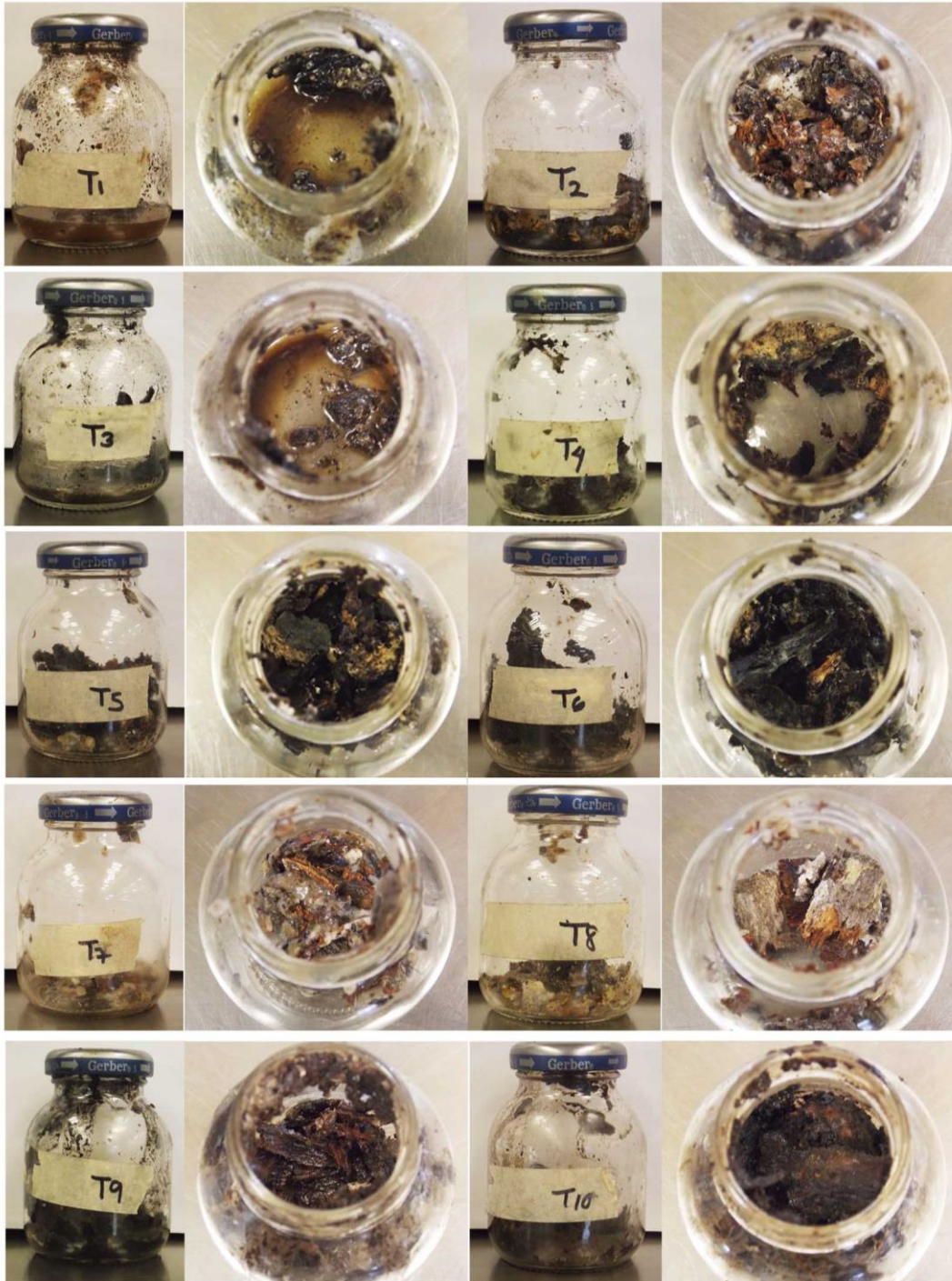
Williams, D. 1996. *The chemistry of essential oils: An introduction for aromatherapists, beauticians, retailers and students*. 1a. Ed. Micelle Press. Weymouth, Dorset, Reino Unido 342 p.

Wyllie, S.G. & Brophy, J.J. 1989. The leaf oil of *Liquidambar styraciflua*. *Planta Medica* 55: 316-317.

Zulak, K.G. & Bohlmann, J. 2010. Terpenoid biosynthesis and specialized vascular cells of conifer defense. *Journal of Integrative Plant Biology* 1: 86-97.

