

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES



**“DURABILIDAD NATURAL DE MADERA DE TECA
(*Tectona grandis* L.f.) PROCEDENTE DE
CHANCHAMAYO - JUNÍN”**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE INGENIERO FORESTAL

KAREN NATHALY FABIÁN HIDALGO

LIMA – PERÚ

2020

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES

**“DURABILIDAD NATURAL DE MADERA DE TECA
(*Tectona grandis* L.f.) PROCEDENTE DE
CHANCHAMAYO - JUNÍN”**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE INGENIERO FORESTAL

KAREN NATHALY FABIÁN HIDALGO

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

.....
Ing. Milo Bozovich Granados, Mg. Sc.

Presidente

.....
Ing. Miguel Ángel Meléndez Cárdenas, Mg.Sc.

Miembro

.....
Ing. Florencio Teodoro Trujillo Cuellar, Mg.Sc.

Miembro

.....
Ing. Martín Araujo Flores

Asesor

.....
Quím. Deysi Rocío Guzmán Loayza

Co Asesora

DEDICATORIA

El presente trabajo de investigación lo dedico:

A mis padres, Lilia y Esaú, por el amor, sacrificio y apoyo incondicional que recibo de ellos todos los días; y por enseñarme que para alcanzar nuestras metas, a veces es necesario dar incluso lo que uno no tiene.

A mi hermana Mayra, por ser mi ejemplo de fortaleza, entrega y constancia.

Y a mi abuelita Liduvina, por creer en mí, en mis sueños y “en mi buena cabeza” como ella decía.

AGRADECIMIENTO

La aventura de desarrollar la tesis de pregrado me ha permitido poner a prueba mis habilidades y conocimientos como persona y profesional. Y ahora, que ha llegado el momento de terminar, espero que mi memoria pueda enumerar y agradecer a cada uno de los que me han acompañado en el logro de esta meta:

Al Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Nacional Agraria La Molina, y a la Unidad de Desarrollo Tecnológico de la Universidad de Concepción de Chile, por apoyar y financiar la investigación.

A mi asesor, Ing. Martín Araujo Flores; y a mi co asesora, Quím. Deysi Guzmán Loayza; por haber contribuido de forma significativa en el desarrollo de la tesis, por la paciencia, el tiempo, conocimientos y los consejos brindados.

Al profesor PhD. Héctor Enrique Gonzáles Mora, al Mg. Sc. Florencio Trujillo Cuellar, a la Dra. Claudia Mardones Peña y a la Dra. Cecilia Fuentealba, por compartir sus experiencias, por la confianza brindada y las facilidades para el desarrollo de la investigación.

A los técnicos de laboratorios: Jaime Borja, Enrique Cabrera, Marco Panduro y Vicente Huamán.

A Dangela, Angie, Jordan, Carmina y todos los que me apoyaron con su amistad incondicional, por ayudarme en la fase experimental de la investigación o regalarme unas palabras de aliento.

A mis padres, hermana y familia en general por su amor, preocupación y confianza.

INDICE GENERAL

DEDICATORIA.....	iv
AGRADECIMIENTO.....	v
ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiii
RESUMEN.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	2
2.1. Especie en estudio: “Teca” (<i>Tectona grandis</i> L.f.).....	2
2.1.1. Distribución geográfica.....	2
2.1.2. Condiciones de óptimo crecimiento.....	4
2.1.3. Características y propiedades de la madera.....	4
2.2. Pudrición de la madera.....	5
2.2.1. Tipos de pudrición.....	6
2.3. Durabilidad natural de la madera.....	7
2.3.1. Factores responsables de la durabilidad natural.....	8
2.3.2. Métodos para determinar la durabilidad natural.....	8
2.3.3. Antecedentes de ensayos de durabilidad natural en laboratorio.....	9
2.4. Extractivos de la madera.....	11
2.4.1. Metabolitos celulares.....	12
2.4.2. Grupos funcionales más importantes.....	12
2.4.3. Obtención de extractivos de la madera.....	14
2.4.4. Análisis fitoquímico de los extractivos de madera.....	14
2.4.5. Antecedentes de los extractivos e identificación de compuestos.....	17

III.	METODOLOGÍA.....	21
3.1.	Área de estudio	21
3.2.	Materiales y equipos	23
3.2.1.	Material biológico	23
3.2.2.	Reactivos	23
3.2.3.	Equipos y otros materiales.....	24
3.3.	Métodos y procedimientos.....	26
3.3.1.	Acondicionamiento de las muestras	27
3.3.2.	Durabilidad natural de la madera de <i>T. grandis</i>	28
3.3.3.	Contenido de extractivos totales de la madera de <i>T. grandis</i>	32
3.3.4.	Análisis fitoquímico de los extractivos de la madera de <i>T. grandis</i>	36
3.4.	Diseño experimental y análisis estadístico	47
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	50
4.1.	Durabilidad natural de madera de <i>T. grandis</i>	50
4.1.1.	Pérdida de peso de las probetas de madera.....	50
4.1.2.	Variación de la pérdida de peso de la madera de <i>T. grandis</i>	53
4.1.3.	Clasificación de la madera de <i>T. grandis</i> por su durabilidad natural	56
4.2.	Extractivos totales de madera de <i>T. grandis</i>	57
4.2.1.	Contenido de extractivos de la madera.....	57
4.2.2.	Variación del contenido total de extractivos de la madera de <i>T. grandis</i>	59
4.3.	Análisis fitoquímico de los extractivos de madera de <i>T. grandis</i>	62
4.3.1.	Solubilidad de la madera	62
4.3.2.	Tamizaje fitoquímico.....	62
4.3.3.	Identificación de metabolitos secundarios.....	68
4.3.4.	Cuantificación de polifenoles totales.....	71
4.3.5.	Determinación de la capacidad antioxidante	74

4.4. Relación entre la durabilidad natural de madera de <i>T. grandis</i> y las propiedades fitoquímicas de sus extractivos	78
V. CONCLUSIONES	80
VI. RECOMENDACIONES	81
VII. BIBLIOGRAFÍA.....	82
VIII. ANEXOS	92

Índice de tablas

Tabla 1: Características tecnológicas de la madera de <i>T. grandis</i>	5
Tabla 2: Metabolitos secundarios aislados de <i>T. grandis</i>	18
Tabla 3: Composición de 1 litro de medio de cultivo PDA	29
Tabla 4: Clasificación de la madera por su resistencia biológica.....	32
Tabla 5: Resultado según cada ensayo de alcaloides	38
Tabla 6: Color de la reacción y grupos fenólicos que representan.....	38
Tabla 7: Color de la reacción y flavonoides a los que se relaciona.....	39
Tabla 8: Pérdida de peso (%) de la madera de <i>T. grandis</i> y testigo	51
Tabla 9: Comparación de resultados de durabilidad natural de <i>T. grandis</i>	52
Tabla 10: Análisis de varianza (ANOVA) de la pérdida de peso de la madera de <i>T. grandis</i>	54
Tabla 11: Clasificación de la madera de <i>T. grandis</i> por su durabilidad natural según la norma ASTM D 2017	56
Tabla 12: Contenido de extractivos (%) en la madera de <i>T. grandis</i> obtenidos con diferentes solventes.....	57
Tabla 13: Comparación de resultados de extractivos totales de <i>T. grandis</i>	58
Tabla 14: Análisis de varianza (ANOVA) del contenido total de extractivos de la madera de <i>T. grandis</i>	60
Tabla 15: Grado de solubilidad (%) de los extractos de la madera de <i>T. grandis</i>	62
Tabla 16: Tamizaje fitoquímico de los extractivos en la madera de <i>T. grandis</i>	63
Tabla 17: MS identificados por HPLC ESI Q TOF en madera de <i>T. grandis</i>	70
Tabla 18: Contenido de polifenoles totales (mg EAG/g)	72
Tabla 19: Análisis de varianza (ANOVA) del contenido de polifenoles totales.....	72
Tabla 20: Capacidad antioxidante ORAC (mmol TE/g)	75
Tabla 21: Análisis de varianza (ANOVA) de la capacidad antioxidante	76

Índice de figuras

Figura 1: Esquema de un equipo HPLC acoplado con un espectrómetro de masas	15
Figura 2: Métodos utilizados en el estudio de la madera de <i>T. grandis</i>	26
Figura 3: Disposición de las rodajas a lo largo del fuste del árbol de <i>T. grandis</i>	27
Figura 4: Rodajas de los cinco individuos ensayados de <i>T. grandis</i>	27
Figura 5: Procedimiento para determinar la durabilidad natural.....	28
Figura 6: Aislamiento de <i>P. sanguineus</i>	29
Figura 7: Aislamiento de <i>S. commune</i>	29
Figura 8: Tiras de alimentación inoculadas con micelio.....	30
Figura 9: Disposición en las rodajas y dimensiones de las probetas para el ensayo de durabilidad natural de <i>T. grandis</i>	30
Figura 10: Montaje de cámaras de pudrición	31
Figura 11: Cámaras de pudrición en proceso de incubación.....	31
Figura 12: Procedimiento para cuantificar los extractivos totales de la madera	33
Figura 13: Procesamiento de muestras de madera para la evaluación de extractivos a partir de rodajas tomadas a diferentes niveles de altura del fuste	33
Figura 14: Extracción con etanol por Soxhlet de las muestras de <i>T. grandis</i>	34
Figura 15: Extracción con agua fría de las muestras de <i>T. grandis</i>	35
Figura 16: Extracción con agua caliente de las muestras de <i>T. grandis</i>	35
Figura 17: Proceso de análisis fitoquímico de los extractivos de madera.....	36
Figura 18: Tamizaje fitoquímico de la madera de duramen de <i>T. grandis</i>	37
Figura 19: Extractos etanólicos de madera de <i>T. grandis</i> en tubos Falcon.....	40
Figura 20: Procedimiento para la identificación de metabolitos secundarios de los extractos de madera	40
Figura 21: Equipo HPLC- ESI Q TOF utilizado en el ensayo	41
Figura 22: Viales e insertos con extracto de albura y duramen de <i>T. grandis</i> a tres niveles de altura del fuste y un blanco	41
Figura 23: Parámetros cromatográficos utilizados en la identificación de MS de la madera de <i>T. grandis</i>	42
Figura 24: Despliegue de visualización de “Compass Data Analysis 4.4”	43

Figura 25: Despliegue de visualización de Met Frag Beta para la identificación de compuestos	44
Figura 26: Procedimiento para la cuantificación de polifenoles	44
Figura 27: Procedimiento para la determinación de la capacidad antioxidante.....	46
Figura 28: Ensayo de polifenoles y capacidad antioxidante de muestras de <i>T. grandis</i>	47
Figura 29: Vista superior de las cámaras de pudrición incubadas por tres meses	50
Figura 30: Comparación de medias entre los tratamientos aplicados a la madera de <i>T. grandis</i> y el testigo	52
Figura 31: Comparación de medias para la pérdida de peso de la madera de <i>T. grandis</i> según el tipo de leño	55
Figura 32: Comparaciones de medias de la pérdida de peso de la madera de <i>T. grandis</i> según el nivel de altura del fuste	55
Figura 33: Contenido de extractivos totales de la madera de albura y duramen de <i>T. grandis</i> en diferentes niveles de altura del fuste.....	58
Figura 34: Comparación de medias del contenido de extractivos totales de la madera de <i>T. grandis</i> según el tipo de leño.....	61
Figura 35: Comparación de medias del contenido de extractivos totales de la madera de <i>T. grandis</i> según el nivel longitudinal del fuste.....	61
Figura 36: Ensayo de Fehling en las muestras de <i>T. grandis</i>	63
Figura 37: Ensayo de alcaloides en las muestras de <i>T. grandis</i>	64
Figura 38: Ensayo de FeCl ₃ en las muestras de <i>T. grandis</i>	65
Figura 39: Ensayo de la gelatina en las muestras de <i>T. grandis</i>	65
Figura 40: Ensayo de Shinoda en las muestras de <i>T. grandis</i>	66
Figura 41: Ensayo de Borträger en las muestras de <i>T. grandis</i>	66
Figura 42: Ensayo de Baljet en las muestras de <i>T. grandis</i>	67
Figura 43: Ensayo de la espuma en las muestras de <i>T. grandis</i>	67
Figura 44: BPC y cromatograma UV del extracto de duramen basal de <i>T. grandis</i>	68
Figura 45: BPC y cromatograma UV del extracto de albura basal de <i>T. grandis</i>	69
Figura 46: Comparación de medias del contenido de polifenoles (mg EAG/g) según el efecto de los tipos de leño para cada nivel de altura del fuste.....	73
Figura 47: Comparación de medias del contenido de polifenoles (mg EAG/g) según el efecto de los niveles de altura del fuste para cada tipo de leño	74
Figura 48: Comparación de medias de la capacidad antioxidante (mmol TE/g) según el efecto de los tipos de leño para cada nivel de altura del fuste.....	77

Figura 49: Comparación de medias de la capacidad antioxidante (mmol TE/g) según el efecto de los niveles de altura del fuste para cada tipo de leño	77
Figura 50: Matriz de correlación de Pearson entre la pérdida de peso y propiedades fitoquímicas de los extractivos de la madera de <i>T. grandis</i>	78

Índice de anexos

Anexo 1: Mapa de ubicación de la plantación de <i>T. grandis</i>	92
Anexo 2: Constancia de identificación de la especie maderable	93
Anexo 3: Descripción de los hongos de pudrición utilizados	94
Anexo 4: Datos para la determinación de la pérdida de peso en la madera de <i>T. grandis</i> ..	96
Anexo 5: Datos para la cuantificación de extractivos totales en la madera de <i>T. grandis</i>	100
Anexo 6: Datos para determinar el grado de solubilidad de los extractos de madera de <i>T. grandis</i>	103
Anexo 7: Perfil de cromatogramas.....	104
Anexo 8: Metabolitos secundarios identificados en la madera de <i>T. grandis</i>	105
Anexo 9: Cuantificación de polifenoles	107
Anexo 10: Capacidad antioxidante	108
Anexo 11: Análisis estadístico de la variable pérdida de peso	109
Anexo 12: Análisis estadístico de la variable extractivos totales	110
Anexo 13: Análisis estadístico de la variable polifenoles totales	111
Anexo 14: Análisis estadístico de la variable capacidad antioxidante	112
Anexo 15: Análisis de correlación entre la durabilidad natural y las propiedades fitoquímicas de los extractivos de la madera.....	113

RESUMEN

En el presente estudio se evaluó la resistencia a la degradación de la madera de *Tectona grandis* L.f., procedente de la plantación de 33 años del fundo Génova, del IRD Selva - UNALM en Chanchamayo – Junín, considerando la madera de albura y duramen de rodajas distribuidas a tres niveles de altura del fuste en cinco árboles. Según la durabilidad natural determinada bajo referencia de la Norma ASTM D 2017-05, la madera frente a los hongos de pudrición blanca *Pycnoporus sanguineus* y *Schizophyllum commune*, se clasificó como resistente en el duramen y moderadamente resistente en la albura, con pérdidas de peso que incrementan desde la base al ápice del árbol. También, se determinó el contenido de extractivos totales según Normas TAPPI, utilizando etanol al 96 %, agua fría y agua caliente; este contenido resultó mayor en la zona basal del fuste predominando los solubles en etanol. Así mismo, se identificaron los metabolitos secundarios mediante marcha fitoquímica y un sistema de cromatografía líquida acoplada con espectrometría de masas, los cuales presentaron una distribución uniforme a lo largo del fuste, pero con mayor variedad en el duramen, donde se encontró dos flavanonas, una flavona, una chalcona, un estilbeno, cuatro naftoquinonas y una antraquinona diferente a tectoquinona. Por último, se cuantificó el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante mediante los métodos Folin - Ciocalteu y ORAC respectivamente; propiedades que mostraron un comportamiento uniforme en el duramen, pero descendiente en la albura de la base al ápice del árbol. De esta forma, se encontró que el contenido de extractivos totales, polifenoles y capacidad antioxidante es inversamente proporcional a la pérdida de peso de la madera; siendo el contenido de polifenoles, el mejor indicador fitoquímico de la durabilidad natural de la madera de *T. grandis*.

PALABRAS CLAVE

Tectona grandis L.f.; pudrición blanca; extractivos de la madera; metabolitos secundarios; polifenoles; capacidad antioxidante.

ABSTRACT

In this study, the resistance to degradation of *Tectona grandis* L.f. wood, from the 33 years plantation of the Genova estate, of the IRD Selva - UNALM in Chanchamayo - Junín, was evaluated considering the sapwood and heartwood of distributed slices at three levels of the shaft in five trees. distributed at three levels of the shaft. According to the natural durability determined under reference of the ASTM D 2017-05 Standard, wood against white rot fungi *Pycnoporus sanguineus* and *Schizophyllum commune*, was classified as resistant in the heartwood and moderately resistant in the sapwood, with weight losses that increase from the base to the apex of the tree. Too, the total extractives content was determined according to TAPPI Standards, using 96% ethanol, cold water and hot water; this content was higher in the basal zone of the shaft predominantly those soluble in ethanol. Likewise, secondary metabolites were identified by phytochemical gait and a liquid chromatography system coupled with mass spectrometry, which presented a uniform distribution along the shaft, but with greater variety in the heartwood, where two flavanones were found, one flavone, a chalcona, a stilbene, four naphthoquinones and a different anthraquinone than tectoquinone. Finally, the polyphenol content and antioxidant capacity were quantified using the Folin-Ciocalteu and ORAC methods respectively; properties that showed a uniform behavior in the heartwood, but descending in the sapwood of the base at the apex of the tree. In this way, it was found that the content of total extractives, polyphenols and antioxidant capacity is inversely proportional to the weight loss of the wood; being the polyphenol content, the best phytochemical indicator of the natural durability of *T. grandis* wood.

KEY WORDS

Tectona grandis L.f.; white rot; wood extractives; secondary metabolites; polyphenols; antioxidant capacity

I. INTRODUCCIÓN

La madera es uno de los materiales más importantes y versátiles en la construcción y la industria inmobiliaria, gracias a su gran variedad, facilidad de trabajo, baja densidad en comparación con otros materiales, y por ser un buen aislante térmico y acústico cuando se encuentra seca. Si bien es cierto, los usos que se le dan a la madera se determinan teniendo en cuenta las propiedades mencionadas, estos se ven condicionados por una vida útil limitada según los factores de deterioro a los que será expuesta la madera. Factores que, por tratarse de un material de origen orgánico, se relacionan a la acción de agentes biológicos, entre los que destacan los hongos de pudrición y su actividad enzimática.

Existen maderas que debido a su elevada resistencia son muy cotizadas para ser usadas en condiciones de intemperismo, en contacto con el suelo o el agua. Incluso se plantea el uso de los extractivos de estas maderas resistentes como potenciales constituyentes de biopreservantes de maderas de baja resistencia, por ser considerados responsables de esta propiedad. *Tectona grandis* L.f., es una de estas especies, conocida a nivel mundial por su madera de alta resistencia al deterioro biológico, utilizada en construcciones de puentes, muelles, embarcaciones, muebles de jardín; y por presentar sustancias químicas que la protegen de la degradación. Sin embargo, el comportamiento de estas propiedades, resulta altamente variable en cualquier especie, entre árboles de la misma, e incluso dentro del mismo árbol, con la edad y el diámetro. Así mismo, dependen de factores como la silvicultura, el clima y el sitio donde crece.

El Perú; considerado con gran potencial para el cultivo de *T. grandis*, debido a las condiciones climáticas favorables para su desarrollo, aún no cuenta con información científica disponible sobre la resistencia biológica de la madera que crece en el país, ni sobre las propiedades fitoquímicas de sus extractivos a las cuales estaría relacionada. Información que resulta de gran importancia a la hora de tomar decisiones sobre el tratamiento silvicultural y tecnológico que se le dé a la especie, así como sobre los usos potenciales de su madera y de los extractivos que se obtengan de ella.

Por lo expuesto y por la necesidad de contar con resultados representativos de *T. grandis* en el país; en la presente investigación se evaluó la resistencia biológica de la madera de *Tectona grandis* L.f., procedente de la plantación experimental del fundo Génova, que pertenece al Instituto Regional de Desarrollo (IRD) – Selva, de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM), en Chanchamayo -Junín. Para lo cual se plantearon los siguientes objetivos específicos:

- Determinar la durabilidad natural de la madera en laboratorio ante dos hongos de pudrición blanca (*Pycnoporus sanguineus* y *Schizophyllum commune*).
- Determinar el contenido de extractivos totales de la madera.
- Identificar los metabolitos secundarios presentes en los extractos de madera, mediante tamizaje fitoquímico y sistema de cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas.
- Cuantificar el contenido de polifenoles totales de los extractos de la madera.
- Determinar la capacidad antioxidante de los extractos de la madera.
- Determinar la relación entre la durabilidad natural de la madera y las propiedades fitoquímicas de sus extractivos.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Especie en estudio: “Teca” (*Tectona grandis* L.f.)

A continuación, se presenta la información recopilada sobre *Tectona grandis* L.f., incluyendo su distribución geográfica, condiciones óptimas de crecimiento y las características y propiedades de la especie, en particular de su madera como producto principal.

2.1.1. Distribución geográfica

La Teca (*Tectona grandis* L. f.) perteneciente a la familia *Lameiaceae* (*Verbenaceae*), es originaria del sureste asiático (India, Laos, Myanmar y Tailandia), e introducida y naturalizada en Java (Indonesia) probablemente hace 400 a 600 años atrás (Pandey & Brown, 2000). Sin embargo, debido a su calidad de madera, la *T. grandis* ha sido establecida también en gran parte de la zona tropical de Asia, de África (Costa de Marfil, Nigeria, Sierra Leona, Tanzania, Ghana y Toga), en América Latina (Colombia, Ecuador, Venezuela Brasil, Bolivia y Perú) y el Caribe (Costa Rica, El Salvador, Panamá, Trinidad y Tobago, Jamaica, Honduras y Cuba) (Palanisamy, Hegde, & Yi, 2009; Pandey & Brown, 2000).

Según la Evaluación de Recursos y Mercado de *T. grandis* del 2010 (ERMT-2010), realizada para actualizar y ampliar la información disponible de los bosques naturales y plantados con la especie, se estimó que los bosques nativos cubren alrededor de 29,035 millones de ha en India, Laos, Myanmar y Tailandia, encontrándose casi la mitad del total en Myanmar; mientras que el área de los bosques plantados, según los países con información disponible, se estima en 4,346 millones de ha de los cuales el 83 % corresponde a Asia, seguida de un 11 % en África y un 6 % en América Tropical. Sin embargo; teniendo en cuenta los datos que aun faltarían de los países donde crece la *T. grandis* sin información disponible, sobre todo en América Latina, la cifra del área real de los bosques plantados estaría subestimada (Kollert & Cherubini, 2012).

2.1.2. Condiciones de óptimo crecimiento

Para su óptimo crecimiento y desarrollo la especie requiere de un clima cálido húmedo, con precipitaciones de 1300 a 2500 mm anuales, con al menos tres a cinco meses de estación seca con 60 mm de precipitación como mínimo, temperaturas de 23 a 27 °C en promedio; altitud entre los 200 y 900 msnm., y pendiente media (menor al 25 %). Para que *T. grandis* desarrolle todo su potencial, requiere de suelos profundos, fértiles, con buen drenaje por no tolera inundaciones, y pH de 6,5 a 7,5. Así mismo, debe plantarse en terrenos aluviales, ondulados con abundante materia orgánica (Camino, 2013; FONAFIFO, 2003).

El Perú, es considerado un país con gran potencial para el cultivo de *T. grandis*, por contar con lugares que presentan condiciones climáticas y suelos apropiados para esta especie (Camino, 2013).

2.1.3. Características y propiedades de la madera

El principal producto de esta especie es la madera, generalmente de duramen, la cual es muy utilizada en la elaboración de decking, muebles finos, componentes decorativos de jardín, e incluso en la conformación de barriles para guardar productos químicos o instrumentos científicos. Pero, donde prácticamente es insustituible, es en las construcciones navales, muelles o puentes, por su gran resistencia al sol, calor, frío y al agua de las lluvias y del mar (Feitosa, 2013).

La madera es diferenciable, mientras el duramen posee un color café dorado la albura es de color amarillo cremoso. Presenta brillo elevado, un vetado en arcos superpuestos bien demarcados, líneas verticales y característico. Grano recto, textura fina y anillos de crecimiento muy poco diferenciado por bandas oscuras e irregulares (Chavesta & Condori 2005).

Anatómicamente la madera se describe con: Poros visibles a simple vista, ovalados, solitarios en mayor proporción y también múltiples radiales, contenidos de sílices, con platina de perforación simple y horizontal, y punteaduras intervasculares alternas. El parénquima longitudinal es visible con lupa 10X, es apotraqueal difuso, marginal, fusiforme y septado. Los radios son visibles a simple vista, son no estratificados, multiseriados, homogéneos y heterogéneos de tipo II y con

punteaduras radiovasculares similares a las intervascuales. En el caso de las fibras estas son no estratificadas y fusiformes (Chavesta & Condori 2005; Romero, 2010).

En cuanto a sus propiedades físico mecánicas, la madera de *T. grandis* presenta las siguientes:

Tabla 1: Características tecnológicas de la madera de *T. grandis*

Propiedades físicas	
Densidad básica	0,57 g/cm ³
Contracción tangencial	4 %
Contracción radial	2,2 %
Estabilidad en uso	1,8
Propiedades mecánicas al 15 % de CH	
Carga de ruptura a la flexión estática	772 kg/cm ²
Módulo de elasticidad	106 Tn/cm ²
Carga de ruptura a la compresión paralela	385 kg/cm ²
Dureza de lados	708 kg/cm ²
Cizallamiento	91 kg/cm ²

Fuente: Chavesta & Condori (2005)

La combinación de belleza, estabilidad dimensional, resistencia a la tensión y flexión; no corroerse en contacto con metales; la resistencia a hongos, termitas, productos químicos y a la intemperie; hacen de la madera de *T. grandis* una de las más valiosas del mundo, superando a otras maderas nobles como la “Caoba” *Swietenia macrophylla* King y el “Cedro colorado” *Cedrela odorata* (Blanco, Fernando, Tarcisio, Gherardi, & Moreira, 2014; Camino, 2013; Pandey & Brown, 2000).

2.2. Pudrición de la madera

La pudrición de la madera es una de las principales causas de deterioro microbiológico que ocasiona fallas estructurales de forma acelerada del material puesto en servicio. Estas fallas son producidas por la alteración o destrucción de los componentes principales de la pared celular debido a la acción de enzimas segregadas por los hongos, conllevando a importantes pérdidas económicas (Mora & Encinas, 2001; Vignote & Jiménez, 2000; Ramirez & García, 2014).

El desarrollo de los hongos xilófagos se inicia con la germinación de las esporas que caen sobre la madera. Las hifas penetran pasivamente la madera a través de sus orificios naturales, siendo su acción únicamente mecánica. Una vez invadida la madera físicamente, empieza la destrucción bioquímica o penetración activa, poniéndose en juego todo el sistema enzimático, que permite descomponer los constituyentes orgánicos de la madera (Peña, 2010).

2.2.1. Tipos de pudrición

Los tipos de pudrición se clasifican tradicionalmente en pudrición blanca, parda y blanda. La pudrición blanca se puede dar de dos formas, causando deslignificación selectiva de las poliosas (hemicelulosas) y lignina, o en pudrición blanca simultánea de carbohidratos y lignina. Cuando la pudrición es selectiva, la hifa en el lumen de la célula degrada progresivamente la lignina desde el lumen junto a la pared secundaria hacia la lámina media. Como el proceso de deslignificación continúa, la lámina media es degradada y las células son separadas quedando solo celulosa en la pared. En el caso de la pudrición simultánea de los componentes de la pared celular, los hongos causan una erosión localizada de todas las capas de la pared, extendiendo su ataque a través de las capas de la pared secundaria y la lámina media (Ferreira, 2006; Ypushima, 2015).

Los hongos que constituyen este grupo son los más importantes biodegradadores de la lignina, por producir enzimas ligninolíticas, lignino peroxidasa (LiP), manganeso peroxidasa (MnP) y lacasas que tienen una potente capacidad oxidante. En la degradación enzimática de la lignina intervienen una serie de reacciones inespecíficas que originan la formación de radicales libres. Estas reacciones dan como resultado la desestabilización de los enlaces y finalmente la ruptura de las macromoléculas (Quintero, Feijoo, & Lema, 2006).

Los hongos causantes de la pudrición blanca, donde todos los componentes de la pared celular pueden ser atacados, llegan a destruir totalmente la madera, mientras que los hongos causantes de la pudrición marrón, al concentrar su ataque sobre la celulosa, la máxima pérdida de leño que pueden causar es cercana al 70% del peso seco original, dejando un residuo carbonáceo formado por la lignina (Peraza, 2002). Los hongos de pudrición blanda suelen ser *Ascomycetes*, que centran su ataque en la celulosa de la pared secundaria de la madera, y se produce cuando hay un exceso de

humedad en el ambiente o en la madera (Peraza, 2002; Pointing, Parungao & Hyde, 2003).

Pulido et al., (2008) indican que los hongos *Polyporus sanguineus* y *Schizophyllum commune*, son hongos xilófagos que causan gran parte de las pudriciones en las especies tropicales de interés comercial. González (1970) también afirma que los hongos *Schizophyllum commune*, *Polyporus sanguineus* y *Polyporus versicolor* se hallan ampliamente distribuidos en el país, asimismo, señala que se desarrollan bien en condiciones de laboratorio.

2.3. Durabilidad natural de la madera

La durabilidad natural es definida como la resistencia de la madera sin tratamiento químico a agentes que la destruyen como hongos, bacterias, insectos xilófagos o perforadores marinos, en condiciones favorables para su desarrollo. El término puede incluir también la resistencia del material a efecto de agentes no biológicos de deterioro, tales como desgaste mecánico, intemperismo atmosférico y el peligro del fuego (Berrocal & Rojas, 2007; Guevara & Lluncor, 1993).

Sin embargo, por fines prácticos, la durabilidad natural se considera como la capacidad natural que tiene la madera para resistir exclusivamente la pudrición. Esto, debido a su sobresaliente participación frente a los demás agentes de destrucción; ya que entre el 15 y 20 % de la madera en pie, así como la madera estructural pueden presentar pudrición por hongos generando grandes pérdidas económicas (Peña, 2010).

Esta propiedad de la madera resulta altamente variable en cualquier especie, no sólo entre los árboles, sino también al interior del mismo. Por lo tanto, es difícil establecer con certeza la durabilidad de una madera para una especie en particular, ya que ésta depende de varios factores como el origen genético, la silvicultura, el clima y el medio ambiente local. Asimismo puede disminuir desde la base hacia el ápice del fuste, o probablemente aumentar con la edad y su diámetro del árbol (Avalos, 2012; Scheffer & Morrell, 1998)

Conocer la durabilidad natural de las maderas permite determinar su uso acorde a su capacidad resistente, y de esa forma evitar los costos que puedan llegar a implicar su sustitución o bien preservación para aumentar su vida de servicio. Esta propiedad, también conduce al conocimiento de los compuestos químicos que confieren toxicidad

natural de las maderas, permitiendo de esta forma usar los compuestos como biopreservantes, e incluso diseñar reacciones para biosintetizar estos compuestos en laboratorio (Ramos, Trujillo, Guzmán, & Araujo, 2016; Rodrigues et al., 2012; Rodríguez et al., 2019).

2.3.1. Factores responsables de la durabilidad natural

Los factores responsables de la durabilidad de la madera son variados. Algunos dependen de las características y condiciones propias de la madera, mientras que otros están relacionados con su forma de uso.

En base al tipo de leño, la diferencia entre la durabilidad del duramen y la albura se atribuye principalmente a algunas condiciones físicas y químicas que suceden en el proceso de duraminización. En efecto, el duramen se protege de los hongos mediante la obstrucción mecánica de los vasos, taponamiento de las punteaduras y el depósito en sus paredes celulares de sustancias polifenólicas, cuyas combinaciones son capaces de ejercer efectos tóxicos y/o repelentes contra organismos xilófagos. En contraste, la albura es la parte de la madera con mayor material nutritivo almacenado, que la convierte en la más susceptible al ataque de hongos (Castro, Caballeira, & Silva, 2004).

2.3.2. Métodos para determinar la durabilidad natural

La resistencia de las maderas se pueden determinar por ensayos de campo y de laboratorio. Los estudios que se llevan a cabo en el campo conocidas como “Pruebas definitivas”, proporcionan datos precisos, pero tienen el inconveniente de demandar mucho tiempo y una alta inversión. Es por eso que los métodos más generalizados son los de duración corta que se realizan en laboratorios, conocidos como “Pruebas aceleradas”, que permiten obtener índices de resistencia de la madera bastante aceptables (Ramos et al., 2016; Rojas, 2008)

- A. Método de campo o Cementerio de estacas: se realizan en áreas seleccionadas por las características climáticas (temperatura y humedad relativa), la presencia de hongos xilófagos y termitas subterráneas, vegetación y tipo de suelo. El periodo de exposición es variable, con un tiempo mínimo de dos años y un máximo indefinido, dependiendo del comportamiento de la madera.

Los procedimientos normalizados recomiendan usar probetas de sección transversal, enterradas hasta la mitad de la longitud, y efectuar revisiones periódicas del estado sanitario. Los resultados permiten concluir sobre la durabilidad natural de la madera y eventualmente la toxicidad, resistencia a la lixiviación y permanencia de los preservantes en el caso de las maderas que han sido tratadas (Guevara & Lluncor, 1993; Rojas, 2008).

- B. Pruebas aceleradas en laboratorio: Estos ensayos demandan un control estricto de las técnicas para establecer el trabajo en condiciones de asepsia. De igual forma buscan controlar las variables más importantes que intervienen en el proceso, como el sustrato, la temperatura, humedad relativa y la ventilación. Además, debido al tamaño relativamente pequeño de las probetas que se necesitan para el ensayo, esta metodología permite realizar evaluaciones comparativas en las diferentes secciones del árbol (Bobadilla, Pereyra, Silva, & Stehr, 2005; Råberg & Nasko, 2005; Rojas, 2008).

La pérdida de peso se usa comúnmente en los laboratorios para evaluar la durabilidad natural de la madera. Existen básicamente dos métodos conocidos como: Método agar/block según la norma EN 350 -1, y el Método Soil/block según la norma ASTM D 2017 (ASTM, 2005). Ambas con una duración de tres a seis meses, bajo el mismo principio de someter a la madera a una especie de hongo en particular. Cada norma describe el procedimiento a seguir, y cuentan con información en tablas para clasificar las maderas según el porcentaje de peso que pierde después del ataque de los hongos.

La información disponible sobre los índices de resistencia de la madera a la pudrición, y la experiencia adquirida hasta el momento en diversos países, permiten demostrar una buena correlación entre los resultados obtenidos en cementerios de estacas y los de laboratorios (Trujillo & González, s/f).

2.3.3. Antecedentes de ensayos de durabilidad natural en laboratorio

En el Perú; se han realizado investigaciones para determinar la resistencia a la pudrición de maderas nativas. Entre estos estudios, se encuentra el realizado por Ramos et al. (2016) que determinó la durabilidad natural de la madera de *Swietenia macrophylla*, *Simarouba amara* y *Schizolobium amazonicum* bajo la acción de los hongos de pudrición blanca *S. commune* y *P. sanguineus*. Según este estudio la

madera de *S. macrophylla* se clasificó como altamente resistente; con pérdidas de peso que alcanzaron el 5 % al ser expuesta a la acción de *P. sanguineus*, considerado el hongo de mayor agresión. De igual forma, clasificó a las maderas de *S. amara* y *S. amazonicum* como no resistentes al presentar pérdidas de peso de 47,0 y 46,2 % respectivamente con el mismo hongo.

Con respecto a la durabilidad natural de la madera de *T. grandis*; a continuación, se presentan algunos estudios realizados en el exterior:

En una plantación de 35 años procedente de la India (Nilambur) con precipitación de 1500 – 2300 mm/año y T°: 26-37 °C, se registró una pérdida de peso de la madera que rodea el 2 % a causa de la acción del hongo *P. sanguineus* (Bhat, Thulasidas, Florence, & Jayaraman, 2005)

En un estudio en Indonesia (Java, precipitación: 3500 mm/año, T°: 27 °C) que compara las propiedades de la madera según su turno de corta, se indica que las maderas de 7 a 10 años de edad son menos resistentes al ataque de *P. sanguineus* que las que tienen entre 40 a 60 años. Resultado expresado en pérdidas de peso de 0,15 % en las maderas de mayor edad y de 17,1 % en las menores, en relación directa con su contenido de extractivos y la presencia de compuestos activos específicos (Rizanti et al., 2018).

Con el objetivo de mostrar la variación radial de la durabilidad natural y otras características de la madera de *T. grandis* que crece en Costa Rica, se muestreó plantaciones de 13 años de dos regiones, con dos climas: clima húmedo tropical (CHT) y clima seco tropical (CST). Como resultado del estudio se obtuvo que la resistencia al ataque de *Trametes versicolor* y *Pycnoporus sanguineus* es muy similar (menores al 13 %) en el duramen próximo a la médula y el duramen próximo a la albura. Mientras que, en la madera de albura la pérdida de peso fue diferente para los dos tipos de hongos, con *T. versicolor* la pérdida de peso varió entre 30 a 50 %, en tanto que con el hongo *P. sanguineus* los valores fueron menores hasta 35%. Además se observó que, a pesar de que no existía una diferencia significativa entre ambas condiciones climáticas, algunas muestras de duramen presentaron pérdidas de peso similares a la albura en árboles de la región de mayor humedad, confirmando que árboles procedentes de sitios húmedos son menos resistentes que los árboles que crecen en sitios secos (Moya, Berrocal, Serrano, & Fo, 2009).

En México, se evaluó la durabilidad natural de la madera en plantaciones comerciales de 9 años procedente de dos localidades (Nayarit y Veracruz). El estudio consistió en someter a la madera mediante dos métodos de cultivo in vitro (agar/block y soil/block), a dos hongos de pudrición blanca: *Trametes versicolor* (L.Fr.) Pilat y *Phanerochaetae chrysosporium* y un hongo de pudrición parda: *Gloeophyllum trabeum* (Pers.Ex.Fr.) Murr. El resultado del estudio fue una mayor pérdida de peso con *T. versicolor* (L.Fr.) para ambas procedencias (11,5 - 17,4 %) y una muy baja ante los otros dos hongos (Ypushima, 2015).

Recientemente, debido al creciente interés en México por cultivar *T. grandis* en plantaciones a gran escala, mediante un estudio se determinaron propiedades cuantitativas y cualitativas de la madera, entre ellas la durabilidad natural. Para ellos, se tomaron muestras de plantaciones de diferentes edades (9, 15 y 21 años) de tres localidades del sureste de México (Campeche, Tabasco y Chiapas), resultando que la madera es de alta resistencia a la pudrición blanca y marrón independientemente del lugar de procedencia y su edad (Rodríguez et al., 2019).

2.4. Extractivos de la madera

La madera es un material de naturaleza orgánica conformado por tres componentes principales de elevado grado de polimerización como la celulosa (40 – 45 %), la hemicelulosa (15 – 25 %) y la lignina (20 – 30 %) que son considerados los principales responsables de la morfología y estructura de la madera. Así mismo, presenta otros componentes conocidos como extractivos que, si bien se presentan en pequeñas cantidades (4 a 10 %), influyen en algunas propiedades del material como la abrasividad, la durabilidad natural, el color, el olor, el sabor, etc (Nalvarte, 2013).

Los extractivos son de variada composición química como por ejemplo: grasas, ceras, alcaloides, proteínas, compuestos fenólicos simples y complejos, azúcares simples, pectinas, mucílagos, gomas, resinas, terpenos, almidones, glucósidos, saponinas y aceites esenciales, que pueden ser extraídos de la madera con agua fría, caliente o con solventes orgánicos (Paúcar, 2015; Peña, 2010). De igual forma su disposición dentro del árbol también puede variar; a los azúcares, al almidón y a algunos compuestos nitrogenados se les suele encontrar en la albura, mientras que a las sustancias fenólicas generalmente en el duramen. Así mismo, se puede observar la variación de la concentración de extractivos a lo largo del fuste del árbol, y entre el fuste y las ramas.

Si bien es cierto que existe una buena correlación entre el contenido de extractivos de la madera y su resistencia a la pudrición, la verdadera causa de dicha correlación es la presencia de uno o más principios activos tóxicos entre los componentes de los extractivos y la acción sinérgica entre ellos (Kirker, Blodgett, Arango, Lebow, & Clausen, 2013; Ramos et al., 2016).

2.4.1. Metabolitos celulares

El metabolismo es el conjunto de reacciones químicas que realizan las células de los seres vivos para sintetizar sustancias complejas a partir de otras mucho más simples, o para degradar las complejas y obtener las simples (Ávalos & Pérez, 2009; Ramirez & Garcia, 2014).

La mayor parte del carbono, nitrógeno y la energía termina en moléculas comunes conocidas como metabolitos primarios. Se trata de carbohidratos, aminoácidos, ácidos grasos, ácidos nucleicos, aminas, clorofilas e intermediarios metabólicos presentes en todas las plantas y que participan en procesos fotosintéticos, respiratorios, de asimilación de nutrientes, entre otros (Ávalos & Pérez, 2009).

Además del metabolismo primario los árboles, como toda planta, poseen un metabolismo secundario que le permite acumular compuestos de naturaleza química diversa y característica de cada especie. Sustancias que no son necesarias para que un organismo pueda existir como tal, sino que más bien aportan al individuo que las produce, ventajas de adaptación frente a estímulos del entorno, como mecanismo de defensa contra predadores (Verde, García, & Rivas, 2016).

A la síntesis de metabolitos secundarios (MS), que forman parte de los extractivos de la madera, se le atribuye ser responsables de su protección química ya sea restringiendo la invasión, matando directamente al microorganismo patógeno, o por su capacidad antioxidante que mantiene en equilibrio el estado de óxido-reducción de las células vegetales (Sepúlveda, Porta, & Rocha, 2003).

2.4.2. Grupos funcionales más importantes

Los principales MS presentes en la madera son los alcaloides, las saponinas y los compuestos fenólicos (Ramirez & Garcia, 2014):

- a. Alcaloides: Son un grupo de más de 15000 compuestos con una amplia gama de estructuras que tienen en común tres características: solubles en agua, contienen al menos un átomo de nitrógeno en la molécula y exhiben actividad biológica.
- b. Saponinas: Son glicósidos de alcoholes tanto triterpenoides como esteroides con una cadena lateral espiroacetal. Son sustancias solubles en agua y etanol, tensoactivas con propiedades similares a los jabones, lo que explica su nombre.
- c. Compuestos fenólicos: Son un grupo heterogéneo de compuestos, cuya característica común es poseer un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilos. Entre los principales compuestos fenólicos se encuentran:
 - Los flavonoides que se clasifican en función del grado de oxidación, siendo los principales las antocianinas (pigmentos), flavonas, flavonoles e isoflavonas. Entre sus funciones se encuentra la defensa e inhibición de algunos sistemas enzimáticos por su reconocida capacidad antioxidante.
 - Los taninos por su sabor astringente juegan un importante papel protector en las plantas, evitando el ataque de insectos y hongos. De ahí que se le atribuyen propiedades fungicidas y bactericidas (López – Casamayor, 2007).
 - Las quinonas son compuestos oxigenados que responden a la oxidación aromática. Se encuentran en la planta ya sea de forma libre o combinadas con azúcares formando glicósidos. Se dividen en cuatro grupos de acuerdo a su estructura: benzoquinonas, naftoquinonas, antraquinonas e isoprenoquinonas (Luque, 2009). La literatura hace mención de las antraquinonas y las naftoquinonas como agentes con alta actividad biológica (Leyva, Loredó-Carrillo, López, Escobedo-Avellana, & G., 2017; López, Leyva, & García, 2011).
 - En cuanto a las cumarinas, existen tres principales tipos: hidroxycumarinas, furanocumarinas y piranocumarinas. De las cuales las furanocumarinas son biológicamente activas y exhiben un amplio rango de efectos tóxicos (Prado, 2009).

La actividad biológica de los polifenoles está relacionada con su carácter antioxidante, inhibir la actividad de las enzimas y actuar como atrapadores de radicales libres (García, Fernández, & Fuentes, 2016)

2.4.3. Obtención de extractivos de la madera

Para la obtención de extractivos existen técnicas desde las más tradicionales como la extracción Soxhlet y la maceración, hasta las más modernas como la extracción con fluido supercrítico, con ayuda de ultrasonido, mediante líquidos presurizados, por microondas, etc. Pero el rendimiento cuantitativo y cualitativo de la extracción no solo depende del método, sino también en gran medida del solvente que se utiliza; estos pueden ser por ejemplo el etanol, metanol, acetona y sus mezclas con agua en diferentes proporciones (Azmir et al., 2013).

Con relación a lo anterior, no existe un método o un solvente único, esto depende de la composición química de los compuestos que se quieren extraer y de la cantidad y posición de los grupos hidroxilo que estén presentes (Aspé & Fernández, 2011).

2.4.4. Análisis fitoquímico de los extractivos de madera

No existe una metodología consensuada para realizar un análisis fitoquímico, depende de cada investigador adaptar las metodologías existentes a sus propias necesidades. De esta forma los extractos se pueden someter a diferentes pruebas para identificar las estructuras de los compuestos presentes e incluso justificar la posibilidad de utilizarlos como potenciales biopreservantes de maderas de baja resistencia a la degradación. Debido a que existe la posibilidad de que los extractivos tengan propiedades fungicidas y antioxidantes, que trabajan juntas para proteger a la madera contra la colonización y degradación por hongos (Schultz & Nicholas, 2000).

Entre las pruebas para analizar fitoquímicamente los extractos se tiene:

- a. **Marcha Fitoquímica:** La Organización Mundial de la Salud (OMS) desarrolló en 1998 una ruta crítica para el tamizaje fitoquímico de plantas medicinales, la misma que consta de una serie de ensayos tanto físicos como químicos para la determinación de los principios activos presentes en las plantas.
- b. **Espectrometría de Masas:** Es una técnica analítica de gran importancia por su capacidad de proporcionar información sobre la identificación de numerosos compuestos de origen vegetal. El principio de esta técnica se basa en la ionización de átomos o moléculas de una muestra, seguida de la separación por su relación masa/carga (m/z) y su posterior detección y registro (Martín & Ballesteros, 2010).

La introducción de la muestra, se puede realizar de forma directa, indirecta o por un acoplamiento a una técnica de separación como la cromatografía líquida o gaseosa, como se representa en la Figura 1.

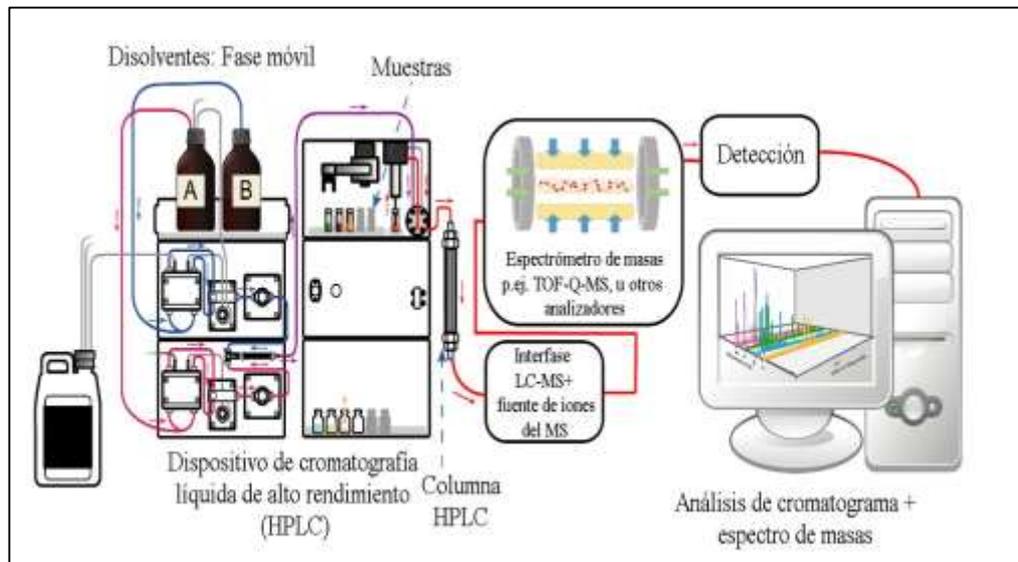


Figura 1: Esquema de un equipo HPLC acoplado con un espectrómetro de masas

Fuente: Martín & Ballesteros (2010)

El acoplamiento de la cromatografía líquida con el sistema de ionización por desorción (Electrospray - ESI) tiene muy buenos resultados, ya que es el interfaz más adecuado por permitir analizar con gran sensibilidad numerosos compuestos no volátiles y termolábiles con un intervalo de pesos moleculares muy amplio.

En el caso del analizador, el sistema más utilizado es el de tiempo de vuelo (TOF) que se basa en la relación entre la masa y la velocidad de los iones. Su importancia radica en ser uno de los más sencillos y tener una gran resolución y exactitud en la determinación de masas, ya que consiguen valores inferiores a partes por millón.

- c. Cuantificación de polifenoles: La predominancia de los compuestos fenólicos en la madera hace de este análisis uno de los más importantes para caracterizarlo. Para ello el ensayo más generalizado es Folin-Ciocalteu. El principio del ensayo es la reacción de los compuestos fenólicos con el reactivo a pH básico, dando una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a 760 nm. El reactivo Folin-Ciocalteu contiene una mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico y reacciona con los compuestos fenólicos presentes en la muestra. La cuantificación se

realiza por espectrofotometría en base a una recta patrón de ácido gálico y se expresa en “Equivalentes de Ácido Gálico” (EAG) (García et al., 2016).

- d. Determinación de la capacidad antioxidante: Se refiere a la capacidad de inhibir, retardar o interrumpir las reacciones de oxidación que causan daño a los tejidos. Deteniendo los procesos de iniciación o propagación vía radicales libres como, por ejemplo, la degradación enzimática de la lignina por hongos de pudrición. Sin embargo, la sinergia entre la presencia de sustancia antioxidantes e inhibidoras de la pudrición de la madera aún está siendo estudiada (Mesa et al., 2011; Vargas & Encinas, 2003).

Existe un gran número de métodos para evaluar la capacidad antioxidante de muestras vegetales, entre ellos el ensayo ORAC, término que proviene de la expresión en inglés de Capacidad de Absorción de Radicales de Oxígeno. Este método difiere de otros por utilizar una fuente de radicales de gran relevancia biológica conocida como AAPH (2,2'-azobis(2-amidino-propano) dihidrocloruro), además de ser fiable, de alta repetitividad y bajo costo (Mesa et al., 2011). En el ensayo ORAC, los radicales peroxilo, generados a partir del azocompuesto AAPH reaccionan con fluoresceína como sustrato. Como resultado de tal reacción, la fluorescencia de este último compuesto decrece a través del tiempo, configurando un área bajo la curva (fluorescencia versus tiempo). Cuando dicha reacción tiene lugar en presencia de compuestos antioxidantes, el área bajo la curva se incrementa en forma lineal y proporcional a la concentración de antioxidantes. El grado de protección frente a la oxidación se cuantifica en relación a la sustancia de referencia Trolox (análogo de la vitamina E hidrosoluble) y se reporta en términos de “equivalentes de Trolox” (TE) (Torrenegra, 2014).