10 ANEXOS

10.1 Anexo 1. Resinas de *Liquidambar styraciflua* colectadas en época de lluvia en la comunidad de Tianguistengo, en el municipio de Tianguistengo, Hidalgo.



Nota: La letra **T** hace referencia al nombre de la comunidad y los números del 1-10, indican el número de árbol muestreado.
Fotografía Fátima Rasgado.

10.2 Anexo 1. Continuación. Resinas de *Liquidambar styraciflua* colectadas en época de lluvia en comunidades del estado de Hidalgo.



A) Comunidad Santa Lucía, municipio de Calnali (Stl1-Stl3). B) Predio Xochimilco, municipio de Calnali (Xo1-Xo4). C) Comunidad Xalapa, municipio de Zacualtipán (Xal1-Xal3). **Stl:** Santa Lucía; **Xo:** Xochimilco; **Xal:** Xalapa. Los números al lado de cada inicial hacen referencia al número de árbol muestreado. Fotografía Fátima Rasgado.

10.3 Anexo 2. Características organolépticas de las resinas de *Liquidambar styraciflua* antes del proceso de extracción. Colectadas en época de sequía, en la comunidad de Tianguistengo, Hidalgo.

Muestra	Contenido	Estado	Olor	Color de resina
T1	Resina con restos de corteza	Líquido	Penetrante y fuerte característico de la resina	Miel
T2	Resina con restos de corteza y sedimentos negros como partículas finas	Líquido	Característico de resina	Café oscuro casi negro
T3	Resina, pelo de vaca, corteza y sedimentos negros	Líquido	Penetrante y fuerte característico de la resina	Miel
T4	Resina negra, corteza	Líquido y una fracción viscosa	Olor suave a resina	Café oscuro
T5	Resina amarillenta con restos de corteza	Sólido	Olor penetrante característicos de la resina	Ámbar
T6	Resina blanca y negra, restos de hongos en la corteza, restos de corteza	Sólido	Olor penetrante característicos de la resina	Blanco y negro
T7	Resina con restos de corteza	Sólido	Olor suave a resina	Amarillo claro
T8	Resina amarilla con muy pocos residuos de madera	Sólido	Olor suave a resina	Amarillo claro
T9	Resina con restos de corteza, pelo de vaca y sedimentos negros	Sólido y una pequeña fracción líquida	Olor fuerte característico a resina	Miel
T10	Resina con sedimentos negros y restos de corteza	Líquido	Penetrante y fuerte característico de la resina	Miel

Nota: La letra T hace referencia a la comunidad de Tianguistengo, los números indican el número de árbol muestreado.

10.4 Anexo 2. Continuación. Características organolépticas de las resinas de *Liquidambar styraciflua* antes del proceso de extracción. Colectadas en época de sequía, en las comunidades de Santa Lucía, Xochimilco y Xalapa, en Hidalgo.

Muestra	Contenido	Estado	Olor	Color de resina
Stl2	Masa gelatinosa que parece resina color café	Semisólido	Suave que no corresponde al olor típico de la resina	Café oscura
Stl3	Resina con restos de corteza	Líquido	Penetrante y fuerte característico de la resina	Blanca
Xo1	Resina blanca con restos de corteza con hongos	Sólido	Fuerte característico a resina con notas maderables	Miel
Xo2	Líquido semiviscoso con sedimentos y restos de corteza con resina	Líquido	Fuerte característico a resina con notas maderables	Café oscuro
Xo3	Restos de mucílago y resina	Líquido	Fuerte característico a resina con notas maderables	Miel
Xo4	Resina oscura con restos de corteza y sedimentos oscuros	Líquido	Penetrante y fuerte característico de la resina	Café oscuro
Xal1	Líquido color café con sedimentos oscuros y restos de corteza y musgo	Líquido	Característico de resina con un toque de olor a tierra mojada	Café oscuro
Xal2	Resina oscura con restos de corteza y líquido café resinoso con sedimento	Líquido	Suave característico a resina	Miel
Xal3	Restos de resina blanca con corteza y hongos	Sólido	Característico de resina	Miel
Xal4	Resina café con restos de corteza	Líquido viscoso	Suave a resina con un poco de olor a tierra mojada	Ámbar

Nota: Las leyendas Stl, Xo y Xal hacen referencia a las comunidades de Santa Lucía, Xochimilco y Xalapa, respectivamente. Los números indican el número de árbol muestreado.

10.5 Anexo 3. Características organolépticas de resinas de *Liquidambar styraciflua* antes del proceso de extracción. Colectadas en época de lluvia en la comunidad de Tianguistengo, en Hidalgo.