El comportamiento de esta propiedad en la madera aún no ha sido bien estudiado. Sin embargo, se dispone de información sobre la capacidad antioxidante de los extractos de madera utilizada en tonelería, como *Quercus alba* y *Q. robur* cuyos valores según el método ORAC, van de 0,4 a 1,0 mmol TE/g de peso seco de la muestra respectivamente (Alañón, Castro-vázquez, Díaz-maroto, Hermosín-gutiérrez, & Gordon, 2011)

2.4.5. Antecedentes de los extractivos e identificación de compuestos

A continuación, se presentan estudios relacionados con el contenido de extractivos en la madera de *T. grandis* que se realizaron al exterior del país:

En plantaciones de *T. grandis* de 35 años de edad provenientes de la India (Nilambur) la madera registró un contenido total de extractivos solubles en etanol: benceno (1:2) de alrededor de 13,3 % (Bhat et al., 2005).

Un estudio que compara las propiedades de la madera de *T. grandis* de acuerdo al turno de corta en Indonesia, realizó una extracción sucesiva por Soxhlet con diclorometano, acetona, tolueno/etanol (2/1, (v/v)) y agua, para cuantificar el contenido total de extractivos de la madera en relación a su resistencia. Según los resultados, la madera de 7 a 10 años de edad presenta un total de 3,7 % de extractivos mucho menor a lo encontrado en maderas de 40 a 60 años con un total de 8 % de extractivos, confirmando la variabilidad de esta propiedad según la edad de la madera (Rizanti et al., 2018).

En el Laboratorio de Productos Forestales de la Universidad de Costa Rica se realizó la caracterización química de muestras de *T. grandis* de 17 años provenientes de Colorado de Abangares, Guanacaste. Donde los extractivos se evaluaron a diferentes alturas del árbol, arrojando los siguientes resultados: zona basal (11,6 %), zona media (14,3 %) y zona apical (13,5 %) (Abarca y Blanco, 2003).

En México, al mismo tiempo de evaluar la durabilidad natural de la madera de *T. grandis* en plantaciones comerciales de 9 años procedente de dos localidades (Nayarit, precipitación: 1300-2000 mm/año, T°: 22-28 °C; y Veracruz, precipitación: 2400-3100 mm/año, T°: 22 °C), se determinó el contenido de extractivos por extracción sucesiva con hexano, acetato de etilo y metanol. Como resultados se obtuvo una diferencia significativa del contenido total de extractivos del duramen con respecto a la procedencia, donde la madera de la localidad de Nayarit, zona más seca, presentó el mayor valor (8,8 %), pero no se reflejó en una mayor resistencia al ataque de hongos xilófagos. De esta forma, se atribuyó a los compuestos individuales presentes en el extracto como determinantes de la durabilidad de la madera por encima del contenido total de los mismos (Ypushima, 2015).

En otro estudio realizado en México, junto a otras propiedades de la madera de *T. grandis* de plantaciones, evaluó el contenido de extractivos por extracción sucesivas con éter de petróleo, acetona/H₂O, y metanol/ H₂O. Se tomaron muestras de plantaciones de diferentes edades (9, 15 y 21 años) de tres localidades del sureste de México (Campeche, Tabasco y Chiapas), con condiciones climáticas diferentes. El resultado de la investigación determinó que el contenido de extractivos totales va de 7,2 a 10,7 %, siendo mayor para los árboles de mayor edad y los que proceden de zonas secas (Rodríguez et al., 2019).

En la Tabla 2 se presenta una recopilación de información relacionada con la identificación de metabolitos secundarios identificados en los extractos de *T. grandis*, mediante diferentes técnicas como: Cromatografía de gases acoplado a Espectrómetro de masas GC/MS, Espectroscopia de infrarrojo, etc.

Tabla 2: Metabolitos secundarios aislados de *T. grandis*

Nombre del componente (fórmula)	Parte del árbol y referencia
Naftoquinonas	
Lapachol (C₁₅H₁₄O₃)	Duramen (Lourenço, Neiva, Gominho, Marques, & Pereira, 2015; Lukmandaru & Takahashi, 2009; Moreira et al., 2006)
Deoxilapachol (C₁₅H₁₄O₂)	Duramen (Lourenço et al., 2015; Lukmandaru & Takahashi, 2009; Sumthong, Romero-González, & Verpoorte, 2008)
5-Hidroxilapachol (C₁₅H₁₄O₄)	Duramen (Khan & Mlungwana, 1998)
α-Lapachona (C₁₅H₁₄O₃), β-Lapachona (C₁₅H₁₄O₃)	Duramen (Moreira et al., 2006)
Dehidro-α-lapachona (C₁₅H₁₂O₃)	Duramen (Singh et al., 1989; Gupta & Singh 2004; Khan & Mlungwana, 1998)
4',5'-Dihidroxi-epiisocatalponol (C₁₅H₁₈O₄)	Duramen (Niamké et al., 2012)
Tectol (C₃₀H₂₆O₄)	Duramen (Lukmandaru & Takahashi, 2009; Sumthong et al., 2008)
Dehidro-α-isodunniona (C₁₅H₁₂O₃)	Duramen (Gupta & Singh 2004)
1,4-Naftoquinona	Duramen (Niamké et al., 2014; Qiu, Liu, & Long, 2019)

Antraquinonas	
Tectoquinona (C₁₅H₁₀O₂)	Duramen (Moreira et al., 2006; Niamké et al., 2014; Sumthong et al., 2008) Albura (Ahluwalia & Seshadri 1957; Lukmandaru & Takahashi 2009)
2-Hidroximetil-antraquinona (C₁₅H₁₀O₃)	Duramen (Niamké et al., 2014; Sumthong et al., 2008)
2-Acetoximetil-antraquinona (C₁₅H₁₂O₄)	Duramen (Rudman, 1960)
Antraquinona-2-ácido carboxílico (C₁₅H₈O₄)	Duramen (Rudman, 1960)
3-Hidroxi-2-metil-antraquinona (C₁₅H₁₀O₃)	Duramen (Pavanaram & Row 1957; Kopa et al., 2014)
Rubiadin (C₁₅H₁₀O₄)	Duramen (Burnett & Thomson 1968)
Munjistin (C₁₅H₈O₆)	Duramen (Burnett & Thomson 1968)
2-Metilquinizarin (C₁₅H₁₀O₄)	Duramen (Sandermann & Simatupang 1965; (Khan & Mlungwana, 1998)
9,10-Dimetoxi-2-metil-1,4-antraquinona (C₁₇H₁₄O₄)	Duramen (Singh et al., 1989)
5-Hidroxi-2-metil-antraquinona (C₁₅H₁₀O₃)	Duramen (Bhargava et al., 1991)
1-Hidroxi-5-metoxi-2-metil-antraquinona (C₁₆H₁₂O₄)	Duramen (Bhargava et al., 1991)
1,5-Dihidroxi-2-metil-antraquinona (C₁₅H₁₀O₄)	Duramen (Bhargava et al., 1991)

De estos compuestos; la tectoquinona producida por los árboles de *T. grandis* en la edad adulta, es considerada la principal responsable de la durabilidad natural de la madera, por ser una sustancia a la que se le atribuyen propiedades antifúngicas, bactericidas y repelentes al ataque de algunos insectos (Moreira et al., 2006). Sin embargo, estudios posteriores determinaron que la tectoquinona no presenta inhibición clara al crecimiento de hongos, si no cuando está en combinación con otros compuestos, cuyo sinergismo sería el que esté asociado a la durabilidad (Ypushima, 2015). Compuestos como por ejemplo el lapachol, que es una naftoquinona muy común en la familia *Lamiaceae* y es considerado por tener una potente actividad antifúngica (López et al., 2011; Moreira et al., 2006).

Así mismo; en un estudio sobre el contenido de polifenoles en *T. grandis*, se reportó en la madera procedente de China, un contenido total de polifenoles de 0,71 % en duramen y 0,33 % en albura (Qiu et al., 2019).

Con respecto a la capacidad antioxidante de la madera de *T. grandis*, uno de los pocos estudios relacionados fue realizado sobre extractos de hojas, corteza y madera mediante el ensayo DPPH (radical libre: 2,2-difenil-1-picrilhidracilo) y ABTS+ (radical libre artificial generado a partir del Ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico). Según los resultados, el extracto de madera mostró una actividad máxima contra DPPH y ABTS+, incluso más alta que la presentada por quercetina y Trolox, utilizados como estándares respectivos para cada ensayo (Ghaisas, Navghare, Takawale, Zope, & Deshpande, 2008; Krishna & Nair, 2010).

III. METODOLOGÍA

3.1. Área de estudio

El área de estudio se encuentra en el fundo Génova del IRD – Selva de la UNALM; ubicado en el departamento de Junín, provincia de Chanchamayo, distrito de San Ramón, entre las coordenadas 459500 – 463500 m E y 8774500 - 8777500 m N (Zona 18 L). caracterizado con un clima con precipitaciones que rodean los 1800 mm al año y temperatura media de 23,1 °C, con dos épocas claramente marcadas, de mayor precipitación entre los meses de diciembre a marzo y de menor precipitación de junio a agosto (Giacomotti, 2016).

Esta investigación hace referencia específicamente a la plantación de *T. grandis* que se encuentra dentro del fundo, la cual está distribuida en cuatro bloques que van desde el río Chanchamayo hasta las colinas altas atrás de la casa hacienda del fundo, con una extensión total de 4,4 ha según el último censo (Anexo 1) (Hallasi, Duran, & Aguilar, 2019). La plantación fue instalada con fines de investigación y producción hace aproximadamente 33 años, a 836 msnm, en zonas de pendientes pronunciadas que oscilan entre 42 y 50 %, y con suelos de poca pedregosidad, de tipo franco arenoso y con pH 5,24 (Reyes, 2014; Zúñiga, 2012)

En cuanto a los ensayos; la de durabilidad natural se evaluó en el laboratorio de Agentes Destruidores de la Madera de la UNALM; mientras que los químicos en el laboratorio de Pulpa y Papel de la UNALM, en colaboración con el laboratorio de Cromatografía del Departamento de Análisis Instrumental de la Facultad de Farmacia, y la Unidad de Desarrollo Tecnológico (UDT) de la Universidad de Concepción de Chile.

3.2. Materiales y equipos

3.2.1. Material biológico

- a. Madera: Como muestra se tomó la madera de cinco árboles sanos de *Tectona grandis* L.f. del bloque “D” de la plantación del Fundo Génova, caracterizado por tener árboles con diámetro a la altura del pecho y altura comercial promedio de 31,03 cm y 9,59 m respectivamente (Hallasi et al., 2019). La identificación de la especie estuvo a cargo del Laboratorio de Anatomía de la Madera de la UNALM (Anexo 2)
- b. Hongos xilófagos: Se colectaron hongos de pudrición blanca, *Pycnoporus sanguineus* y *Schizophyllum commune*¹, en el bosque del Fundo Génova. Para ello, se tomaron restos de madera atacada por los hongos, con sus respectivos cuerpos fructíferos. Las muestras fueron trasladadas en envases herméticos y guardados en refrigeración hasta el momento de su aislamiento y propagación en laboratorio.

3.2.2. Reactivos

- a. Para el ensayo de durabilidad natural:
 - Agua destilada
 - Lejía (2 %)
 - Etanol (96 %)
 - Extracto PDA (Potato Dextose Agar) para microbiología
 - Peptona - R de grado bacteriológico
 - Tetraciclina
- b. Para el contenido de extractivos totales
 - Etanol (96 %)
 - Agua destilada
- c. Para el análisis fitoquímico
 - Ácido clorhídrico - HCl (1 y 37 %)
 - Reactivo de Dragendorff: HCl (1 %), nitrato de bismuto pentahidratado, ácido nítrico, yoduro de potasio y agua destilada
 - Reactivo de Wagner: Yodo, yoduro de potasio y agua destilada

¹ Ficha técnica de los hongos en el Anexo 3

- Reactivo de Mayer: HCl (1 %), cloruro de mercurio, yoduro de potasio y agua destilada
- Reactivo de Erdman: Ácido nítrico y ácido sulfúrico
- Reactivo de Borntrager: Benceno y NaOH (5 %)
- Reactivo de Fehling: Mezcla de 2 soluciones acuosas; Sulfato cúprico cristalizado, agua destilada y Sal de Rochelle (tartrato mixto de potasio y sodio); solución de NaOH (40 %) y agua destilada
- FeCl₃ y Gelatina salada
- Reactivo de Shinoda: HCl (37 %) y cinta de magnesio metálico
- Reactivo de Baljet: Ácido pícrico, NaOH y agua destilada
- Etanol absoluto grado HPLC
- Agua grado HPLC
- Acetonitrilo grado HPLC
- Ácido Fórmico hipergrado para LC/MS
- Formiato de sodio
- Reactivo Folin – Ciocalteu: mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico
- Carbonato de sodio (6 %)
- Ácido gálico (5 g/L)
- Buffer Fosfato (K₂HPO₄ 0,75 M y KH₂PO₄ 0,75 M)
- Fluoresceína sódica
- AAPH (diclorhidrato de 2,2'-azobis (2-amidinopropano))
- Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico)

3.2.3. Equipos y otros materiales

- a. Para la preparación de muestras
 - Sierra circular
 - Balanza digital H.W. Kessel S.A. (0,1 g de precisión)
 - Vernier digital Mitutoyo de precisión 0,02 mm
 - Lijas para madera (80)
 - Estufa para secar muestras H.W. Kessel S.A. (100 ± 5 °C)
 - Liofilizador de laboratorio Alpha 1-4 LD - MARTIN CHRIST (4 kg)
 - Desecador de campana
 - Molino de cuchillas de 2830 RPM.

- Tamiz (40 mesh)
- b. Para el ensayo de durabilidad natural
- Autoclave de esterilización BARNSTEAD ESTERILIZER
 - Cámara de flujo
 - Incubadora $27^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$
 - Cocina a gas
 - Horno microondas LG
 - Soporte con anillo para embudos
 - Embudo de vidrio
 - Vaso de precipitación (500 mL)
 - Matraces (250 mL)
 - Probetas graduadas (50 mL)
 - Frascos de vidrio con tapa rosca metálica (315 mL)
 - Placas Petri de vidrio
 - Mechero de alcohol
 - Instrumental histológico: pinzas, bisturí, agujas
 - Guantes y mascarilla
- c. Para el contenido total de extractivos
- Equipo Soxhlet
 - Cocinillas eléctricas
 - Baño maría
 - Refrigerantes de reflujo
 - Centrifuga
 - Matraces y balones (250 mL)
- d. Para el análisis fitoquímico
- Procesador de ultrasonido Cole – Parmer
 - Equipo HPLC – ESI QTOF MS/MS
 - Columna analítica C18 Kromasil 250 x 4,6 mm, 5 μm
 - Precolumna C18 Nova Pak Waters 22 x 3,9 mm x 4 μm
 - Centrífuga de laboratorio SIGMA 3 – 16P
 - Concentrador eppendorf
 - Espectrofotómetro de micro – volumen SynergyTM HTX - BioTek
 - Balanza analítica AS 310.R2 - Radwag (0,00001 g de precisión)
 - Eppendorf ámbar (2 mL)

- Tubos Falcon (15 y 50 mL)
- Tubos de ensayo
- Gradillas
- Viales e insertos de 2 mL
- Microplaca de 96 pocillos (traslucido y negro)
- Micropipetas (0,2 – 2 μ L; 0,5 – 10 μ L; 10 – 100 μ L y 1000 – 5000 μ L)
- Pipeta multicanal (10 – 50 μ L)
- Jeringas (1 mL) y
- Filtros de jeringa (0,22 μ m de tamaño de poro, 13 mm de diámetro total)

3.3. Métodos y procedimientos

El presente estudio se realizó en cuatro etapas como se indica en la Figura 2: Primero el acondicionamiento de las muestras de madera de *T. grandis* de acuerdo a cada ensayo a realizar, seguido del ensayo de durabilidad natural, la determinación del contenido de extractivos totales de la madera, y por último la evaluación fitoquímica de los extractivos de la madera.

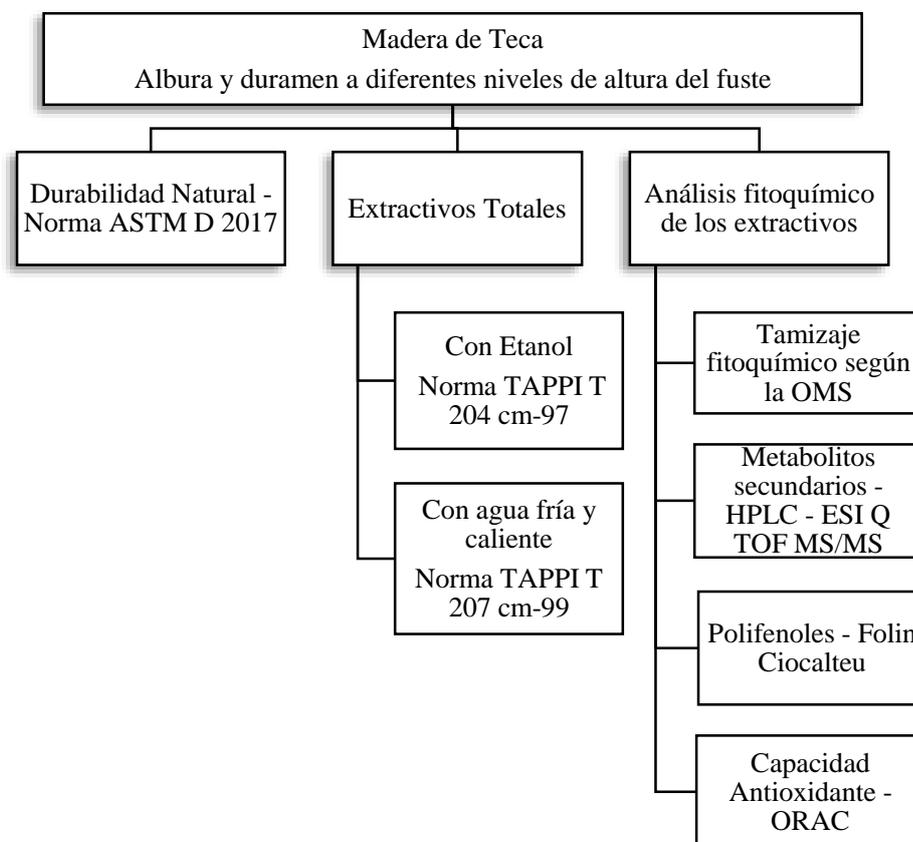


Figura 2: Métodos utilizados en el estudio de la madera de *T. grandis*

3.3.1. Acondicionamiento de las muestras

Para determinar las propiedades de la madera de *T. grandis* establecidas para este estudio, se utilizaron rodajas de 10 cm de espesor a tres niveles de altura del fuste (Base, Medio y Ápice) dispuestas como se muestra en la Figura 3. Por tratarse de cinco árboles, en la Figura 4 se muestran las 15 rodajas trabajadas, diferenciando en cada una de ellas la madera de albura y duramen.

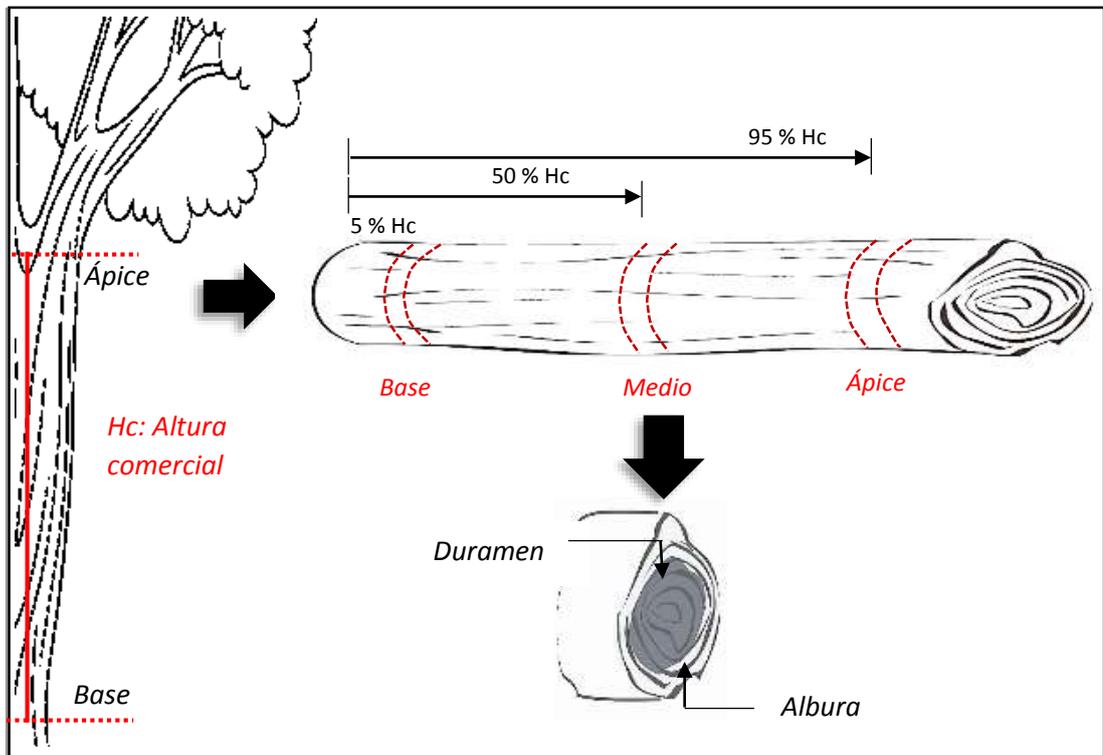


Figura 3: Disposición de las rodajas a lo largo del fuste del árbol de *T. grandis*

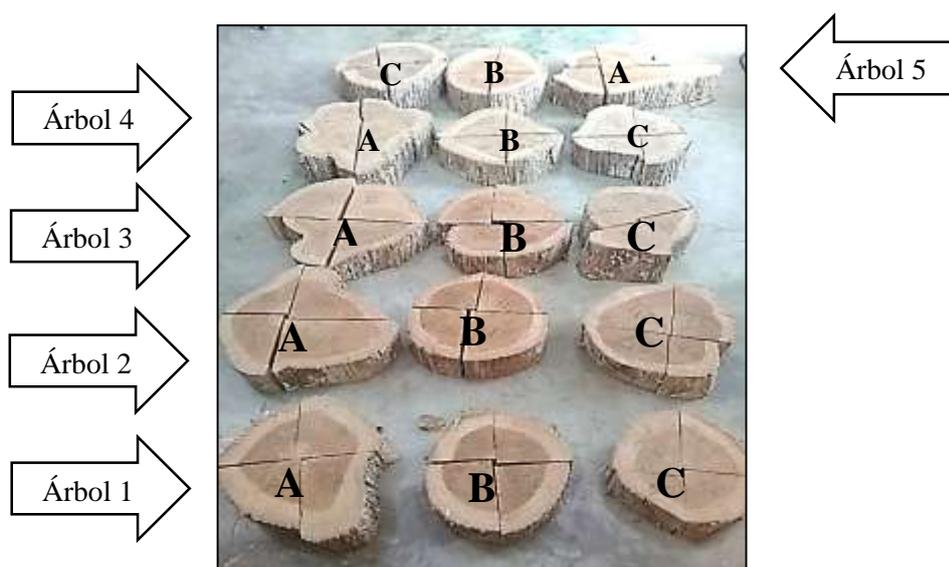


Figura 4: Rodajas de los cinco individuos ensayados de *T. grandis*

El procesamiento de las rodajas se detalla a continuación según la propiedad evaluada.

3.3.2. Durabilidad natural de la madera de *T. grandis*

Como referencia se utilizó la Norma ASTM D 2017-05: “*Standard Method of Accelerated Laboratory Test of Natural Decay Resistance of Woods*”, y la NTP 251.027 – 2017: Valor tóxico y permanencia de preservadores de la madera en condiciones de laboratorio. Procedimiento que se resume en la Figura 5.

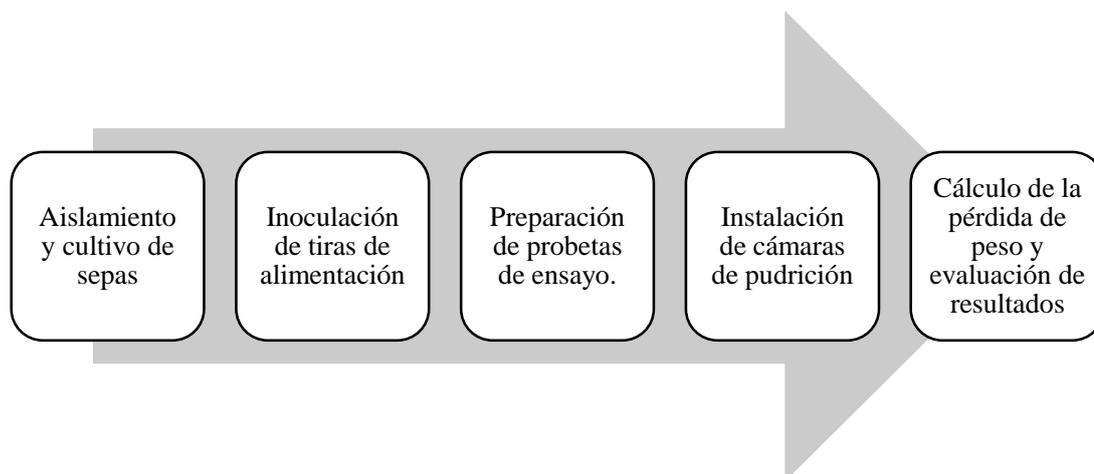


Figura 5: Procedimiento para determinar la durabilidad natural

- a. Aislamiento y cultivo de sepas: Para obtener sepas puras, los cuerpos fructíferos colectados de *P. sanguineus* y *S. commune* se desinfectaron por inmersión con lejía (2 %) durante 2 min, y después se lavaron duramente 10 min con agua estéril para eliminar cualquier resto de lejía. Una vez dentro de la cámara de flujo, los cuerpos fructíferos se cortaron en pequeños fragmentos y se sembraron en cinco puntos sobre placas Petri con medio de cultivo PDA preparado como se indica en la Tabla 3. Las placas se incubaron a 27 °C durante 10 días y se fueron repicando hasta obtener un micelio puro por un periodo de cuatro semanas.

En la Figura 6 y Figura 7 se aprecia el proceso de aislamiento y cultivo en laboratorio de los dos hongos trabajados.

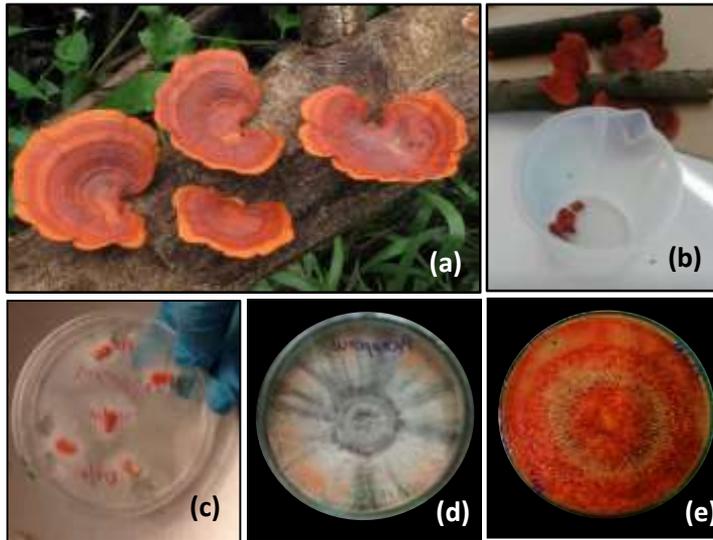


Figura 6: Aislamiento de *P. sanguineus*
 (a) Cuerpo fructífero (b) Fragmentos del cuerpo fructífero (c) Siembra en cinco puntos sobre placa Petri con PDA (d) Primer repique de micelio (e) Segundo repique de micelio puro listo para ser utilizado

Figura 7: Aislamiento de *S. commune*
 (a) Cuerpo fructífero (b) Primer repique de micelio. (c) Segundo repique de micelio puro listo para ser utilizado



Tabla 3: Composición de 1 litro de medio de cultivo PDA

Componente	Cantidades	
Potato Dextrose Agar (39 g)	Infusión de papa (Infusión de 200 g de papa)	4 g
	D(+) Glucosa (=Dextrosa)	20 g
	Agar - agar	15 g
Peptona	3 g	
Agua destilada	1000 mL	
Tetraciclina (antibiótico)	2 mg	

- b. Inoculación de tiras de alimentación: Con el micelio puro de los hongos se inocularon las tiras de alimentación de madera de “Marupa” (*Simarouba amara*) cortadas en sección transversal 0,5 x 2 x 3 cm, con el fin de utilizarlas para favorecer la propagación de los hongos en las cámaras de pudrición. Las tiras pasaron por un tratamiento de humedecimiento y esterilización, previos a la inoculación.

En la Figura 8 se aprecia las tiras de alimentación inoculadas con los hongos utilizados en este estudio, listos para ser colocados en las cámaras de pudrición.

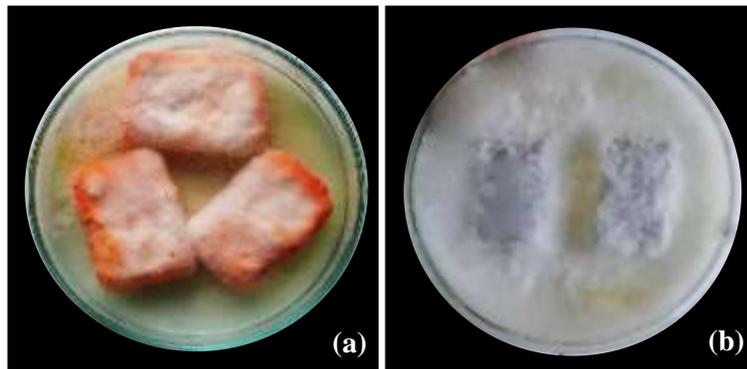


Figura 8: Tiras de alimentación inoculadas con micelio
(a) *P. sanguineus* y (b) *S. commune*

- c. Preparación de probetas de ensayo: Como se dispone en la Figura 9, por cada rodaja tomada a diferentes niveles de altura del árbol, se sacaron 16 probetas (ocho de albura y ocho de duramen) de 2 x 2 x 2 cm, convenientemente orientadas, libres de grietas y rajaduras. A la vez, dentro de cada sub grupo, cuatro probetas se inocularon con *P. sanguineus* y cuatro con *S. commune*. Por tratarse de tres niveles de altura, se trabajó con 48 probetas por árbol y 240 en total.

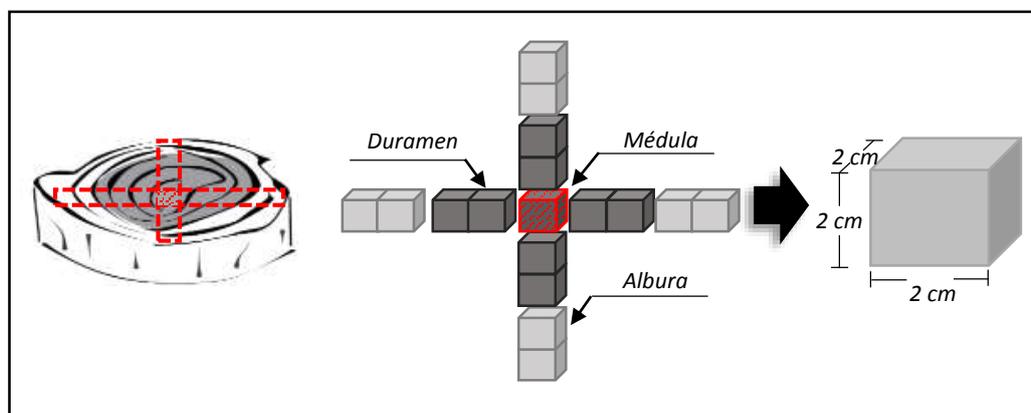


Figura 9: Disposición en las rodajas y dimensiones de las probetas para el ensayo de durabilidad natural de *T. grandis*

Una vez formadas las probetas se determinó el peso seco inicial (Psi) mediante secado a estufa a 103 ± 2 °C hasta peso constante, luego fueron humedecidas por inmersión con agua destilada por 72 h y finalmente esterilizadas en autoclave durante 20 min a 121 °C. De igual forma se trataron ocho probetas de *S. amara* para ser utilizadas como testigo, cuatro para cada hongo en estudio.

- d. Instalación de cámaras de pudrición: En frascos de vidrio de 315 mL esterilizados, se llenó aproximadamente 50 mL de medio de cultivo PDA, se llevaron a esterilizar nuevamente en autoclave a 121 °C por 15 min y se dejaron enfriar. Al endurecer el medio, se colocaron las tiras de alimentación inoculadas con el hongo respectivo y sobre ellas las probetas de *T. grandis* con la sección transversal en contacto con el manto miceliar, como se aprecia en la Figura 10.

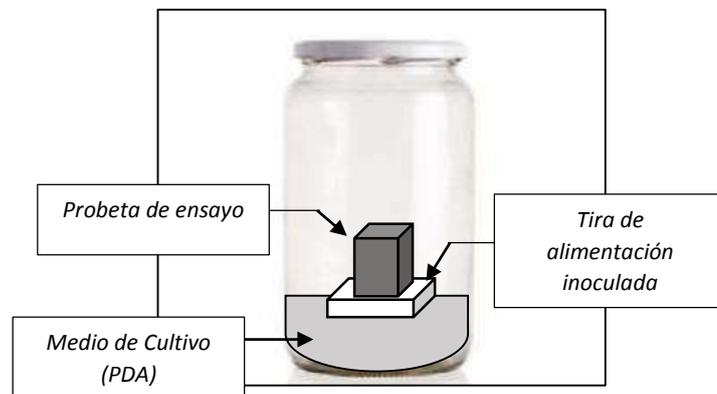


Figura 10: Montaje de cámaras de pudrición

Las cámaras se llevaron a incubación durante 90 días a 27 °C, como se observa en la Figura 11.



Figura 11: Cámaras de pudrición en proceso de incubación

- e. Cálculo de la pérdida de peso y evaluación de resultados: Luego del periodo de exposición se sacaron las probetas, se les retiró el manto fúngico con alcohol y se llevaron a la estufa a 103 ± 2 °C hasta alcanzar un peso constante (Psf). El porcentaje de pérdida de peso de cada probeta se determinó utilizando la Ecuación (1):

$$PP = 100 \% \times \frac{(Psi - Psf)}{Psi} \quad (1)$$

Donde:

- PP: Pérdida de peso (%)
- Psi: Peso seco inicial (g)
- Psf: Peso seco final (g)

La Norma ASTM D 2017 presenta criterios para la interpretación de los resultados de este ensayo, los cuales permitieron clasificar la madera por su grado de durabilidad natural, como se muestra en la Tabla 4:

Tabla 4: Clasificación de la madera por su resistencia biológica

Promedio de la pérdida de peso (%)	Promedio de peso residual (%)	Grado de resistencia al hongo xilófago	Clase
0 – 10	90 – 100	Altamente Resistente	A
11 – 24	76 – 89	Resistente	B
25 – 44	56 – 75	Moderadamente Resistente	C
45 a más	55 o menos	No Resistente	D

Fuente: ASTM D 2017- 05

Para confirmar que las condiciones experimentales fueron óptimas y validar los resultados del ensayo se utilizó madera de *Simarouba amara*, considerada de baja resistencia natural, como testigo.

3.3.3. Contenido de extractivos totales de la madera de *T. grandis*

Para determinar el contenido de extractivos totales de la madera se realizó el procedimiento indicado en la Figura 12.

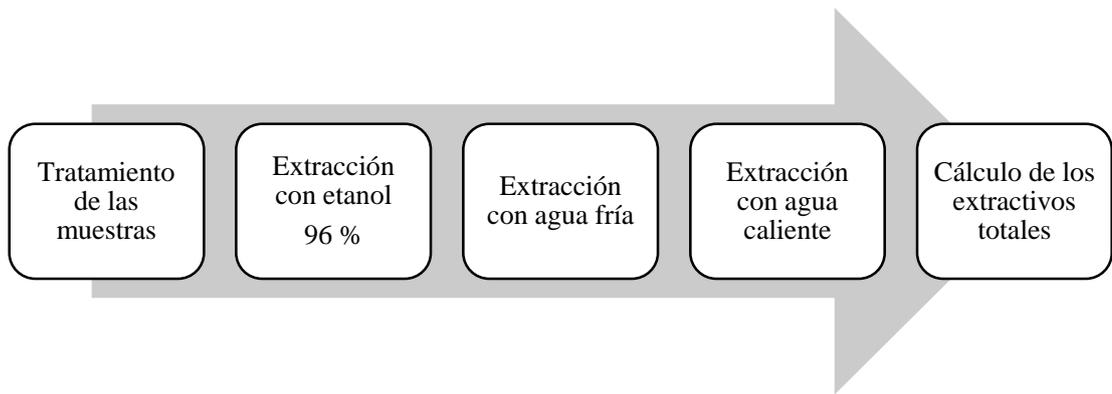


Figura 12: Procedimiento para cuantificar los extractivos totales de la madera

- a. Preparación de muestras: La madera restante de las rodajas se acondicionó para la evaluación de los extractivos. Esta fue astillada, molida y tamizada en malla de 40 mesh (Figura 13), como lo indican las normas TAPPI T 204 cm-97 (2017) y TAPPI T 207 cm-99 (1998). Las muestras trabajadas se diferenciaron por tipo de leño (albura y duramen) y nivel de altura del fuste (Base, Medio y Ápice).

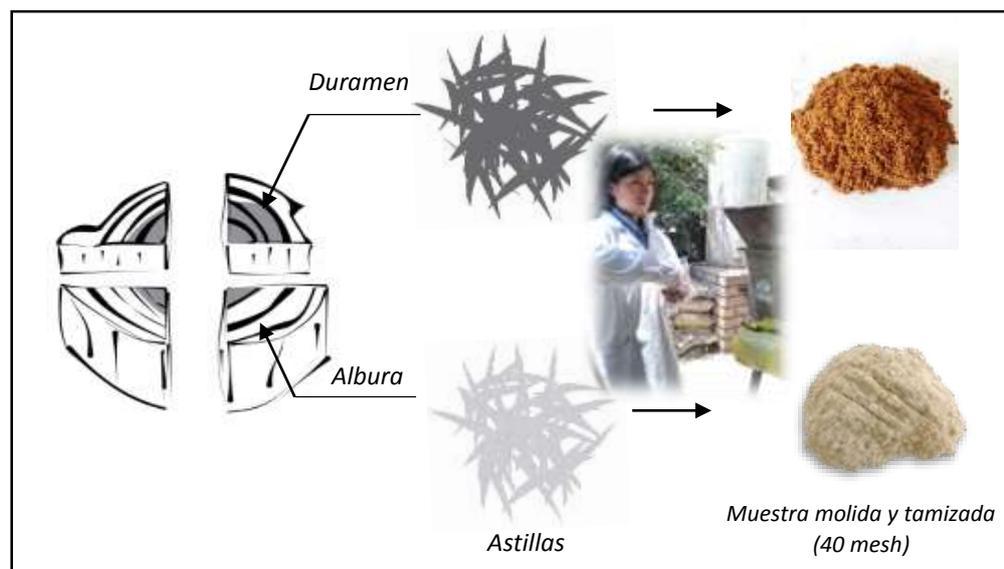


Figura 13: Procesamiento de muestras de madera para la evaluación de extractivos a partir de rodajas tomadas a diferentes niveles de altura del fuste

- b. Extracción con Etanol: Se tomó como referencia la norma TAPPI T 204 cm-97 (2017).

La extracción se realizó mediante un flujo constante de etanol (96 %) por medio del equipo Soxhlet durante 6 h. Para ello se prepararon cartuchos con 2 g de muestra de madera molida y 200 mL de solvente para cada extracción como se muestra en la Figura 14. El ensayo se realizó por triplicado.

El cálculo del contenido de extractivos con este solvente se realizó utilizando la Ecuación (2):

$$E_{Etanol} = 100\% \times \frac{\text{Peso del extracto}_{etanol}}{\text{Peso Seco de la Muestra}} \quad (2)$$

Donde:

- E_{Etanol} : Extractivos solubles en etanol (%)
- Peso del extracto: Diferencia de pesos del matraz después y antes de realizar la extracción (g)
- Peso seco de la muestra de madera (g)



Figura 14: Extracción con etanol por Soxhlet de las muestras de *T. grandis* (a) Extracción de muestras de albura (b) Extracto de albura deshidratado (c) Extracción de muestras de duramen (d) Extracto de duramen deshidratado.

- c. Extracción en agua fría y caliente: Según norma TAPPI T 207 cm-99 (1998).
Para la extracción en agua fría, las muestras libres de extractivos solubles en etanol se colocaron en matraces de 250 mL y se les agregó agua destilada hasta cubrirlos como se aprecia en la Figura 15. La mezcla se dejó a temperatura ambiente durante 48 horas, agitándose de tiempo en tiempo. Al final se filtró con

papel, se lavó el residuo con agua destilada y se secó hasta a peso constante a 100 °C.



Figura 15: Extracción con agua fría de las muestras de *T. grandis*

Después de la extracción con agua fría, las muestras fueron transferidas a matraces, se les añadió 100 mL de agua destilada, se les colocaron condensadores de reflujo a cada uno y se llevaron a baño de agua hirviendo por 3 horas. Al final se filtró con papel, se lavó el residuo con agua caliente y se secó en estufa hasta peso constante, como se observa en la Figura 16.



Figura 16: Extracción con agua caliente de las muestras de *T. grandis*
(a) Muestras y condensadores de reflujo en baño de agua hirviendo (b) y (c) Filtrado de muestras con papel mediante bomba de vacío

El cálculo del contenido de extractivos en agua fría o caliente se realizó con la Ecuación (3):

$$E_{H_2O} = 100\% \times \frac{A - B}{A} \quad (3)$$

Donde:

- E_{H_2O} : Extractivos solubles en agua fría o caliente (%)
- A: peso seco inicial de la muestra de ensayo (g)
- B: peso seco de la muestra después de la extracción (g)

d. Cálculo de extractivos totales: Al tratarse de una extracción sucesiva, el contenido de extractivos totales se determinó mediante la suma de las extracciones parciales, aplicando la Ecuación (4):

$$ET = E_{Etanol} + E_{Agua} \quad (4)$$

3.3.4. Análisis fitoquímico de los extractivos de la madera de *T. grandis*

Para este análisis se realizaron cuatro procedimientos básicos como se indica en la Figura 17, los cuales fueron aplicados a seis muestras compuestas de madera molida (40 mesh) de los cinco árboles, respetando la variación por tipo de leño (albura y duramen) y niveles de altura del fuste (Base, Medio, Ápice).

Previo al tamizaje fitoquímico se realizó un ensayo de solubilidad para determinar el grado de etanol adecuado para la extracción, y antes de los ensayos analíticos se realizó una extracción (sólido-líquido) con asistencia de ultrasonido.

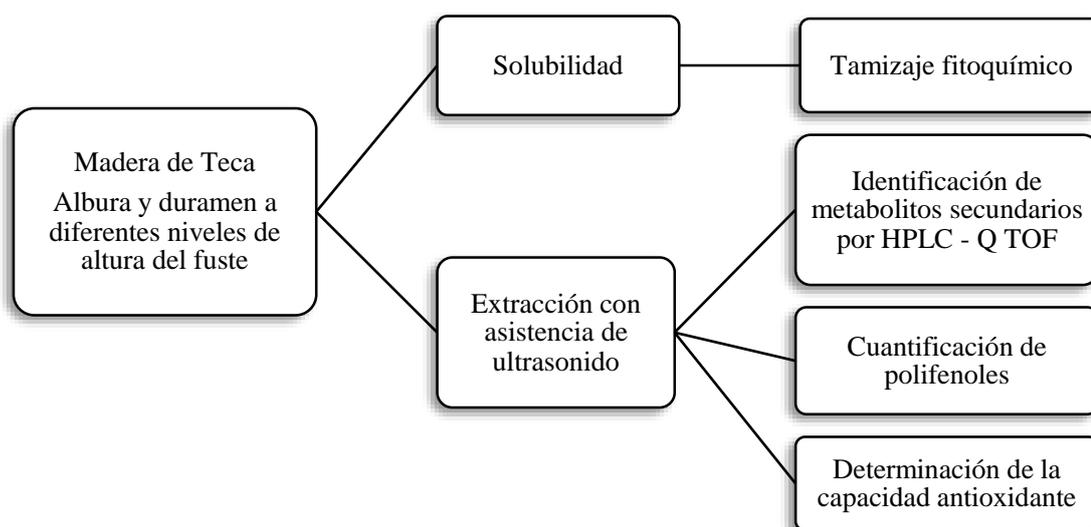


Figura 17: Proceso de análisis fitoquímico de los extractivos de madera

a. Solubilidad: Se determinó teniendo como referencia la norma NRSP – 309.

Por muestra se pesó 2 g, se transfirió a un matraz de 100 mL, y se añadió 40 mL de agua destilada o etanol al 30, 50, 70 o 96 %. La solución se agitó durante 6 h, se dejó en reposo por un día y se filtró por papel. Para terminar, se tomó una alícuota de 5 mL y se desecó a 100 °C en una estufa hasta peso constante. El ensayo se realizó por triplicado.

El porcentaje de sustancias solubles en base anhidra (SS) se calculó mediante la Ecuación (5):

$$SS = \frac{R \times 500 \times 100}{M \times (100 - H)} \quad (5)$$

Dónde:

- SS: Sustancias solubles en base anhidra (%)
 - H: humedad de la muestra (%)
 - 500 y 100: factores matemáticos para los cálculos
 - R: residuo de la muestra (g)
 - M: masa de la muestra (g)
- b. Tamizaje fitoquímico: Se realizó con el fin de determinar cualitativamente la presencia de distintos grupos fitoquímicos, utilizando el extracto con mayor valor de solubilidad de cada una de las seis muestras y evaporando el contenido de etanol de las mismas cuando se requería un extracto acuoso (OMS 1998).

La determinación consistió en colocar en tubos de ensayo 1 mL de la solución (solvente + extracto) y reconocer por cambios de coloración los grupos de metabolitos presentes al añadir el reactivo correspondiente, como se presenta en la Figura 18.



Figura 18: Tamizaje fitoquímico de la madera de duramen de *T. grandis*

Los metabolitos evaluados fueron:

- Azúcares reductores: Su identificación se realizó mediante el ensayo de Fehling. En 1 mL de extracto acuoso se agregó 1 mL de Fehling A y Fehling B respectivamente y se calentó la mezcla en baño maría por 10 min. El ensayo se consideró positivo si la solución presentó una coloración rojiza o precipitado del mismo color.
- Alcaloides: Se seleccionaron cuatro ensayos, cuyo principio común parte de una solución acuosa del extracto a la que se le agregó 1 mL de HCl (1 %), se calentó suavemente y se dejó enfriar, para después añadir tres gotas del reactivo correspondiente. Solo en el caso del ensayo Mayer, antes de agregar el reactivo se añadió una pizca de NaCl en polvo. Los resultados esperados se presentan en la Tabla 5.

Tabla 5: Resultado según cada ensayo de alcaloides

Ensayo	Color	+	++	+++
Dragendorff	Rojo ladrillo	Opalescencia	Turbidez	Precipitado
Wagner	Marrón			
Mayer	Amarillento			
Erdman	Rojo			

- Compuestos fenólicos:
 - Ensayo del cloruro férrico (FeCl_3): Permitió reconocer la presencia de polifenoles al agregar tres gotas del reactivo al extracto. De acuerdo al color de la reacción los resultados pueden ser como se presentan en la Tabla 6.

Tabla 6: Color de la reacción y grupos fenólicos que representan

Color	Información
Rojo vino	Compuestos fenólicos en general
Verde	Taninos pirocatecólicos o condensados
Azul	Taninos pirogalo tánico o hidrolizables

- Gelatina: Se empleó para la detección de taninos agregando una solución de gelatina salada al extracto etanólico. La formación de un precipitado blanco se consideró una reacción positiva

- Flavonoides: Se usó el ensayo Shinoda. Al extracto acuoso se agregó 1 mL de HCl (37 %) y un pedacito de Mg metálico. Después de la reacción se esperó cinco minutos y se añadió 1 mL de alcohol amílico, se mezcló y se dejó reposar hasta que se separaron las fases. El ensayo se consideró positivo al colorearse el alcohol amílico. Dependiendo del tipo de flavonoides la coloración es diferente como indica la Tabla 7.

Tabla 7: Color de la reacción y flavonoides a los que se relaciona

Color	Tipo de Flavonoide
No dan coloración	Chalconas, auronas, isoflavononas
Amarillo	Isoflavonas
Azul, magenta, violeta, rojo	Flavanonas
Rojo a magenta	Flavanonoles
Amarillo a rojo	Flavonas y flavonoles

- Quinonas: El ensayo utilizado fue el de Bonträger que reconoce la presencia de antraquinonas y naftoquinonas. Una vez evaporado el etanol, se diluyó en 1 mL de benceno al cual se le añadió 1 mL de NaOH al 5 %. Se agitó hasta mezclar las fases y se dejó en reposo hasta su separación. El resultado se consideró positivo cuando la fase acuosa alcalina (superior) se coloreó de rosado o rojo.
- Cumarinas: El ensayo de Baljet permitió reconocer la presencia de compuestos con agrupamientos lactonicos, en particular cumarinas. Al extracto se le adicionó 1 mL del reactivo, el cual se consideró positivo al aparecer una coloración o precipitado rojo.
- Saponinas: Se utilizó el ensayo de la espuma. Para ello se agregó agua al extracto en solución acuosa y se agitó fuertemente por 2 min. El ensayo se consideró positivo al aparecer espuma de más de 2 mm de altura en la superficie del líquido persistente por más de 2 min.

La calificación asignada al término de las pruebas fue la siguiente:

- +++: Reacción muy evidente.
- ++: Reacción evidente.
- +: Reacción poco evidente pero aceptable.
- : No hubo reacción / reacción negativa.

- c. Extracción (sólido- líquido) asistida por ultrasonido: Antes de realizar los ensayos analíticos se realizó una extracción etanólica mediante la asistencia de ultrasonido de cada una de las seis muestras compuestas diferenciadas por tipo de leño y nivel de altura, tomando como referencia el método de Vergara et al. (2012).

Se utilizó 1 g por muestra, el cual fue liofilizado y sometido a cuatro extracciones sucesivas. Cada extracción con 8 mL de etanol/agua (80:20 v/v) fue asistida por un procesador de ultrasonido Cole – Parmer a una frecuencia de 50 Hz por 2 min efectivos divididos en cuatro ciclos. Las cuatro extracciones por muestra fueron centrifugadas a 3000 rpm por 10 min y recolectadas en un tubo Falcon como se observa en la Figura 19. Los tubos fueron guardados a refrigeración hasta el momento de ser utilizado.