Muestra	Contenido	Estado	Olor	Color de resina
T1	Restos de corteza	Líquido	Penetrante y fuerte característico de la resina	Miel
T2	Pelo de vaca, corteza	Sólido	Característico de resina	Miel c/ partículas blancas
T3	Pelo de vaca, corteza	Líquido	Penetrante y fuerte característico de la resina	Miel c/ partículas negras
T4	Resina oscura, corteza	Semisólido	Olor suave a resina	Ámbar oscuro
T5	Resina oscura, blanca y restos de corteza	Sólido	Olor penetrante característicos de la resina	Residuos blancos, amarillos y negros
T6	Partículas de resina blanca sobre resina oscura, restos de hongos en la corteza	Sólido	Olor penetrante característicos de la resina	Resina blanca y negra
T7	Resina blanca con restos de corteza	Sólido	Olor suave a resina	Blanco
T8	Resina blanca y amarillenta con restos de corteza y hongos unidos a la corteza	Sólido	Olor suave a resina	Blanco y amarillo
T9	Resina blanca y negra con restos de corteza y pelo de vaca	Sólido	Olor fuerte característico a resina	Resina blanca con una porción de líquido color miel y sedimento negro
T10	Resina con sedimentos negros y restos de corteza	Líquido viscoso	Penetrante y fuerte característico de la resina	Miel

Nota: La letra T hace referencia a la comunidad de Tianguistengo, los números indican el número de árbol muestreado.

10.6 Anexo 3. Continuación. Características organolépticas de resinas de *Liquidambar styraciflua* antes del proceso de extracción. Colectadas en época de lluvia en las comunidades de Santa Lucía, Xochimilco y Xalapa, en Hidalgo.

Muestra	Contenido	Estado	Olor	Color de resina
Stl2	Masa gelatinosa que parece resina color café	Masa gelatinosa	Olor suave que no corresponde al olor típico de la resina	Ámbar oscuro
Stl3	Resina blanca con restos de corteza	Semisólido	Penetrante y fuerte característico de la resina	Blanco
Xo1	Resina blanca con restos de corteza con hongos	Sólido	Olor fuerte característico a resina con notas maderables	Blanco
Xo2	Líquido semiviscoso con sedimentos y restos de corteza con resina	Líquido	Olor fuerte característico a resina con notas maderables	Café oscuro
Xo3	Líquido semiviscoso con sedimentos y restos de corteza con resina	Líquido	Olor fuerte característico a resina con notas maderables	Café oscuro
Xo4	Resina obscura con restos de corteza y sedimentos oscuros	Líquido viscoso	Penetrante y fuerte característico de la resina	Ámbar oscuro
Xal1	Líquido color café con sedimentos oscuros y restos de corteza y musgo	Líquido	Característico de resina con un toque de olor a tierra mojada	Café oscuro
Xal2	Resina blanca y obscura con restos de corteza y líquido café resinoso con sedimento	Líquido	Olor suave a resina	Miel
Xal3	Restos de resina blanca con corteza y hongos	Sólido	Característico de resina	Ámbar oscuro
Xal4	Resina café con restos de corteza	Líquido viscoso	Olor suave a resina con un poco de olor a tierra mojada	Café oscuro

Nota: Las leyendas Stl, Xo y Xal hacen referencia a las comunidades de Santa Lucía, Xochimilco y Xalapa, respectivamente. Los números indican el número de árbol muestreado.

10.7 Anexo 4. Características organolépticas de resinas de *Liquidambar styraciflua* después del proceso de extracción con solvente, muestras recolectadas en época de sequía.