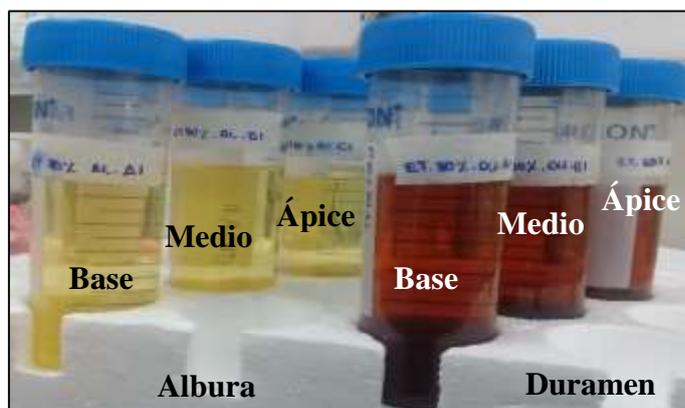


Figura 19: Extractos etanólicos de madera de *T. grandis* en tubos Falcon

- d. Identificación de metabolitos secundarios (MS) por HPLC - ESI Q TOF MS/MS: Como referencia se consideró el método descrito por (Gorena et al., 2014), siguiendo el procedimiento que se indica en la Figura 20.

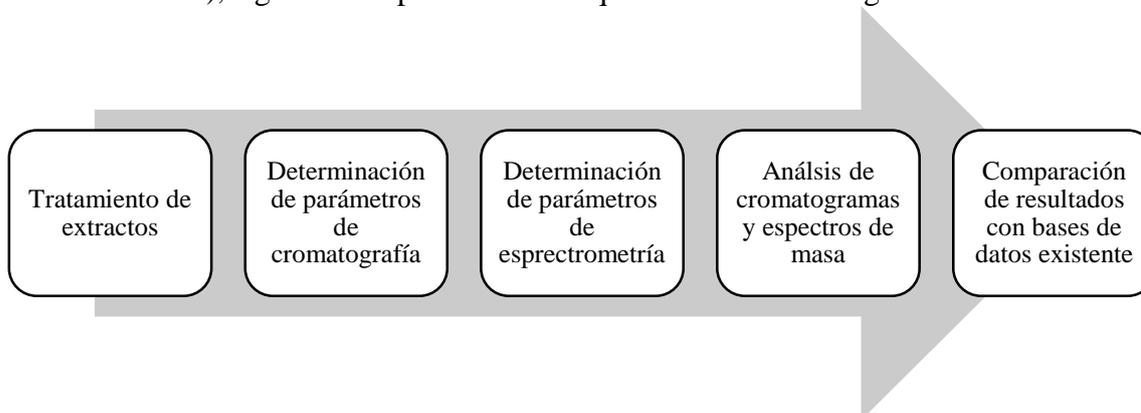


Figura 20: Procedimiento para la identificación de metabolitos secundarios de los extractos de madera

El equipo que se utilizó para este ensayo fue un HPLC (Bruker Elute LC series), acoplado a un espectrómetro de masas (Bruker Compact™) con ionización por desorción (ESI) y analizador por tiempo de vuelo (TOF) como se muestra en la Figura 21. El equipo cuenta con un *Software* integrado “*Compass Hystar*” de Bruker para configurar y controlar los módulos del *Hardware* del cromatógrafo líquido (LC) combinado con el espectrómetro de masas (MS), y un *Software* adicional “*Compass Data Analysis 4.4*” como visualizador y analizador de datos.



Figura 21: Equipo HPLC- ESI Q TOF MS/MS utilizado en el ensayo

- Tratamiento de extractos: Se tomó una alícuota de 1,2 mL por extracto y se colocó en tubos eppendorf para evaporar el solvente utilizando un concentrador por 2 h a 45 °C. El residuo que quedó en los tubos se resuspendió en 0,4 mL de la mezcla 80:20 (v/v) de ácido fórmico al 0,1% (v/v) en agua y ácido fórmico al 0,1% (v/v) en acetonitrilo. Los extractos resuspendidos se pasaron por filtros de jeringa y se colocaron en viales de 2 mL por medio de insertos.

En la Figura 22 se aprecian los viales rotulados con referencia al origen de la muestra, tipo de leño y nivel de altura del fuste de donde se tomó, y un blanco, listos para la lectura por HPLC.

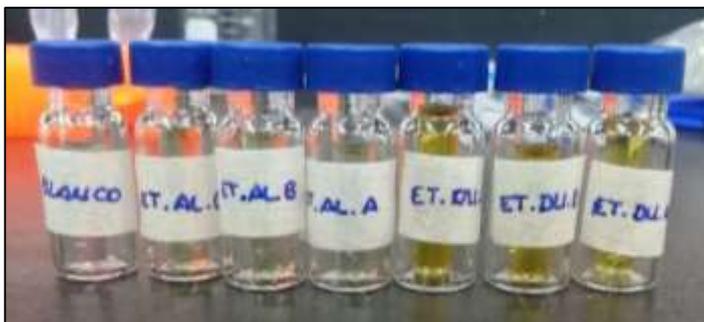


Figura 22: Viales e insertos con extracto de albura y duramen de *T. grandis* a tres niveles de altura del fuste y un blanco

- Parámetros de cromatografía: Como se observa en la Figura 23(a), se utilizó una columna analítica C18 Kromasil 250 x 4,6 mm, 5 μm (fase inversa) y una precolumna C18 Nova Pak Waters 22 x 3,9 mm, 4 μm a 30 ° C de temperatura, con un volumen de inyección de la muestra de 10 μL .

El gradiente de fase móvil consistió en ácido fórmico al 0,1% (v / v) en agua (solvente A) y en acetonitrilo (solvente B), con un flujo de 0,4 mL/min. El programa de elución de solvente se presenta en la Figura 23(b), e inició a 20 % de solvente B por 5 min, se elevó de 20 a 50 % en 10 min, de 50 a 75 % en 25 min, de 75 a 90 % en 10 min y por último a 100 % en 1 min, manteniéndose así por 10 minutos. Para finalizar se bajó a 20 % en 2 min, seguido de 5 minutos de estabilización a ese mismo porcentaje de solvente B.

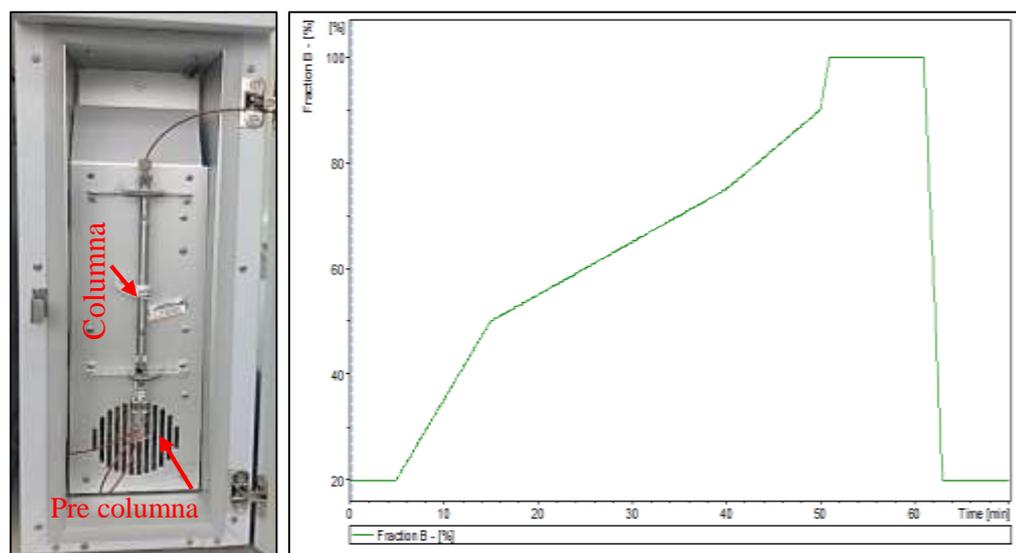


Figura 23: Parámetros cromatográficos utilizados en la identificación de MS de la madera de *T. grandis*

(a) Columna y pre columna cromatográfica (b) programa de elución de solvente.

- Parámetros de espectrometría, se trabajó por electro pulverización (ESI) MS/MS, en modo de ionización positivo, temperatura de secado 200 °C, con una presión de gas nebulizador de 4 bar, potencial en el capilar de 4500 V y en el plato de 500 V. Se utilizó formiato de sodio como calibrante interno y un rango de exploración de masas de 100 a 1500 m/z.
- Análisis de cromatogramas y espectros de masa: El resultado de cada muestra se expresó en dos cromatogramas. En un BPC “*Base Peak Chromatogram*” o cromatograma de pico base en español, que muestra solo la señal de la masa más intensa en cualquier espectro de masas dado trazada frente al tiempo. En un Cromatograma UV a 254 nm de longitud de onda, característico para compuestos

polifenólicos. Ambos cromatogramas y los espectros de masas fueron analizados por medio del *Software* “*Compass Data Analysis 4.4*”, como se observa en la Figura 24.

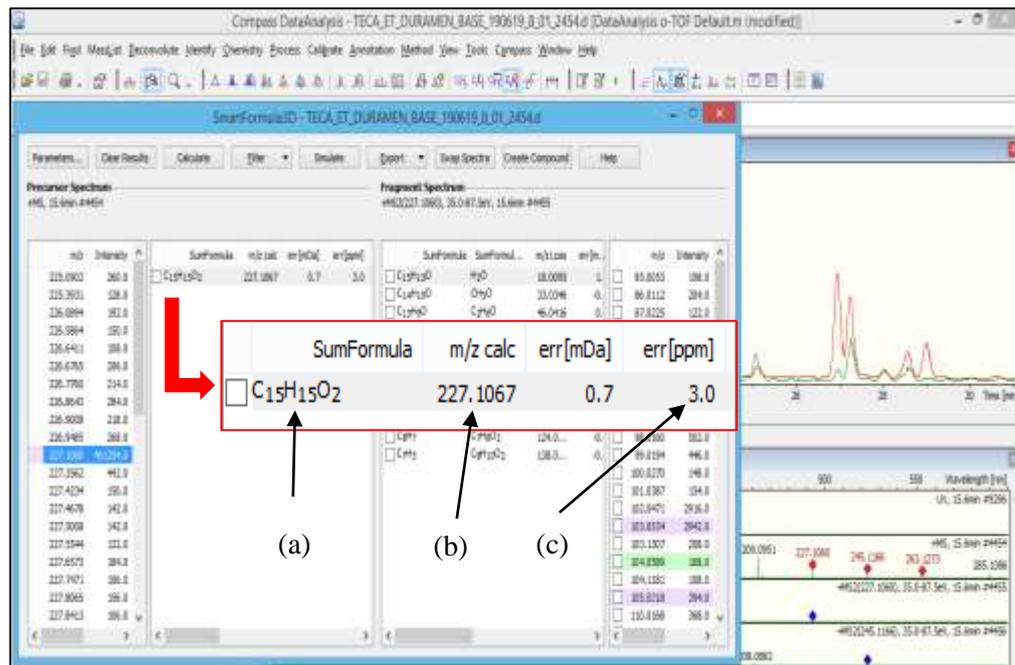


Figura 24: Despliegue de visualización de “*Compass Data Analysis 4.4*”
(a) Formula; (b) m/z; (c) error (ppm)

- Comparación de resultados con bases de datos: La identificación de los compuestos se realizó según *MetFragBeta*², “Fragmentación *in silico* para la identificación asistida por computadora de espectros de masas de metabolitos”, comparando los espectros de masas (ion precursor y fragmentos) con los registrados en la base de datos KEGG. Para la validación de los resultados se tuvo en cuenta el valor de m/z, el error expresado en ppm y el *score* de coincidencia de fragmentos, como se muestra en la Figura 25.

² <https://msbi.ipb-halle.de/MetFragBeta/>

The screenshot shows the MetFrag web interface. In the 'Database Settings' section, the 'Neutral Mass' field is set to 228.0594, circled in red and labeled (a). The 'Fragmentation Settings & Processing' section shows 'Mzppm' at 5, 'Mzabs' at 0.001, and 'Mode' as [M+H]⁺. An 'MS/MS Peak list' window is open, showing a list of peaks. The bottom section displays a table with columns: Molecule, Identifier, Mass, Formula, FinalScore, and Details. The first row shows the chemical structure of Doxylapachol, its identifier C10325, mass 228.059, formula C₁₉H₁₆O₂, and a final score of 0.9555, which is circled in red and labeled (c). The name 'Doxylapachol' is circled in red and labeled (b).

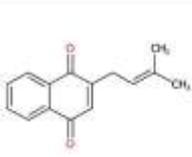
Molecule	Identifier	Mass	Formula	FinalScore	Details
 Doxylapachol	C10325 InChIKey: 0SDFYZFKRRCR	228.059	C ₁₉ H ₁₆ O ₂	0.9555	Peaks: 7 / 11 Fragment Score Download

Figura 25: Despliegue de visualización de *Met Frag Beta* para la identificación de compuestos

(a) masa exacta, (b) nombre del compuesto, (c) Score de coincidencia de fragmentos

- e. Cuantificación de polifenoles totales: Se realizó mediante el método Folin – Ciocalteu en microplaca de 96 pocillos bajo lectura de un espectrofotómetro de micro-volumen y ácido gálico como material de referencia (Inostroza, Troncoso, Mardones, & Vergara, 2018). Se siguió el procedimiento indicado en la Figura 26.

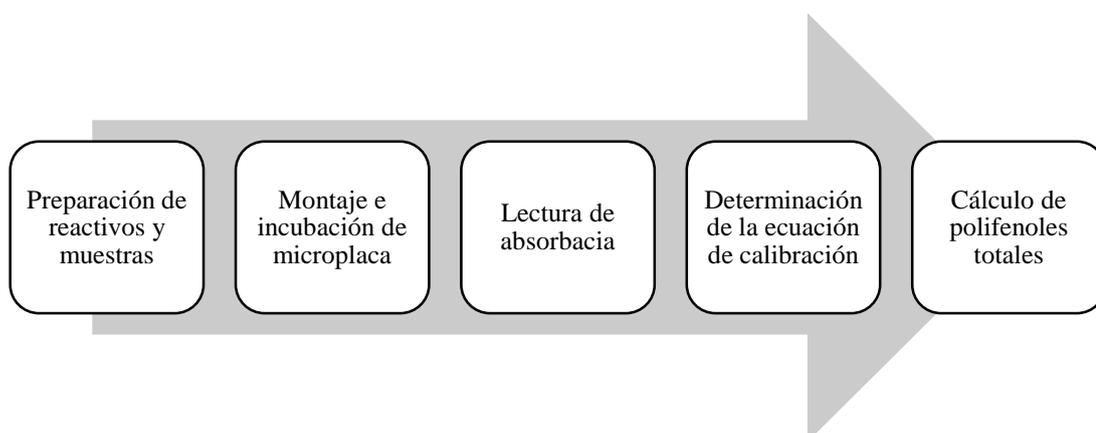


Figura 26: Procedimiento para la cuantificación de polifenoles

Se preparó una solución patrón de ácido gálico de 5000 mg/L, de carbonato de sodio al 6 % (p/v) y de Folin-Ciocalteu al 20 % (v/v) con agua ultrapura. Este último fue preparado al momento y protegido de la luz. A partir de la solución patrón de ácido gálico se realizaron las diluciones necesarias con agua ultrapura para obtener concentraciones de 20, 40, 60, 80, 150 y 200 mg/L en eppendorf de 2 mL y con ello preparar la recta de calibración. En cuanto a las muestras, se preparó 1500 µL de cada una, diluida tres veces en agua ultrapura, en eppendorf ámbar de 2 mL.

En la microplaca de 96 pocillos, se mezclaron 50 µL de ácido gálico a las diferentes concentraciones, de blanco (agua ultrapura) o de las muestras, con 50 µL de reactivo de Folin-Ciocalteu (20 %) y 100 µL de carbonato de sodio (6%). La microplaca se mantuvo en oscuridad a temperatura ambiente durante 30 min, para después medir la absorbancia de las muestras y los estándares de calibración a 760 nm. El ensayo se realizó por triplicado.

El contenido total de polifenoles se cuantificó utilizando la ecuación de la recta de calibrado³ $y = Ax + B$ reemplazando el valor de absorbancia de las muestras “y” y despejando “x” que corresponde a la concentración equivalente de ácido gálico en las mismas. Finalmente, el valor de “x” fue multiplicado por el factor de dilución o número de veces que fue diluido el extracto (3), para así obtener el resultado real y expresarlo en mg de equivalentes de ácido gálico por g de peso seco de madera (mg EAG/g).

- f. Determinación de la capacidad antioxidante: Se empleó el método ORAC en microplaca de 96 pocillos bajo lectura de un espectrofotómetro de microvolumen y Trolox como material de referencia (Inostroza et al., 2018). Se procedió según lo indicado en la Figura 27.

³ La recta de calibración se presenta en el Anexo 9

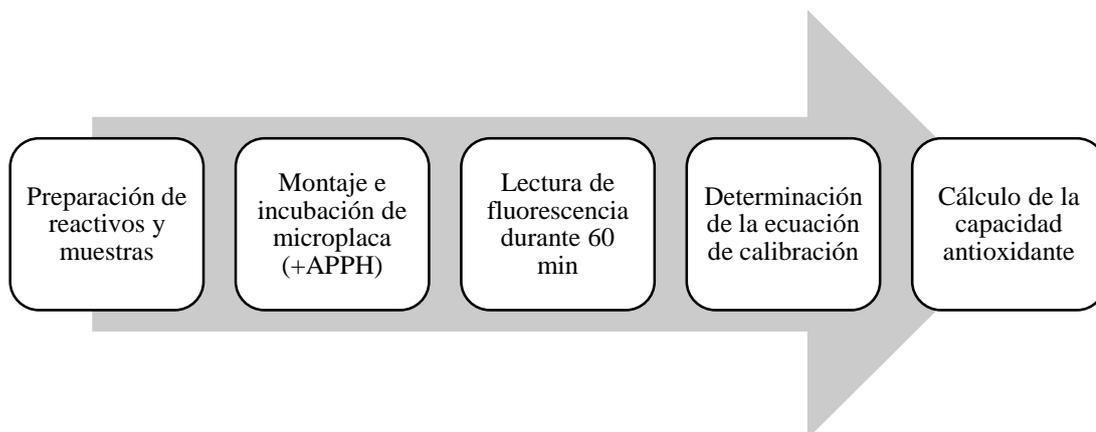


Figura 27: Procedimiento para la determinación de la capacidad antioxidante

Para el desarrollo del método se utilizó una solución patrón de Trolox 500 μM , de fluoresceína al 0,111 μM y de AAPH 0,156 M, todas diluidas en Buffer fosfato (75 mM). A partir de la solución patrón de Trolox (500 μM) se realizaron diluciones necesarias con Buffer fosfato para obtener concentraciones de 0, 10, 20, 30, 40, 50 y 60 μM en eppendorf de 2 mL, y con ellas preparar la recta de calibración. En cuanto a las muestras, se preparó 1500 μL de cada una, diluida en Buffer fosfato con un factor de dilución de 100, en eppendorf de 2 mL.

En la microplaca negra de 96 pocillos se añadió 150 μL de Fluoresceína (0,111 μM) evitando emplear los pocillos extremos. Sobre la Fluoresceína se agregó 25 μL de blanco (buffer fosfato 75 mM), 25 μL de las soluciones de Trolox a diferentes concentraciones o de las muestras. La microplaca se incubó a oscuridad a 33°C por 30 min. Transcurrido el tiempo se agregó 25 μL de AAPH (0,156 M) a todos los pocillos con una pipeta multicanal, el tiempo es crítico en este paso, puesto que la reacción comienza inmediatamente. La lectura de fluorescencia se realizó durante 60 min a una longitud de onda de 485 nm para la excitación y 528 nm para la emisión, formando una curva de decaimiento de la fluorescencia a lo largo del tiempo. El ensayo se realizó por triplicado.

El efecto protector del antioxidante se cuantificó mediante la medición del Área Bajo la Curva (ABC) de decaimiento de la fluorescencia con las muestras, y reemplazando este valor “y” en la ecuación de la recta de calibrado⁴ $y = Ax + B$, para despejar “x” que corresponde a la concentración equivalente de Trolox. Finalmente, el valor de “x” fue multiplicado por el factor de dilución del

⁴ La recta de calibración se presenta en el Anexo 10

extracto (100) para obtener el valor real de la capacidad antioxidante de las muestras. Este resultado se expresó en milimoles de Trolox equivalente por gramo de peso seco de madera (mmol TE/g).



Figura 28: Ensayo de polifenoles y capacidad antioxidante de muestras de *T. grandis*
(a) Espectrofotómetro de micro-volumen, (b) Microplaca del ensayo de Folin-Ciocalteu (c) Microplaca del ensayo ORAC

3.4. Diseño experimental y análisis estadístico

El modelo estadístico utilizado fue el “Diseño completamente al azar en arreglo factorial”. En el caso de la variable pérdida de peso por pudrición, se realizó un arreglo de 2x2x3 (especie de hongo, tipo de leño y nivel de altura del fuste), y para el resto de variables, un arreglo de 2x3 (tipo de leño y nivel de altura del fuste).

Las variables del análisis de experimento fueron:

Variables factor:

- A: Especie de hongo: *Pycnoporus sanguineus*, *Schizophyllum commune*
- B: Tipo de leño: duramen y albura
- C: Nivel de altura del fuste: Base, Medio, Ápice

Variables respuesta:

- Pérdida de peso
- Contenido de extractivos totales
- Contenido de polifenoles
- Capacidad antioxidante

Con los datos obtenidos se realizó un análisis estadístico básico de medias y coeficiente de variación. Una vez obtenidas las medias se realizó el análisis de varianza (ANOVA) para saber si los efectos eran estadísticamente significativos según el modelo estadístico planteado. Se consideró un intervalo de confianza del 95 %.

El modelo estadístico fue el siguiente:

CASO I: Para la variable pérdida de peso de la madera

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + (\alpha\beta)_{ij} + (\alpha\gamma)_{ik} + (\beta\gamma)_{jk} + (\alpha\beta\gamma)_{ijk} + \varepsilon_{ijkl}$$

Donde:

- μ = efecto de la media general
- α_i = Efecto producido por el nivel i-ésimo del factor Especie de hongo (A).
- β_j = Efecto producido por el nivel j-ésimo del factor Tipo de leño (B).
- γ_k = Efecto producido por el nivel k-ésima del factor Nivel de altura del fuste (C).
- $(\alpha\beta)_{ij}$, $(\alpha\gamma)_{ik}$, $(\beta\gamma)_{jk}$ y $(\alpha\beta\gamma)_{ijk}$ = Son los efectos producidos por las interacciones entre: (A x B), (A x C), (B x C) y (A x B x C) respectivamente.
- ε_{ijkl} = Efecto del error experimental obtenido con el i-ésimo nivel del factor A, el j-ésimo nivel del factor B y el k-ésima nivel del factor C en la l-ésima repetición.

CASO II: Para el resto de variables respuesta

$$Y_{jkl} = \mu + \beta_j + \gamma_k + (\beta\gamma)_{jk} + \varepsilon_{jkl}$$

Donde:

- μ = efecto de la media general
- β_j = Efecto producido por el nivel j-ésimo del factor Tipo de leño (B).
- γ_k = Efecto producido por el nivel k-ésima del factor Nivel de altura del fuste (C).
- $(\beta\gamma)_{jk}$ = Son los efectos producidos por las interacciones entre: (B x C)
- ε_{jkl} = Efecto del error experimental obtenido con el j-ésimo nivel del factor B y el k-ésima nivel del factor C en la l-ésima repetición.

Las comparaciones múltiples de medias entre tratamientos fueron establecidas a través de la Prueba de Tukey.

Y para finalizar, se realizó una matriz de correlación de Pearson entre la pérdida de peso de la madera a causa de la degradación de los hongos, con el contenido de extractivos totales, polifenoles y la capacidad antioxidante.

Los análisis estadísticos, incluidos el ANOVA, las pruebas de comparación de tratamientos y la correlación fueron realizadas en los programas SigmaPlot y R.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Durabilidad natural de madera de *T. grandis*

4.1.1. Pérdida de peso de las probetas de madera

En la Figura 29 se observa el desarrollo del micelio de los hongos de pudrición blanca sobre las probetas de madera utilizadas para determinar la durabilidad natural en laboratorio. El micelio de *P. sanguineus* llegó a cubrir por completo a las probetas de albura y duramen de *T. grandis* como lo hizo con el testigo, lo que permitió considerar a su actividad de crecimiento como rápida y muy buena. En cuanto al comportamiento del hongo *S. commune*, este desarrolló un micelio uniforme sobre las probetas testigo y de albura de *T. grandis*, pero sobre el duramen su actividad fue reducida dejando ver, en algunos casos, parte de la probeta.

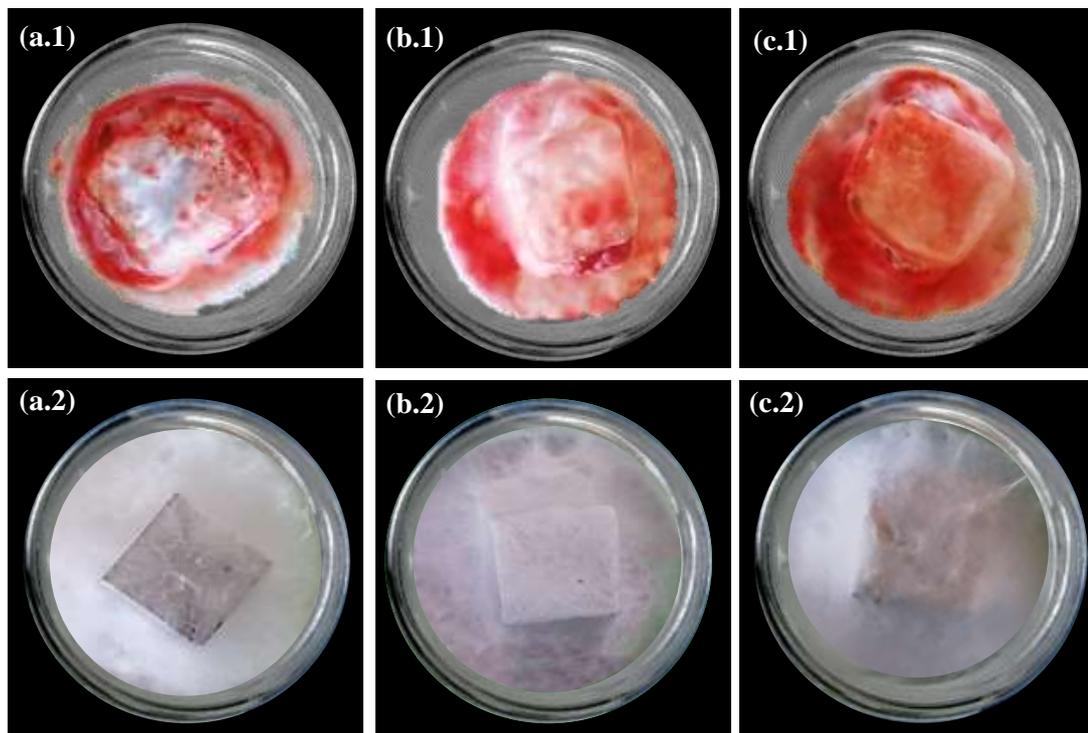


Figura 29: Vista superior de las cámaras de pudrición incubadas por tres meses. En la codificación las letras representan a la madera de: (a) duramen de *T. grandis*, (b) albura de *T. grandis* y (c) testigo (*S. amara*); y los números a los hongos: (1) *P. sanguineus* y (2) *S. commune*.

La Tabla 8 muestra los porcentajes de pérdida de peso como resultado del ensayo de durabilidad natural, tanto en la madera de duramen como de albura, diferenciando los niveles de altura del fuste de donde se tomó la muestra y la especie de hongo utilizada.

En el duramen los valores de peso perdido estuvieron entre 7,3 y 11,2 %, y en la albura entre 14,2 y 26,8 %, siendo *P. sanguineus* el hongo que mayor consumo de leño presentó, y por tanto el utilizado para clasificar a la madera en este estudio. El resultado de mayor agresividad de *P. sanguineus* coincide con lo presentado por Ramos et al. (2016), quien indica que la mayor pérdida de peso de tres maderas nativas del Perú, se obtuvo bajo la acción de este hongo.

Tabla 8: Pérdida de peso (%) de la madera de *T. grandis* en diferentes niveles de altura del fuste y testigo, por ataque de dos hongos de pudrición

Factor de variación		PP (%) por hongo xilófago	
		<i>P. sanguineus</i>	<i>S. commune</i>
Duramen	Base	10,6 (11,7)	7,1 (5,8)
	Medio	11,4 (4,8)	7,2 (7,9)
	Ápice	11,6 (6,5)	7,5 (4,5)
	Promedio	11,2	7,3
Albura	Base	25,3 (11,5)	13,9 (12,3)
	Medio	27,2 (15,7)	14,2 (13,8)
	Ápice	27,8 (7,1)	14,5 (8,5)
	Promedio	26,8	14,2
Testigo (<i>S. amara</i>)		45,2 (4,2)	24,9 (3,7)

PP: Pérdida de peso. El coeficiente de variación se muestra entre paréntesis

En el caso del testigo (*S. amara*), como se observa en la Figura 30, la pérdida de peso que presentó a causa de la acción de ambos hongos (35,2 % en promedio) fue significativamente mayor a lo presentado en la madera de duramen y albura de *T. grandis*, independientemente del nivel de altura de fuste de donde se tomó la muestra. De igual forma, el resultado obtenido sobre *S. amara* fue similar a lo registrado por Ramos et al. (2016) quien indica que la madera de esta especie es de baja resistencia, con pérdidas de peso de hasta 36,9 % en promedio con los mismos hongos. Esta

información confirma que las condiciones experimentales de este estudio fueron óptimas para el desarrollo de los hongos utilizados.

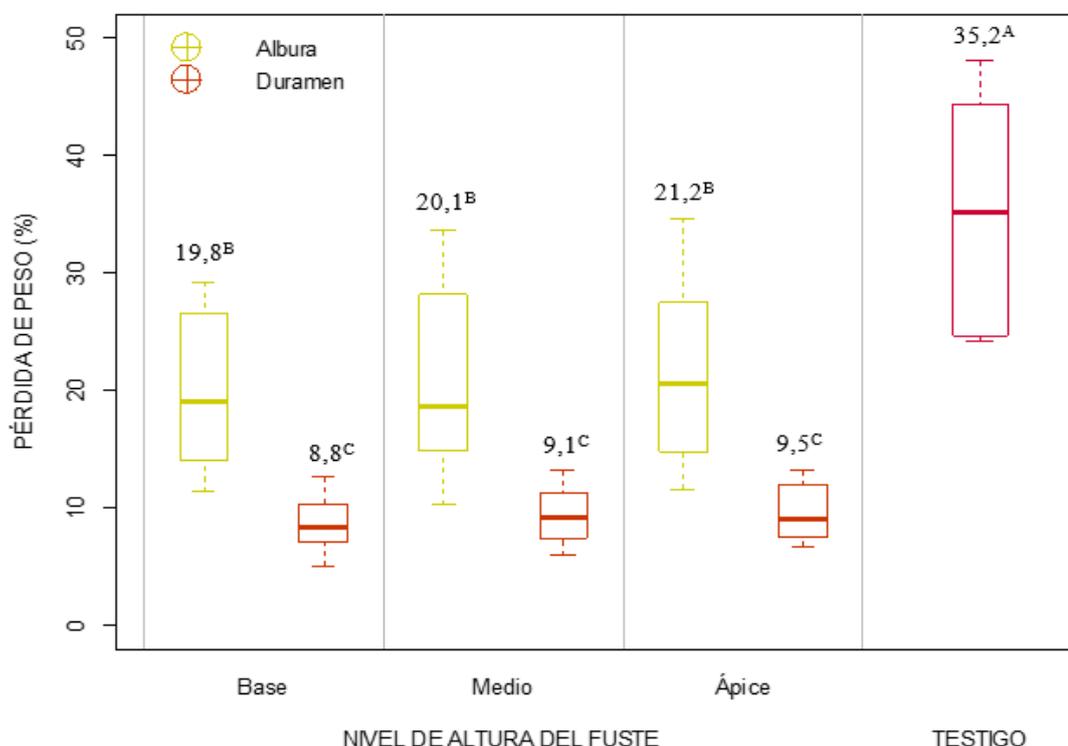


Figura 30: Comparación de medias entre los tratamientos aplicados a la madera de *T. grandis* y el testigo (*S. amara*)

Por otro lado, por tratarse del primer estudio que abarca la durabilidad natural de la madera de *T. grandis* del Perú, se consideraron estudios realizados en el exterior para poder comparar los resultados obtenidos, como se presenta en la Tabla 9.

Tabla 9: Comparación de resultados de durabilidad natural de *T. grandis*

Durabilidad natural	Autora	Bhat et al. (2005)	Moya et al. (2009)	Ypushima (2015)
Procedencia	Perú	India	Costa Rica	México
Edad	33	35	13	9
Hongo	<i>P. sanguineus</i>	<i>P. sanguineus</i>	<i>P. sanguineus</i>	<i>T. versicolor</i>
Pérdida de peso	11,2 % - D 26,8 % - A	2 % - D	13 % - D 35 % - A	17,4 % - D

D: madera de duramen, A: madera de albura

De esta forma, se observa que la pérdida de peso de la madera de duramen de *T. grandis* de 33 años de Perú (Chanchamayo) a causa de hongos de pudrición (7,3 a 11,2 %), resulta mayor a lo encontrado en árboles de plantaciones de 35 años en la India (Nilambur), donde la madera ante el ataque de *P. sanguineus* apenas pierde alrededor de 2 % de su peso (Bhat et al., 2005).

Al comparar los resultados del estudio con *T. grandis* que proviene de plantaciones del Latinoamérica, en su mayoría de edades menores, la madera de Perú presenta menor pérdida de peso por la acción de hongos de pudrición blanca tanto en duramen como en albura. Por ejemplo, en una evaluación realizada por Moya et al. (2009) a la madera que procede de plantaciones de Costa Rica (13 años), esta pierde un porcentaje de su peso alrededor del 13 % en el duramen, y hasta de 35 % en la albura a causa de *P. sanguineus*, mientras que la madera evaluada de Perú pierde 11,2 % en el duramen y 26,8 en la albura bajo la acción del mismo hongo. Lo mismo sucede al comparar los resultados con los obtenidos por Ypushima (2015) en madera de duramen procedente de una plantación de 9 años en México, aun cuando las diferencias de pérdidas de peso fueron mayores (17,4 % al ser sometida a *T. versicolor*).

Como se observa el comportamiento de la variable pérdida de peso a causa de la degradación por hongos resulta altamente variable, en cuanto a lugar de procedencia de la madera y edad del árbol del cual fue muestreada, como lo indica Rizanti et al. (2018).

4.1.2. Variación de la pérdida de peso de la madera de *T. grandis*

Con respecto a la resistencia al ataque de hongos, se presentaron diferencias estadísticas significativas ($P < 0,05$) entre la especie de hongo utilizada, el tipo de leño y el nivel longitudinal del fuste de donde proviene la muestra, como se indica en el resumen del ANOVA en la Tabla 10.

Tabla 10: Análisis de varianza (ANOVA) de la pérdida de peso de la madera de *T. grandis*

Fuente	Gl	Valor P
Efectos principales		
A: Especie de hongo	1	< 0.001*
B: Tipo de leño	1	< 0.001*
C: Nivel longitudinal del fuste	2	0.001*
A*B	1	< 0.001*
A*C	2	0.107 ^{n.s.}
B*C	2	0.367 ^{n.s.}
A*B*C	2	0.610 ^{n.s.}
Error	228	
Total	239	

(*) Nivel de significación $P < 0,05$. n.s. = no significativo

Aunque los resultados de pérdida de peso fueron significativamente mayores con el hongo *P. sanguineus*, ambos especímenes de hongos mantienen una tendencia similar con respecto a la proporción de pérdida de peso que causan en la madera de *T. grandis* según el tipo de leño y el nivel longitudinal del fuste de donde se tomó la muestra.

Como se observa en la Figura 31, la pérdida de peso según el factor tipo de leño fue significativamente menor en el duramen que en la albura, con promedios de 9,2 y 20,5 % respectivamente. Comportamiento que estaría relacionado principalmente, como lo indica Castro et al. (2004), al depósito de sustancias polifenólicas en las paredes celulares del duramen como producto del proceso de duraminización; mientras que la albura presenta una gran cantidad de carbohidratos simples generalmente solubles en agua, que pueden ser utilizados como alimento por los hongos, haciéndola más susceptible a la pérdida de peso a causa de su acción.

En cuanto a la evaluación de la pérdida de peso según el nivel longitudinal del fuste. Se puede observar en la Figura 32, que la madera de *T. grandis* presentó un comportamiento decreciente desde la base al ápice del fuste, con diferencias significativas ($P < 0,05$) entre el nivel basal y los otros dos niveles evaluados. Este resultado, además de guardar relación con lo indicado en “*Natural Durability of Wood: A worldwide checklist of species*” (Scheffer & Morrell, 1998), concuerdan con lo determinado por Avalos (2012) en diez especies maderables potenciales de

bosques secundarios y primarios residuales del Perú, donde la variable pérdida de peso presenta un comportamiento similar a lo largo del fuste.

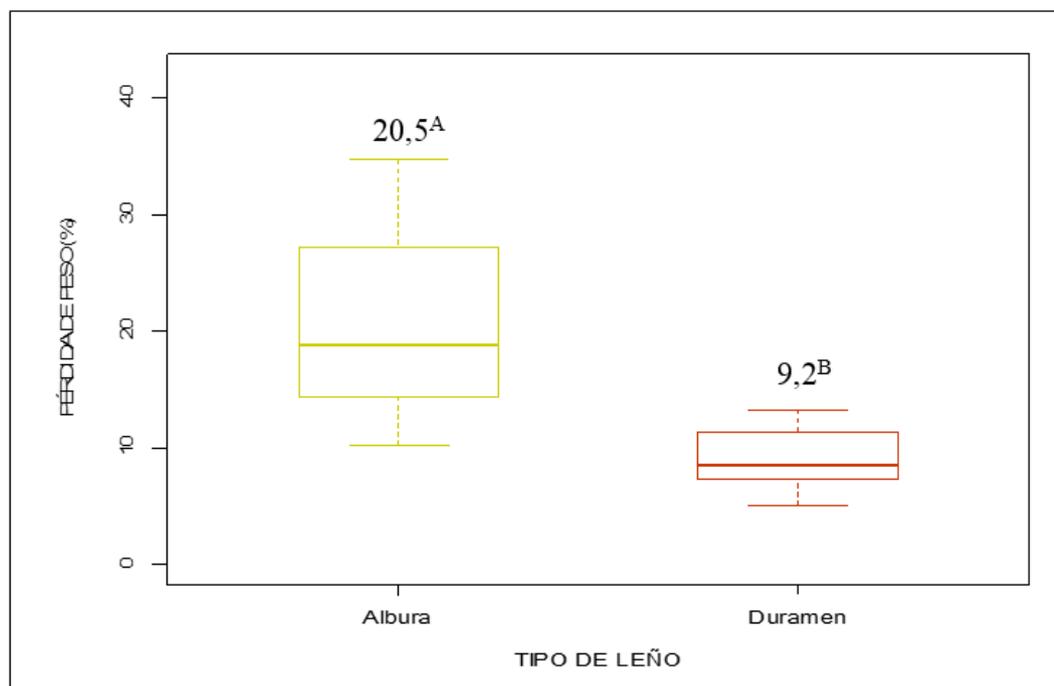


Figura 31: Comparación de medias para la pérdida de peso de la madera de *T. grandis* según el tipo de leño

Las medias seguidas por la misma letra no difieren entre sí al nivel de significación señalado

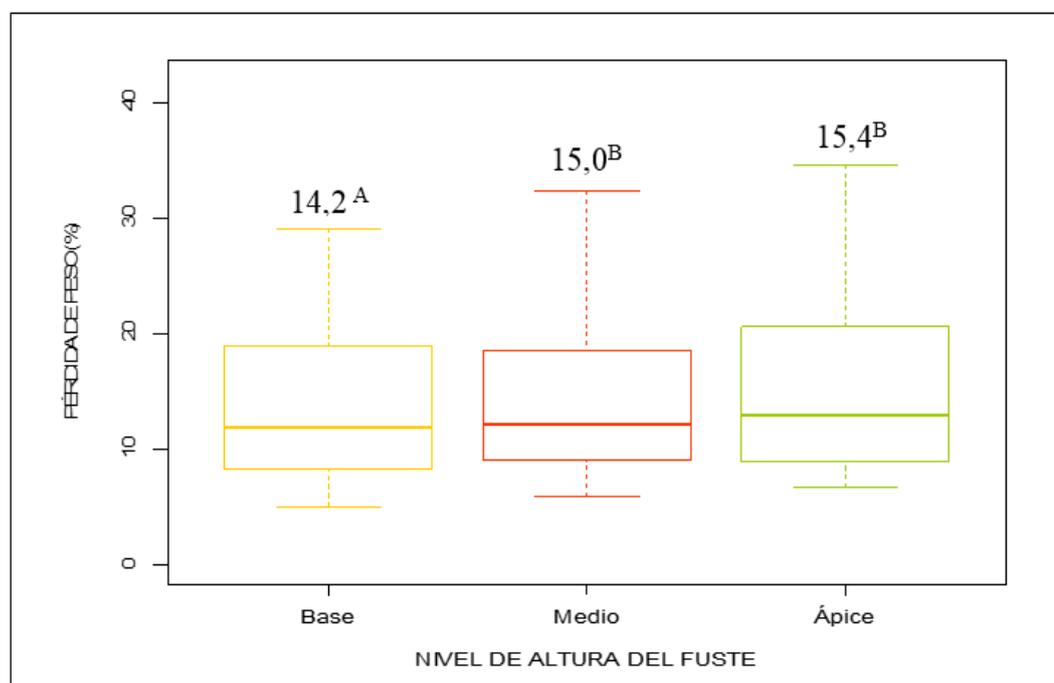


Figura 32: Comparaciones de medias de la pérdida de peso de la madera de *T. grandis* según el nivel de altura del fuste - Tukey ($P < 0,05$)

Las medias seguidas por la misma letra no difieren entre sí al nivel de significación señalado

4.1.3. Clasificación de la madera de *T. grandis* por su durabilidad natural

En la Tabla 11 se presenta la clasificación de la madera de *T. grandis* en base a la de interpretación de resultados de la norma ASTM D 2017 (Tabla 4).

Tabla 11: Clasificación de la madera de *T. grandis* por su durabilidad natural según la norma ASTM D 2017

Tipo de leño	Nivel de altura del árbol	Hongo xilófago	
		<i>P. sanguineus</i>	<i>S. commune</i>
Duramen	Base	B	A
	Medio	B	A
	Ápice	B	A
Albura	Base	C	B
	Medio	C	B
	Ápice	C	B
Testigo (Marupa)		D	C

A: Altamente resistente, B: Resistente, C: Moderadamente resistente, D: No resistente

Debido a su mayor agresividad, los valores de pérdida de peso generada por el hongo *P. sanguineus* fueron utilizados como criterio de clasificación de la madera. De esta forma, el duramen de *T. grandis* se clasificó como resistente (Clase B), mientras que la albura como moderadamente resistente (Clase C), independiente del nivel de altura del fuste de donde se tomó la muestra.

Bajo este criterio; la madera de duramen de *T. grandis* evaluada, se encuentra en una categoría de menor resistencia que la madera de *S. macrophylla*, lo cual difiere con lo presentado en la literatura, la cual considerada a esta última como menos resistente que la *T. grandis* (Blanco et al., 2014; Camino, 2013; Pandey & Brown, 2000).

El resultado también indica que la madera de duramen de *T. grandis* estudiada, es más resistente que la que vienen de plantaciones de menor edad, coincidiendo con lo indicado por Rodríguez et al. (2019), al mencionar que la resistencia de la madera al ataque de hongos de pudrición aumenta con la edad.

4.2. Extractivos totales de madera de *T. grandis*

4.2.1. Contenido de extractivos de la madera

Los resultados del proceso de extracción sucesiva con etanol al 96 %, agua fría y agua caliente de la madera de albura y duramen de *T. grandis* se presentan en la Tabla 12. Donde se logró obtener la mayor cantidad de extractivos con etanol, seguida del agua caliente y por último en agua fría.

Tabla 12: Contenido de extractivos (%) en la madera de *T. grandis* obtenidos con diferentes solventes

Tipo de leño	Nivel de altura del fuste	Extractivos por solvente (%)			Extractivos Totales (%)
		Etanol (96 %)	Agua caliente	Agua fría	
Duramen	Base	9,8	3,5	0,2	13,4 (14,0)
	Medio	8,9	3,3	0,1	12,3 (18,4)
	Ápice	8,7	3,2	0,1	12,1 (19,7)
	Promedio	9,1	3,3	0,2	12,6
Albura	Base	5,2	3,3	1,7	10,1 (8,4)
	Medio	4,3	2,8	1,5	8,6 (15,6)
	Ápice	3,7	3,2	1,3	8,2 (17,5)
	Promedio	4,4	3,1	1,5	9,0

Por tratarse de una extracción sucesiva, como se observa en la Figura 33, la evaluación de extractivos se realizó sumando las cantidades obtenidas con cada solvente, representando de esta forma el contenido de extractivos totales de la madera de *T. grandis*, que en promedio fue de 12,6 % en el duramen y de 9,0 % en la albura. Según Nalvarte (2013), este resultado, es considerado alto dentro de lo esperado en maderas duras, lo cual favorece la resistencia de la madera al ataque de hongos, sobre todo cuando se obtienen cantidades altas con etanol, como en este caso (9,1 % en duramen y 4,4 % en albura), debido a que el solvente es capaz de extraer compuestos como los polifenoles, que inhiben el crecimiento de hongos (Velásquez, Toro, Rojas, & Encinas, 2006).

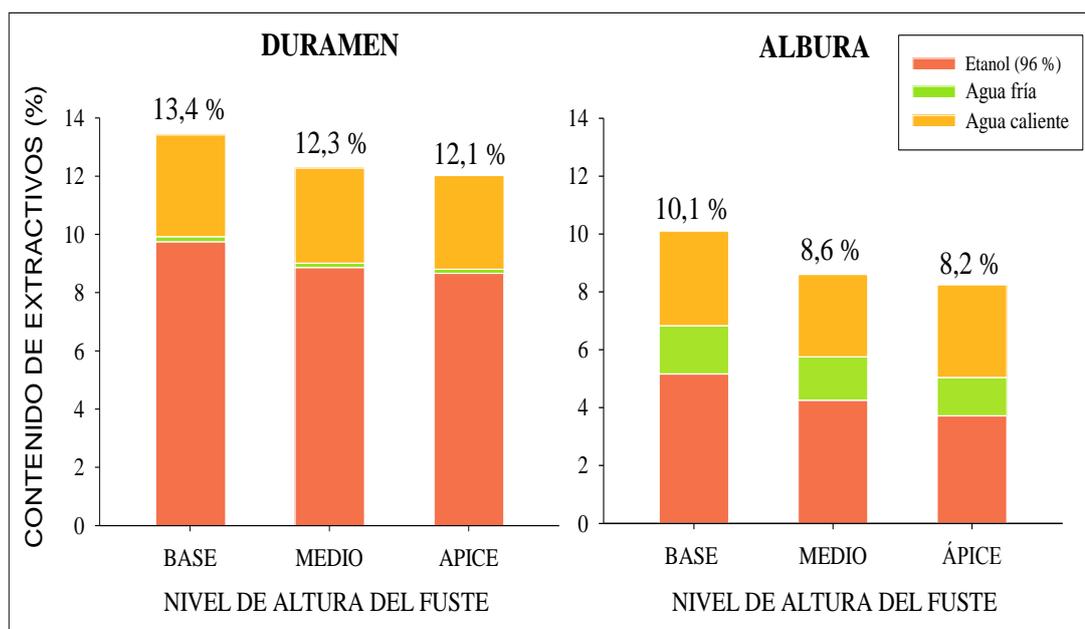


Figura 33: Contenido de extractivos totales de la madera de albura y duramen de *T. grandis* en diferentes niveles de altura del fuste

Por ser el primer estudio que abarca la evaluación de extractivos en la madera de *T. grandis* del Perú, al igual que en la durabilidad natural, no hay datos locales con los que se puedan comparar. Sin embargo, se utilizó como referencia estudios realizados en el exterior como se muestra en la Tabla 13.

Tabla 13: Comparación de resultados de extractivos totales de *T. grandis*

Comparación	Autora	Bhat et al. (2005)	Ypushima (2015)	Rodriguez et al. (2019)
Procedencia	Perú	India	México	México
Edad	33	35	9	15
Precipitación anual	1800 mm	1500 - 2300 mm	1500 – 2000 mm	1500 – 2000 mm
Solventes	Etanol, agua fría y caliente	Etanol: benceno (1:2)	Hexano, acetato de etilo, metanol	Éter de petróleo, acetona: agua (9:1), metanol: agua (8:2)
Extractivos totales en duramen	12,6 %	13,3 %	8 %	10 %

El 12,6 % de contenido de extractivos totales en la madera de duramen de *T. grandis* de este estudio, resulta menor a lo reportado por Bhat et al. (2005) en madera de plantación de 35 años de la India (Nilambur) con 13,3 % de extractivos totales. Sin embargo, el valor resulta mayor a lo encontrado en estudios realizados en Latinoamérica, en arboles de menor edad, por ejemplo en México, Ypushima (2015) y Rodríguez et. al. (2019) evaluaron la madera proveniente de plantaciones de 9 años para el primer estudio y de 9, 15 y 21 para el segundo, cuyos reportes registraron contenidos de extractivos totales alrededor de 8 % para el primer caso y un rango de 7 a 10 % para el segundo, confirmando el aumento de la variable al aumentar también la edad.

Por otro lado, la concentración de extractivos totales en la madera procedente de la de Chanchamayo, se ve favorecida por las condiciones climáticas de la ciudad (precipitación de 1800 mm al año y temperatura media de 23,1 °C), que según Ypushima (2015) se encuentran dentro de la clasificación de las zonas cálidas y subhúmedas (1500 – 2000 mm/año y 24 °C) donde se ha registrado el mayor contenido de extractivos en la madera, comparado a las que provienen de zonas de clima más húmedo (2400 – 3100 mm al año). Sin embargo, autores como Rizanti et al. (2018), Rodríguez et al. (2019) y también Ypushima (2015), mencionan que la procedencia de maderas de zonas subhúmedas no garantiza una mayor resistencia al ataque de agentes biológicos

Así mismo, los estudios mencionados utilizaron extracciones sucesivas con solventes como: etanol: benceno; éter de petróleo, acetona/agua, y metanol/ H₂O; y hexano, acetato de etilo y metanol, con las cuales se llegaron a obtener rendimientos totales de extractivos menores a lo que se obtuvo con la extracción sucesiva de esta investigación, que solo uso etanol y agua.