Muestra	Apariencia	Estado	Color	Olor
T1	Levemente viscosa	Semilíquida	Ámbar	Característico de resina con notas de aroma a miel
T2	Levemente viscosa	Semilíquida	Café oscuro	Característico de resina con notas de aroma a miel
T3	Levemente viscosa	Semilíquida	Ámbar	Característico de resina con notas a madera
T4	Levemente viscosa	Semilíquida	Café rojizo-ámbar	Característico de resina con notas a madera
T5	Levemente viscosa	Semilíquida	Ámbar	Característico de resina con notas de aroma a miel
T6	Levemente viscosa	Semilíquida	Ámbar	Característico de resina con notas de aroma a miel
T7	Levemente viscosa	Semilíquida	amarillo-ámbar	Característico de resina con notas de aroma a miel
T8	Levemente viscosa	Semilíquida	amarillo-ámbar	Característico de resina con notas de aroma a miel
T9	Levemente viscosa	Semilíquida	Café rojizo-ámbar	Característico de resina con notas de aroma a miel
T10	Levemente viscosa	Semilíquida	Ámbar	Característico de resina con notas de aroma a miel
Stl1	Levemente viscosa	Semilíquida	amarillo-ámbar	Característico de resina con notas de aroma a miel
Stl2	Levemente viscosa	Semilíquida	amarillo-ámbar	Característico de resina con notas de aroma a miel
Stl3	Trazas de resina blanca, totalmente viscosa	Semilíquida	Ámbar y blanca	Característico de resina
Xo1	Levemente viscosa	Semilíquida	Ámbar	Característico de resina
Xo2	Levemente viscosa	Semilíquida	Ámbar	Característico de resina con notas de aroma a miel
Xo3	Levemente viscosa	Semilíquida	Ámbar	Característico de resina con notas de aroma a miel
Xo4	Levemente viscosa	Semilíquida	Ámbar	Característico de resina con notas de aroma a miel
Xal1	Levemente viscosa	Semilíquida	Café rojizo-ámbar	Característico de resina con notas de aroma a miel
Xal2	Levemente viscosa	Semilíquida	Café rojizo-ámbar	Característico de resina con notas de aroma a miel
Xal3	Levemente viscosa	Semilíquida	Café rojizo-ámbar	Característico de resina con notas de aroma a miel
Xal4	Levemente viscosa	Semilíquida	Café rojizo-ámbar	Característico de resina con notas de aroma a miel

Nota: Las leyendas T, Stl, Xo y Xal hacen referencia a las comunidades de Tianguistengo, Santa Lucía, Xochimilco y Xalapa, respectivamente. Los números indican el número de árbol muestreado.

10.8 Anexo 4. Continuación. Características organolépticas de resinas de *Liquidambar styraciflua* después del proceso de extracción con solvente, muestras recolectadas en época de lluvia.

Muestra	Apariencia	Estado	Color	Olor
T1	Levemente viscosa	Semilíquida	Amarillo-ámbar	Característico de resina con notas de aroma a miel
T2	Levemente viscosa	Semilíquida	Café rojizo-ámbar	Característico de resina con notas de aroma a miel
T3	Levemente viscosa	Semilíquida	Café claro-ámbar	Característico de resina con notas de aroma a miel
T4	Trazas de resina blanca, totalmente viscosa	Semisólida	Café claro-ámbar	Característico de resina con notas de aroma a miel
T5	Levemente viscosa	Semilíquida	Café rojizo-ámbar	Característico de resina con notas de aroma a miel
T6	Levemente viscosa	Semilíquida	Café rojizo-ámbar	Característico de resina con notas de aroma a miel
T7	Levemente viscosa	Semilíquida	Amarillo-ámbar	Característico de resina con notas de aroma a miel
T8	Levemente viscosa	Semilíquida	Amarillo-ámbar	Característico de resina con notas de aroma a miel
T9	Levemente viscosa	Semilíquida	Café claro-ámbar	Característico de resina con notas de aroma a miel
T10	Levemente viscosa	Semisólida	Café rojizo-ámbar	Característico de resina con notas de aroma a miel
Stl1	Levemente viscosa	Semilíquida	Amarillo-ámbar	Característico de resina con notas a madera
Stl2	Levemente viscosa	Semilíquida	Amarillo-ámbar	Característico de resina con notas a madera
Stl3	Levemente viscosa	Semilíquida	Amarillo claro	Característico de resina con notas de aroma a miel
Xo1	Levemente viscosa	Semilíquida	Amarillo-ámbar	Característico de resina con notas de aroma a miel
Xo2	Levemente viscosa	Semisólida	Café rojizo-ámbar	Característico de resina con notas a madera
Xo3	Levemente viscosa	Semilíquida	Café rojizo-ámbar	Característico de resina con notas de aroma a miel
Xo4	Trazas de resina blanca, totalmente viscosa	Semisólida	Café rojizo-ámbar	Característico de resina con notas de aroma a miel
Xal1	Trazas de resina blanca, totalmente viscosa	Semisólida	Café rojizo-ámbar	Característico de resina con notas de aroma a miel
Xal2	Levemente viscosa	Semilíquida	Café rojizo-ámbar	Característico de resina con notas de aroma a miel
Xal3	Levemente viscosa	Semilíquida	Café rojizo-ámbar	Característico de resina con notas de aroma a miel
Xal4	Levemente viscosa	Semilíquida	Café rojizo-ámbar	Característico de resina con notas de aroma a miel

Nota: Las leyendas T, Stl, Xo y Xal hacen referencia a las comunidades de Tianguistengo, Santa Lucía, Xochimilco y Xalapa, respectivamente. Los números indican el número de árbol muestreado.