4.2.2. Variación del contenido total de extractivos de la madera de *T. grandis*

De acuerdo al ANOVA cuyo resumen se presenta en la Tabla 14 con respecto a los dos factores en evaluación, se afirma la presencia de diferencias significativas ($P < 0,05$) del contenido de extractivos totales entre los tipos de leño y niveles de altura del fuste, mas no en la interacción de ambos factores.

Tabla 14: Análisis de varianza (ANOVA) del contenido total de extractivos de la madera de *T. grandis*

Fuente	Gl	Valor P
Efectos principales		
B: Tipo de leño	1	< 0,001*
C: Nivel longitudinal del fuste	2	0,001*
B*C	2	0,871 n.s.
Error	84	
Total	89	

(*) Nivel de significación $P < 0,05$. n.s = no significativo

En la Figura 34 se observa el efecto del factor tipo de leño, donde la cantidad total de sustancias extraíbles revela el incremento de albura a duramen con valores de 9,0 a 12,6 % respectivamente, lo cual está relacionada con el proceso de duraminización. Castro et al. (2004), menciona que a medida que las células parenquimáticas mueren, la albura se convierte en duramen depositando en sus paredes celulares sustancias polifenólicas derivadas del ácido shiquímico, cinámico y caféico, solubles en solventes como el etanol y agua caliente. Sin embargo, la albura no se encuentra libre de extractivos, en ella se puede encontrar azúcares, almidón y algunos compuestos nitrogenados solubles en agua fría y caliente en su mayoría, pero no la dotan de la misma resistencia al deterioro.

En cuanto a la variación por niveles de altura del fuste, la Figura 35 representa los resultados de la prueba comparativa de medias del contenido de extractivos totales. Según esta comparación, el nivel basal presenta la mayor concentración de extractivos totales de 11,8 %, el cual difiere significativamente ($P < 0,05$) con el nivel medio y apical del fuste con valores de 10,4 y 10,1 % respectivamente, entre los cuales no hay diferencias. Este comportamiento coincide con lo registrado por Nalvarte (2013), que asegura que la concentración de sustancias extraíbles disminuye desde la base hacia el ápice del fuste. Sin embargo, difiere con lo obtenido por Abarca y Blanco (2003) en el Laboratorio de Productos Forestales de la Universidad de Costa Rica, donde al caracterizar químicamente muestras de *T. grandis* de 17 años, el contenido de extractivos no muestra el patrón descendente a lo largo del fuste de la base hacia el ápice.

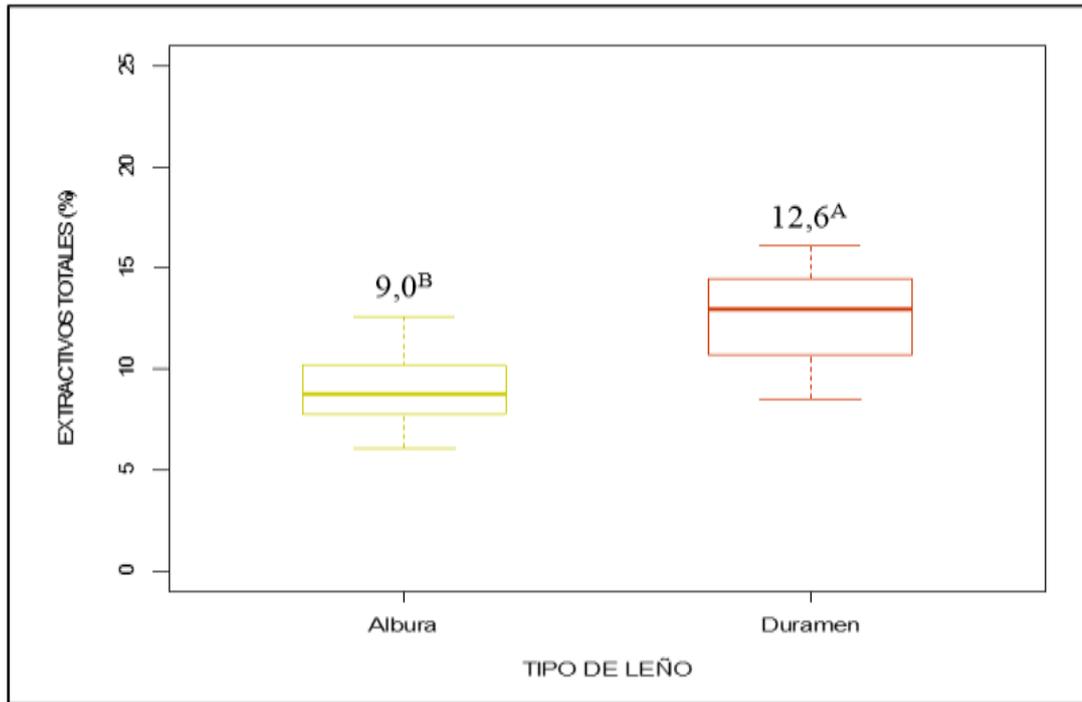


Figura 34: Comparación de medias del contenido de extractivos totales de la madera de *T. grandis* según el tipo de leño.

Las medias seguidas por la misma letra no difieren entre sí al nivel de significación señalado

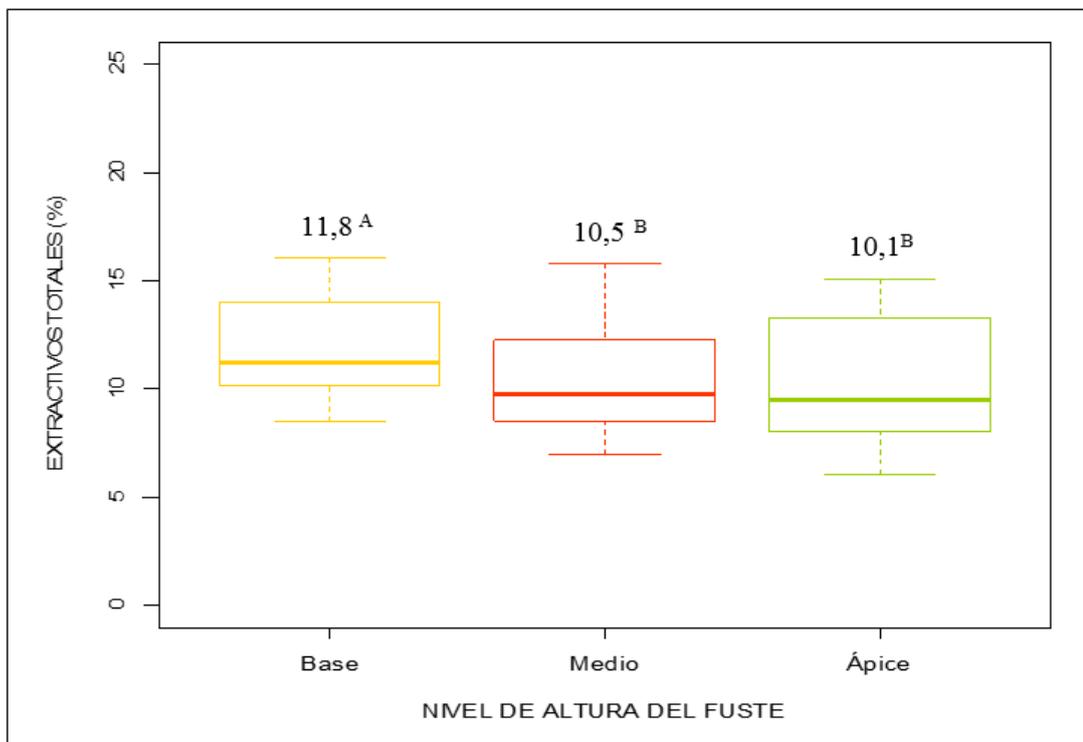


Figura 35: Comparación de medias del contenido de extractivos totales de la madera de *T. grandis* según el nivel longitudinal del fuste - Tukey ($P < 0,05$)

Las medias seguidas por la misma letra no difieren entre sí al nivel de significación señalado

4.3. Análisis fitoquímico de los extractivos de madera de *T. grandis*

4.3.1. Solubilidad de la madera

El grado de solución etanólica donde se concentró la mayor cantidad de sólidos de la madera de *T. grandis* fue variable según el tipo de leño, independientemente del nivel longitudinal de donde se tomó la muestra. De esta forma, como se observa en la Tabla 15 fue necesario un grado etanólico de 70 % en la madera de duramen y de 50 % en la de albura, independientemente del nivel de donde se tomó la muestra. Este resultado estaría relacionado a la variación de los metabolitos secundarios que se encuentren presentes en cada tipo de leño.

Tabla 15: Grado de solubilidad (%) de los extractos de la madera de *T. grandis*

Factor de variación	Duramen	Albura
Base	70	50
Medio	70	50
Ápice	70	50

4.3.2. Tamizaje fitoquímico

En la Tabla 16 se presentan los resultados obtenidos al realizar el análisis fitoquímico preliminar, utilizando los extractos etanólicos de la madera de *T. grandis*. En este análisis se aprecian diferencias en el aspecto de las soluciones al final de cada reacción según el tipo de leño, la cual no se observa según el nivel longitudinal del fuste de donde se tomó la muestra.

Tabla 16: Tamizaje fitoquímico de los extractivos en la madera de *T. grandis*

Ensayos	Duramen			Albura			
	Base	Medio	Ápice	Base	Medio	Ápice	
Azúcares	++	++	++	+++	+++	+++	
Alcaloides	Dragendorff	-	-	-	-	-	
	Wagner	-	-	-	-	-	
	Mayer	-	-	-	-	-	
	Erdman	-	-	-	-	-	
Compuestos Fenólicos	FeCl3	+++	+++	+++	+	+	+
	Gelatina salada	-	-	-	-	-	-
Flavonoides	+++	+++	+++	++	++	++	
Quinonas	+++	+++	+++	+	+	+	
Cumarinas	-	-	-	-	-	-	
Saponinas	++	++	++	+	+	+	

Reacción: (+ + +) muy evidente, (+ +) evidente, (+) poco evidente pero aceptable, (-) negativo

- En la Figura 36 se presentan los resultados del ensayo Fehling para la identificación de azúcares reductores, considerados compuestos con escasa actividad biológica. En esta se observa la formación de un precipitado de color rojo, como muestra evidente de la presencia del compuesto en los extractos de duramen y muy evidente en la albura de *T. grandis*. A nivel longitudinal, no se observó diferencias en el resultado.

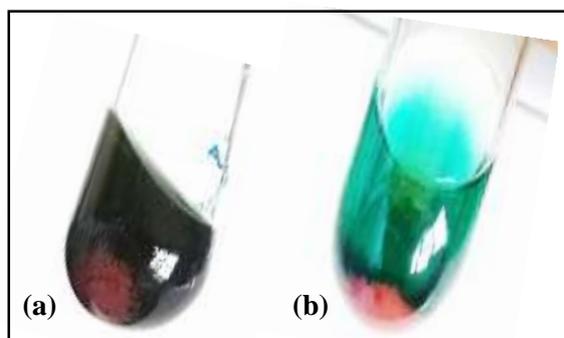


Figura 36: Ensayo de Fehling en las muestras de *T. grandis*
(a) duramen y (b) albura

- Con respecto a los alcaloides, para dar por aceptada la presencia de este grupo de metabolitos en un extracto se debe obtener resultados positivos en por lo menos cuatro pruebas diferentes. En este estudio se realizaron las pruebas de Dragendorff, Wagner, Mayer y Erdman cuyas reacciones resultaron negativas como se aprecia en la Figura 37, tanto para la madera de duramen como albura y en los tres niveles de altura del fuste de donde se tomó la muestra.

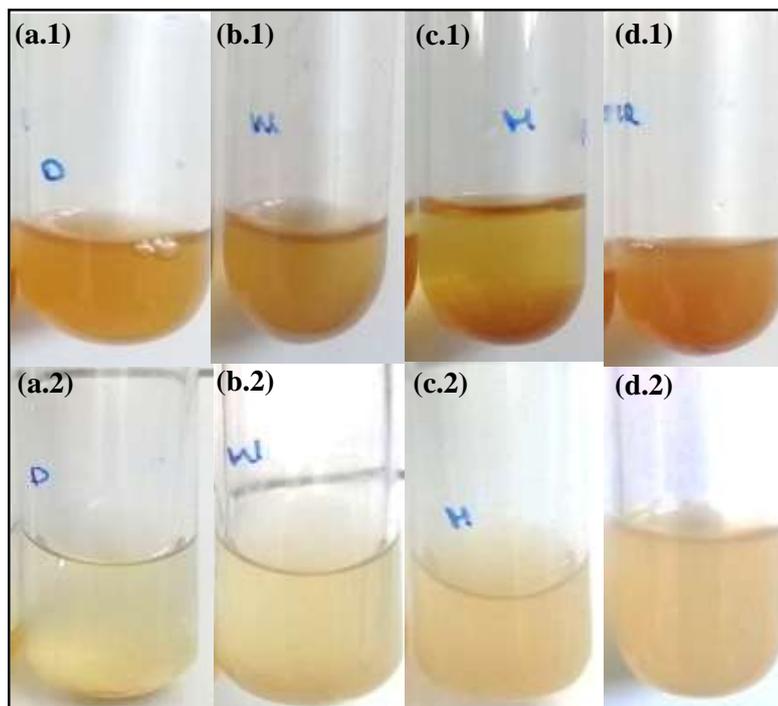


Figura 37: Ensayo de alcaloides en las muestras de *T. grandis*

En la codificación las letras representan al ensayo: (a) Dragendorff, (b) Wagner, (c) Mayer y (d) Erdman, y los números a las muestras de: (1) duramen y (2) albura

- La presencia de compuestos fenólicos en general fue muy evidente en las muestras de duramen, al mostrar una coloración roja vino intensa luego de la aplicación del reactivo tricloruro férrico (FeCl_3) como se observa en la Figura 38. Sin embargo, no se observaron diferencias en el aspecto de las muestras que provenían de los tres niveles de altura del fuste. En el caso de las muestras de albura, la reacción a este ensayo fue poco evidente, ya que al final de la reacción se mostró una coloración naranja para los extractos de los tres niveles.

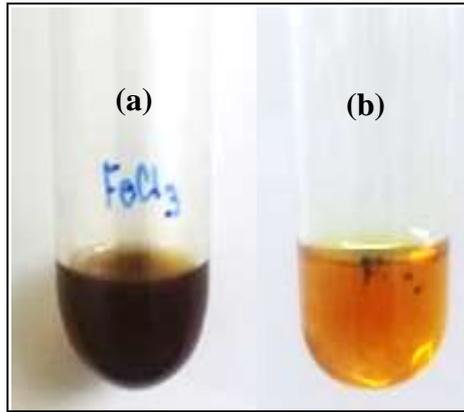


Figura 38: Ensayo de FeCl_3 en las muestras de *T. grandis*
(a) duramen, (b) albura

Si bien es cierto con el ensayo anterior se evidencia la presencia de polifenoles en general en las muestras; la prueba de la gelatina, al no formar precipitado (Figura 39), permite confirmar que dentro de estos no se encuentran los taninos.

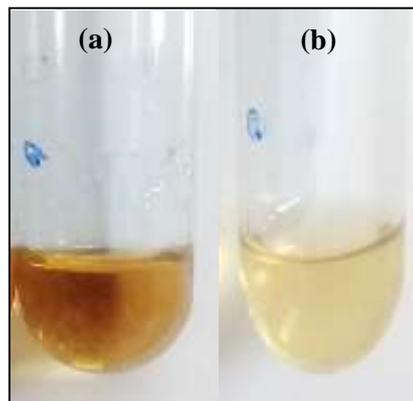


Figura 39: Ensayo de la gelatina en las muestras de *T. grandis*
(a) duramen y (b) albura

- En el ensayo de Shinoda, En la Figura 40 se observa resultados positivos en las muestras de duramen, indicando la presencia de flavonoides, que de acuerdo a la coloración rojiza indica presencia de flavanonas, y flavonas. En el caso de las muestras de albura, la reacción a este ensayo fue evidente ya que al final de la reacción se mostró una coloración amarilla para el extracto de los tres niveles, que indica la presencia de flavonas.

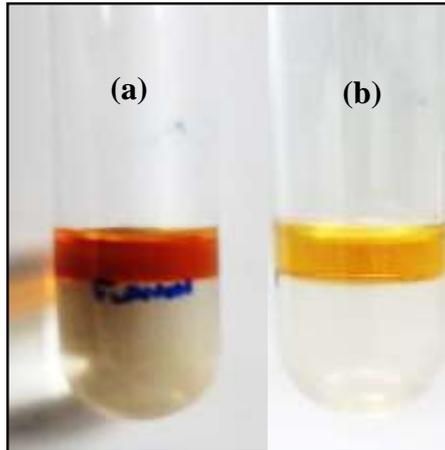


Figura 40: Ensayo de Shinoda en las muestras de *T. grandis*
(a) duramen, (b) albura

- La presencia de quinonas en la madera de duramen fue muy evidente según el ensayo de Bornträger, al observar en la Figura 41, una coloración roja vino en la fase acuosa, la cual fue constante en los diferentes niveles de altura donde se tomó la muestra. En el caso de los extractos de albura, el resultado pasó a ser poco evidente debido a la coloración rosa de las muestras como respuesta al reactivo agregado en los tres niveles de altura evaluados.

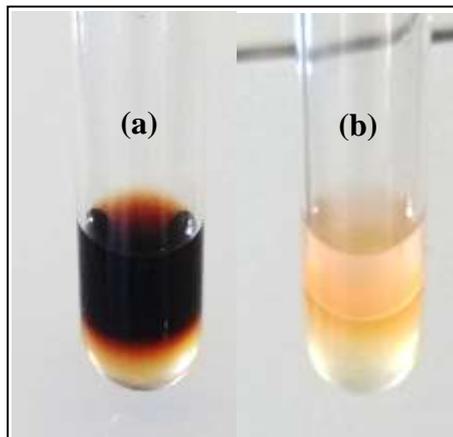


Figura 41: Ensayo de Bornträger en las muestras de *T. grandis*
(a) duramen, (b) albura

- El ensayo de Baljet resultó negativo para las muestras de albura y duramen como se observa en Figura 42, al no observarse la formación de precipitado cuando se agregaron los reactivos correspondientes.

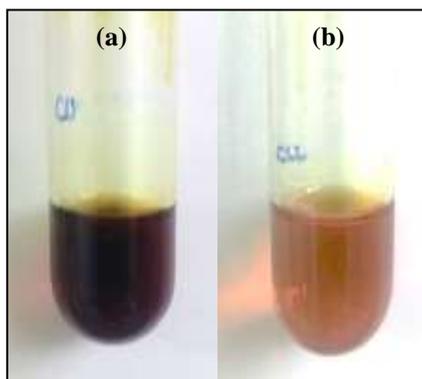


Figura 42: Ensayo de Baljet en las muestras de *T. grandis*
(a) duramen y (b) albura

- La presencia de saponinas fue evidente en los extractos de duramen, al mostrar una espuma persistente de una altura promedio de 2 cm. Pero en el caso de los extractos de albura, el resultado fue poco evidente, con una espuma de menos de 1 cm de altura, como se aprecia en la Figura 43.

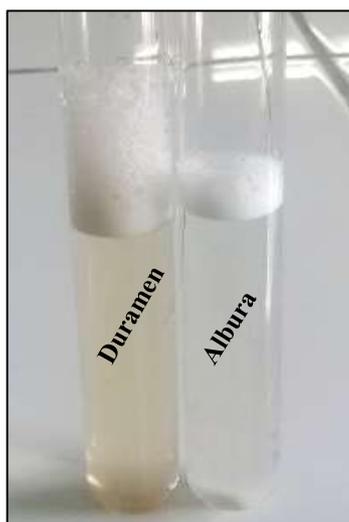


Figura 43: Ensayo de la espuma en las muestras de *T. grandis*
(a) duramen y (b) albura

De los grupos metabólicos identificados en los extractos de la madera de *T. grandis*, los polifenoles, entre ellos flavonoides (flavanonas y flavonas) y quinonas, son los más importantes en este estudio. Según García et al. (2016), López et al. (2011) y Velásquez et al. (2006) estos compuestos son considerados como agentes con buena actividad biológica, relacionada con su carácter antioxidante; como inhibidores de la actividad de enzimas ligninolíticas producidas por hongos de pudrición, y actuar como atrapadores de radicales libres.

En cuanto a las quinonas, estudios como los realizados por Leyva et al. (2017), López et al. (2011), Lukmandaru & Takahashi (2009); Niamké et al. (2014) y Vyas,

Yadav, & Khandelwal (2019), le dan una gran relevancia como los metabolitos responsables de la resistencia de la madera de *T. grandis* al ataque de microorganismos degradadores como los hongos de pudrición.

4.3.3. Identificación de metabolitos secundarios

Luego de realizar el tamizaje fitoquímico de los grupos metabólicos de la madera de *T. grandis*, se procedió a identificar los compuestos activos mediante el sistema HPLC – ESI Q TOF MS/MS.

En la Figura 44 y Figura 45, se presentan los cromatogramas obtenidos de las muestras de duramen y albura respectivamente, tomadas a nivel basal del fuste. Esto debido, a que el perfil del cromatograma se repitió en el resto de muestras de los otros dos niveles de altura evaluados en cada tipo de leño (Anexo 7).

En cada cromatograma se asignó una numeración ascendente a los picos detectados de acuerdo a su tiempo de retención (tR). Según este criterio, en el cromatograma de los extractivos de duramen, se logró detectar 10 picos, mientras que en albura solo 4, los cuales fueron analizados con el fin de identificar los compuestos que representan. El Análisis consistió en comparar los espectros de masa junto a su patrón de fragmentación de iones según *Met Frag Beta*, con la base de datos KEGG.

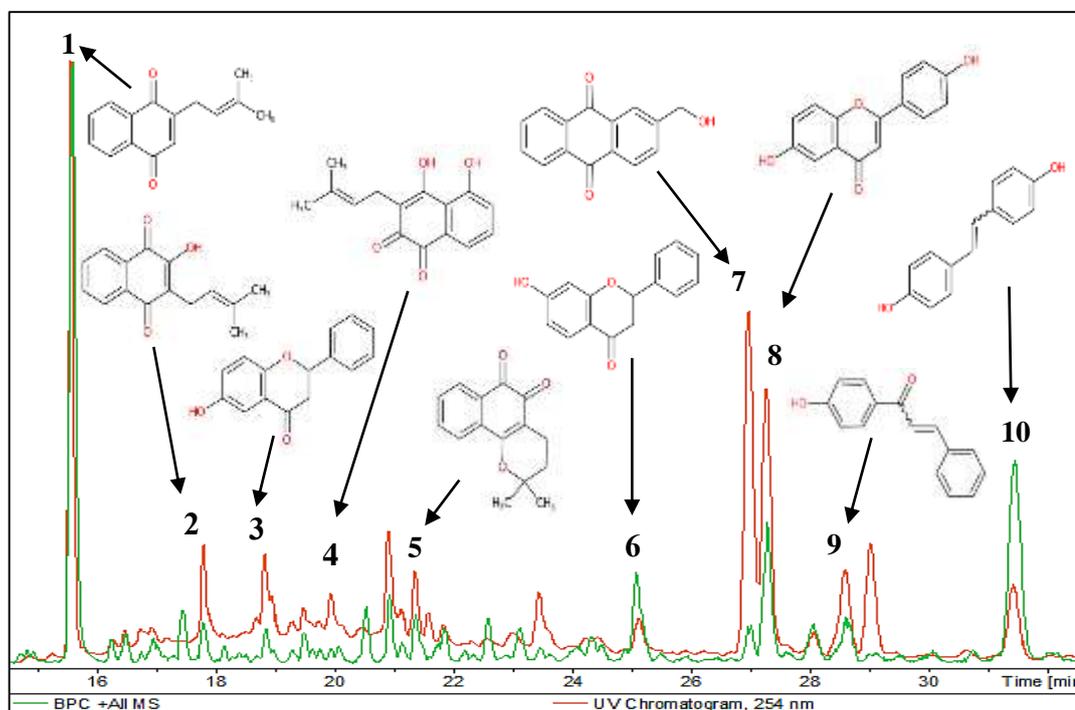


Figura 44: BPC y cromatograma UV-254 nm del extracto de duramen basal de *T. grandis*. (1) Deoxilapachol; (2) Lapachol; (3) 6-Hidroxisflavanona; (4) 5-Hidroxilapachol; (5) beta-Lapachona; (6) 7-Hidroxisflavanona, (7) 2-Hidroxiemetilantraqunona; (8) 4'',6-Dihidroxisflavona; (9) 4''-Hidroxischalcona; (10) 4,4''-Dihidroxiestilbeno

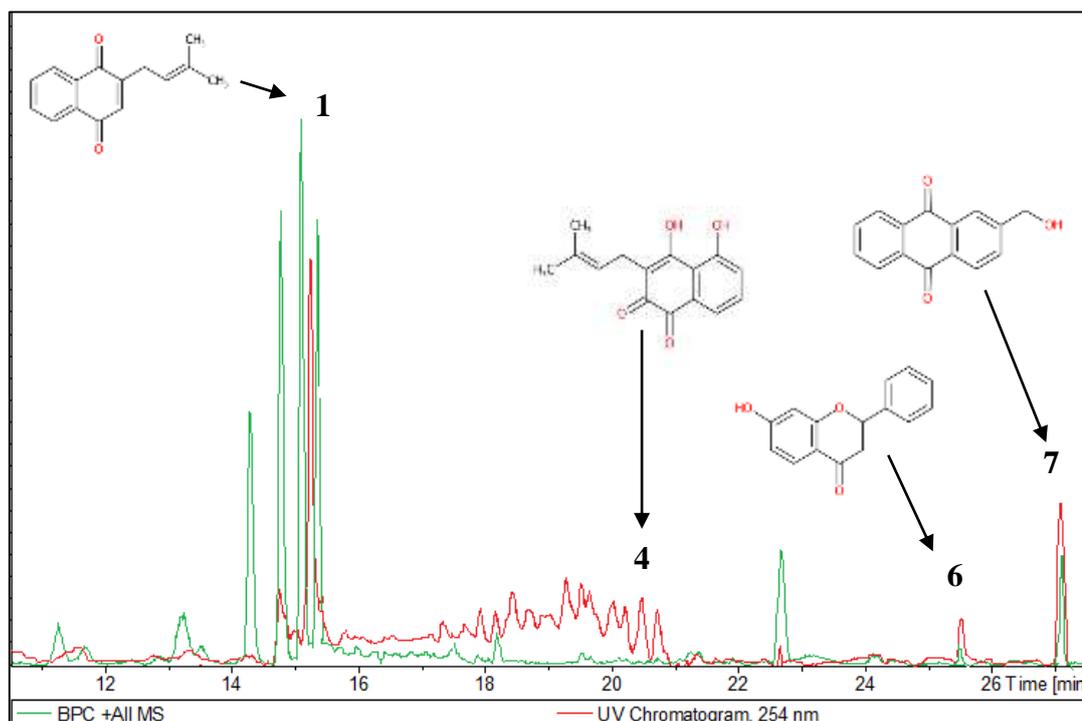


Figura 45: BPC y cromatograma UV-254 nm del extracto de albura basal de *T. grandis*. (1) Deoxilapachol; (4) 5-Hidroxilapachol; (6) 7-Hidroxilflavanona; (7) 2-Hidroximetilanttraquinona

En la Tabla 17 se presenta el resumen de los metabolitos secundarios (MS) identificados en el duramen y albura de la especie evaluada, incluyendo el tiempo de retención, el valor m/z del ion molecular y de los fragmentos compatibles según el *MetFragBeta*. La información completa que valida la identificación de los compuestos se encuentra en el Anexo 8.

Tabla 17: MS identificados por HPLC ESI Q TOF en madera de *T. grandis*

P	tR (min)	m/z [M+H] ⁺	Fragmentos (m/z)	Metabolitos secundarios (MS)
<i>Muestra de duramen</i>				
1	15,6	227,106	89,038; 103,054; 105,033; 157,064; 181,064; 194,072; 209,096	Deoxilapachol (C ₁₅ H ₁₄ O ₂)
2	17,8	243,101	91,054; 105,033; 131,0491	Lapachol (C ₁₅ H ₁₄ O ₃)
3	18,8	241,085	116,062; 133,028	6-Hidroxiflavanona (C ₁₅ H ₁₂ O ₃)
4	20,6	259,095	223,0754; 187,039; 133,0284; 105,0335	5-Hidroxilapachol (C ₁₅ H ₁₄ O ₄)
5	21,4	243,101	89,038; 106,041; 115,054; 128,062; 169,101; 208,088; 210,067	β-Lapachona (C ₁₅ H ₁₄ O ₃)
6	25,1	241,085	91,054; 103,054; 115,054; 119,049; 131,049; 133,028	7-Hidroxiflavanona (C ₁₅ H ₁₂ O ₃)
7	26,9	239,070	105,033; 133,028; 182,072; 193,064	2-Hidroximetiltraquinona (C ₁₅ H ₁₀ O ₃)
8	27,3	255,065	91,054; 103,054; 105,033; 131,049; 133,028; 197,059; 227,070	4",6-Dihidroxiflavona (C ₁₅ H ₁₀ O ₄)
9	28,6	225,090	91,054; 103,054; 113,038; 133,028; 141,069; 155,049	4"-Hidroxichalcona (C ₁₅ H ₁₂ O ₂)
10	31,5	213,091	103,054; 105,033; 115,054; 129,069; 141,069; 165,069; 183,080	4,4"-Dihidroxiestilbeno (C ₁₄ H ₁₂ O ₂)
<i>Muestra de albura</i>				
1	15,7	227,195	89,038; 103,054; 105,033	Deoxilapachol (C ₁₅ H ₁₄ O ₂)
4	20,6	259,095	171,044; 181,085	5-Hidroxilapachol (C ₁₅ H ₁₄ O ₄)
6	25,2	241,085	223,075	7-Hidroxiflavanona (C ₁₅ H ₁₂ O ₃)
7	27,1	239,070	105,033; 133,0284; 182,0726; 193,0648; 209,0597	2-Hidroximetiltraquinona (C ₁₅ H ₁₀ O ₃)

De los compuestos encontrados en los extractos etanólicos de la madera de *T. grandis*, destaca el deoxilapachol, por presentar la señal con mayor intensidad tanto en las muestras de duramen como de albura. Además de este compuesto, se encontraron también otras naftoquinonas como lapachol, 5-Hidroxilapachol y β-Lapachona en el duramen, y solo 5-Hidroxilapachol en la albura. Por otro lado, del grupo de las antraquinonas, solo se logró detectar a 2-Hidroximetiltraquinona tanto en las muestras de duramen como de albura.

Las quinonas identificadas han sido reportadas por Vyas et al. (2019), en una recopilación de estudios realizados sobre la composición química de *T. grandis*, donde el lapachol, metabolito encontrado solo en las muestras de duramen de este estudio, es considerado por ser una naftoquinona con potente actividad antifúngica como lo indican Moreira et al. (2006) y López et al. (2011) en sus respectivas investigaciones.

Sin embargo, lo que llama la atención del estudio es no haber encontrado tectoquinona entre las muestras, sustancia que suele presentarse en árboles de mayor edad que crecen en condiciones favorables. La ausencia de esta sustancia, podría estar relacionada con la mayor pérdida de peso que presenta la madera ante la degradación de los hongos, comparada con maderas en las que sí ha sido encontrada. Afirmación que es respaldada por Moreira et al. (2006), que considera a este compuesto del grupo de las antraquinonas como el principal responsable de la durabilidad natural de *T. grandis*.

Entre los compuestos fenólicos, diferentes a las quinonas, se encontró a 7-Hidroxi-flavanona tanto en el duramen como en la albura, y solo en el duramen a 6-Hidroxi-flavanona; 4",6-Dihidroxi-flavona; 4"-Hidroxi-chalcona y 4,4"-Dihidroxi-estilbeno. Se considera, que estos compuestos también tienen una importante contribución a la resistencia que opone la madera a la degradación.

La composición de los metabolitos difiere según el tipo de leño, detectándose en el duramen la mayor variedad de compuestos. Mientras que, a nivel longitudinal, el perfil del cromatograma se repitió en los tres niveles, variando solo en la intensidad de las señales. Esta última observación representaría una variación en la proporción que hay de cada compuesto en el extracto, mas no en el tipo de compuesto que se pueda encontrar.

4.3.4. Cuantificación de polifenoles totales

Como resultado de la recta de calibración presentada en el Anexo 9, se obtuvo la Ecuación (6), con la cual se calcularon los valores de mg EAG/g para cada muestra compuesta evaluada.

$$y = 0,0076 x + 0,0751 \quad (6)$$

En la Tabla 18 se presentan los valores medios de polifenoles obtenidos con el método Folin-Ciocalteu en extractos etanólicos de la madera de *T. grandis*. Los

resultados están expresados en mg EAG/g de peso seco de muestras de madera utilizada en la extracción, según tipo de leño y nivel de altura del fuste de donde se tomó la muestra.

Tabla 18: Contenido de polifenoles totales (mg EAG/g)

Factor de variación	Duramen	Albura
Base	5,7 (3,5)	3,1 (2,2)
Medio	5,6 (1,1)	2,6 (4,9)
Ápice	5,3 (3,8)	2,2 (3,6)
Promedio	5,5	2,6

El coeficiente de variación se muestra entre paréntesis

Según el resultado llevado a porcentaje con respecto al peso seco de la muestra utilizada en la extracción (1 g), el contenido total de polifenoles en extractos etanólicos de la madera de *T. grandis*, en promedio fue de 0,55 % en el duramen y de 0,26 % en la albura. Valores menores a lo registrado por Qiu et al. (2019) en la madera de una plantación en China, con valores de duramen 0,71 % y en albura 0,33 %.

En cuanto a la variación de esta propiedad, el resumen del ANOVA que se presenta en la Tabla 19 reveló resultados significativos ($P < 0,05$) con respecto al tipo de leño, nivel de altura del fuste y la interacción de ambos factores.

Tabla 19: Análisis de varianza (ANOVA) del contenido de polifenoles totales

Fuente	Gl	Valor P
Efectos principales		
B: Tipo de leño	1	< 0,001*
C: Nivel de altura del fuste	2	< 0,001*
B*C	2	0,023*
Error	12	
Total	17	

(*) Nivel de significación $P < 0,05$

Al encontrarse diferencia significativa en la interacción de ambos factores, el efecto se representa en la Figura 46 y Figura 47 para el tipo de leño y nivel de altura

respectivamente. Las representaciones son respaldadas por el ANOVA de los efectos simples que se presenta en el Anexo 13 junto con el ANOVA general de la variable.

Con respecto a la variación por tipo de leño, en la Figura 46 se observa que el duramen de *T. grandis* presentó un mayor contenido de polifenoles (5,3 - 5,7 mg EAG/g) con respecto a la albura (2,2 - 3,1 mg EAG/g), en los tres niveles de altura del fuste de donde se tomó la muestra. Resultado que concuerda con lo reportado por Qiu et al. (2019) en madera de *T. grandis* procedente de plantaciones de la India.

En cuanto a la evaluación del contenido de polifenoles según el nivel de altura del fuste, en la Figura 47 se observa que los extractos etanólicos de la madera de duramen no presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) entre el nivel basal, medio y apical del fuste con valores de 5,7; 5,6; 5,4 mg EAG/g respectivamente. Sin embargo, en los extractos de la madera de albura si se evidenció una diferencia significativa entre los tres niveles, siendo el nivel basal el que mayor contenido de polifenoles presentó (3,1 mg EAG/g), con respecto a los otros dos niveles.

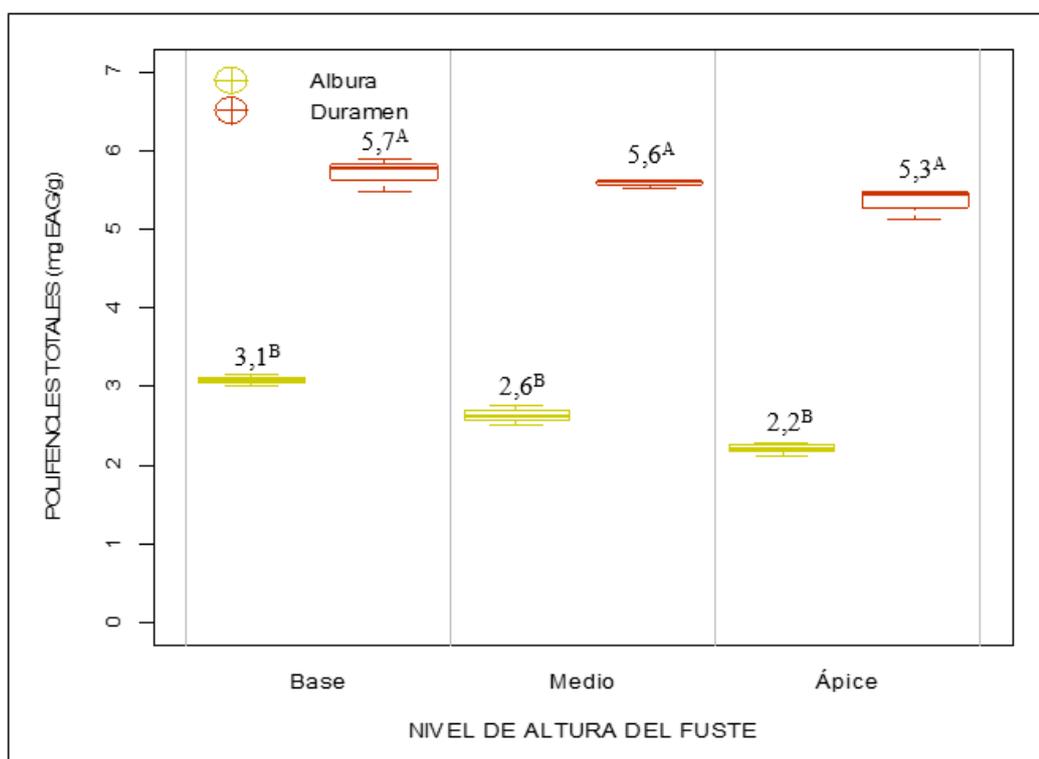


Figura 46: Comparación de medias del contenido de polifenoles (mg EAG/g) según el efecto de los tipos de leño para cada nivel de altura del fuste. Las medias seguidas por la misma letra no difieren entre sí al nivel de significación señalado

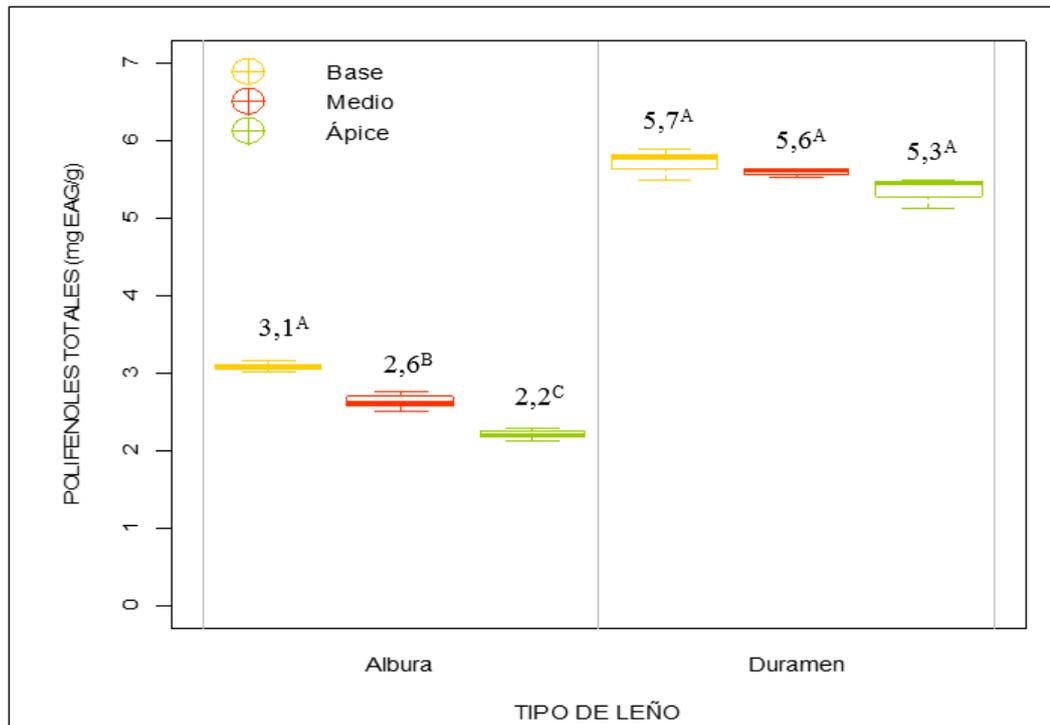


Figura 47: Comparación de medias del contenido de polifenoles (mg EAG/g) según el efecto de los niveles de altura del fuste para cada tipo de leño – Tukey ($P < 0,05$).

Las medias seguidas por la misma letra no difieren entre sí al nivel de significación señalado

4.3.5. Determinación de la capacidad antioxidante

Como resultado de la recta de calibración presentada en el Anexo 10, se obtuvo la Ecuación (7), con la cual se calcularon los valores de mmol TE/g para cada muestra compuesta evaluada.

$$y = 30,152x + 242,15 \quad (7)$$

En la Tabla 20 se presentan los resultados del ensayo ORAC, propuesto para el análisis de la capacidad antioxidante de los extractos etanólicos de la madera de *T. grandis*, expresado en mmol TE/g de peso seco de la madera utilizada en la extracción, según el tipo de leño y nivel de altura del fuste de donde se tomó la muestra.

Tabla 20: Capacidad antioxidante ORAC (mmol TE/g)

Factor de variación	Duramen	Albura
Base	5,3 (3,1)	4,2 (5,7)
Medio	5,2 (1,2)	3,2 (4,3)
Ápice	4,8 (6,6)	2,5 (7,2)
Promedio	5,1	3,3

El coeficiente de variación se muestra entre paréntesis

A diferencia de lo realizado por Ghaisas et al. (2008) y Krishna & Nair (2010) que usaron los métodos ABTS y DPPH respectivamente para determinar la capacidad antioxidante de los extractos de madera de *T. grandis*; en esta investigación se utilizó el ensayo ORAC. Método que, a diferencia de los otros mencionados, usa como fuente de radicales libres al AAPH, considerado por tener una relevante importancia biológica, y que en este caso simula la acción de las enzimas ligninolíticas producidas por los hongos de pudrición blanca. Por esta razón, debido a que los métodos son diferentes no se puede establecer una comparación entre los resultados obtenidos con el presente estudio. Sin embargo, es importante resaltar que ambas investigaciones registran una alta capacidad antioxidante para los extractivos de madera de *T. grandis*.

Con relación a la última afirmación, al comparar los resultados de capacidad antioxidante en la madera de *T. grandis*, estos son mayor a lo encontrado por Alañón et al. (2011) en extractos de madera utilizada en tonelería como *Quercus alba* y *Q. robur*. cuyos valores según el método ORAC son de 0,4 a 1,0 mmol TE/g, mientras que en los extractos de duramen *T. grandis* es 5,1 mmol TE/g y en la albura de 3,3 mmol TE/g. Lo que confirma lo mencionado por Ghaisas et al. (2008) y Krishna & Nair (2010).

En cuanto a la variación de esta propiedad, el resumen del ANOVA que se presenta en la Tabla 21 reveló resultados significativos ($P < 0,05$) con respecto al tipo de leño, nivel de altura del fuste y la interacción de ambos factores.

Tabla 21: Análisis de varianza (ANOVA) de la capacidad antioxidante

Fuente	G1	Valor P
Efectos principales		
B: Tipo de leño	1	< 0,001*
C: Nivel de altura del fuste	2	< 0,001*
B*C	2	< 0,001*
Error	12	
Total	17	

(*) Nivel de significación $P < 0,05$

Al encontrarse diferencia significativa en la interacción de ambos factores, el efecto se representa en la Figura 48 y Figura 49 para el tipo de leño y nivel de altura respectivamente. Representaciones que son respaldadas por el ANOVA de los efectos simples que se presenta también en el Anexo 14.

Con respecto al tipo de leño, en la Figura 48 se observa que los extractos etanólicos de duramen de *T. grandis* presentaron mayor capacidad antioxidante, expresada entre 4,8 y 5,3 mmol TE/g en los tres niveles de altura del fuste estudiados. Mientras la albura solo alcanzó valores de entre 2,5 y 4,2 mmol TE/g.

En cuanto a la evaluación de la capacidad antioxidante según el nivel de altura del fuste, se observa en la Figura 49 que los extractos etanólicos de la madera de duramen no presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) entre el nivel base y medio, pero sí entre estos y el ápice, el cual tuvo la menor capacidad antioxidante expresada en 4,8 mmol TE/g. Mientras que en el caso de los extractos de la madera de albura, la diferencia significativa se vio presente entre los tres niveles del fuste, disminuyendo desde la base hacia el ápice.

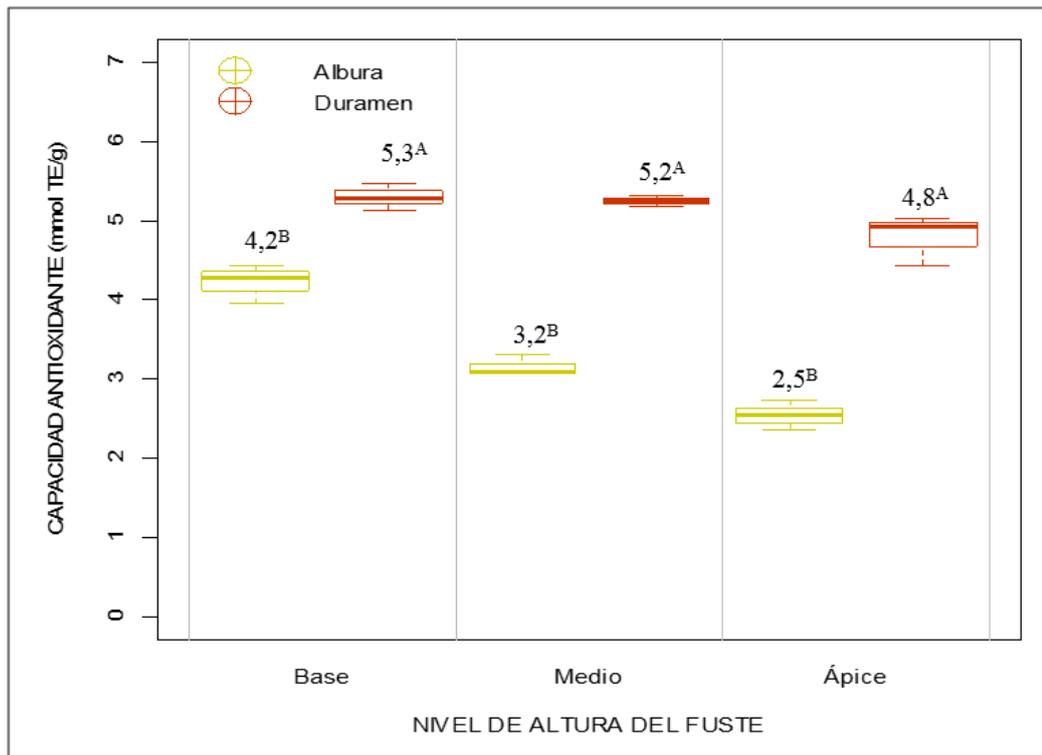


Figura 48: Comparación de medias de la capacidad antioxidante (mmol TE/g) según el efecto de los tipos de leño para cada nivel de altura del fuste. Las medias seguidas por la misma letra no difieren entre sí al nivel de significación señalado.

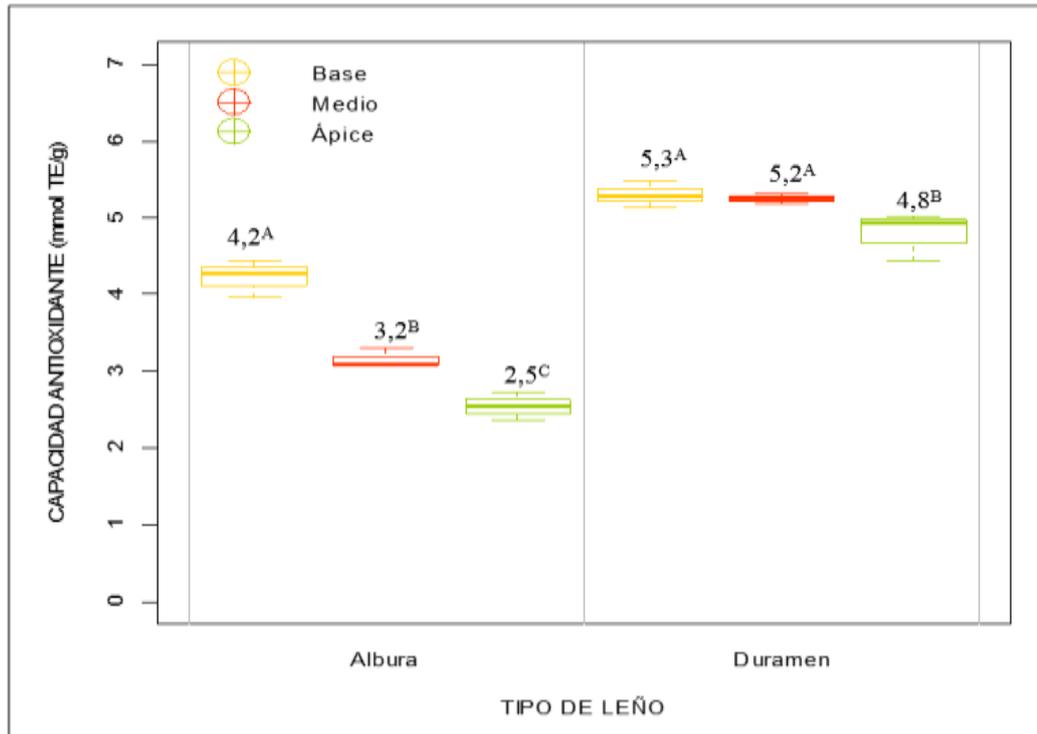


Figura 49: Comparación de medias de la capacidad antioxidante (mmol TE/g) según el efecto de los niveles de altura del fuste para cada tipo de leño - Tukey ($P < 0,05$). Las medias seguidas por la misma letra no difieren entre sí al nivel de significación señalado.

4.4. Relación entre la durabilidad natural de madera de *T. grandis* y las propiedades fitoquímicas de sus extractivos

En la Figura 50 se presenta la matriz de correlación de Pearson entre las variables: contenido de extractivos totales, polifenoles y capacidad antioxidante de la madera de *T. grandis*, y la pérdida de peso de esta por la acción de hongos de pudrición blanca, cuyos datos son respaldados por el análisis del Anexo 15.

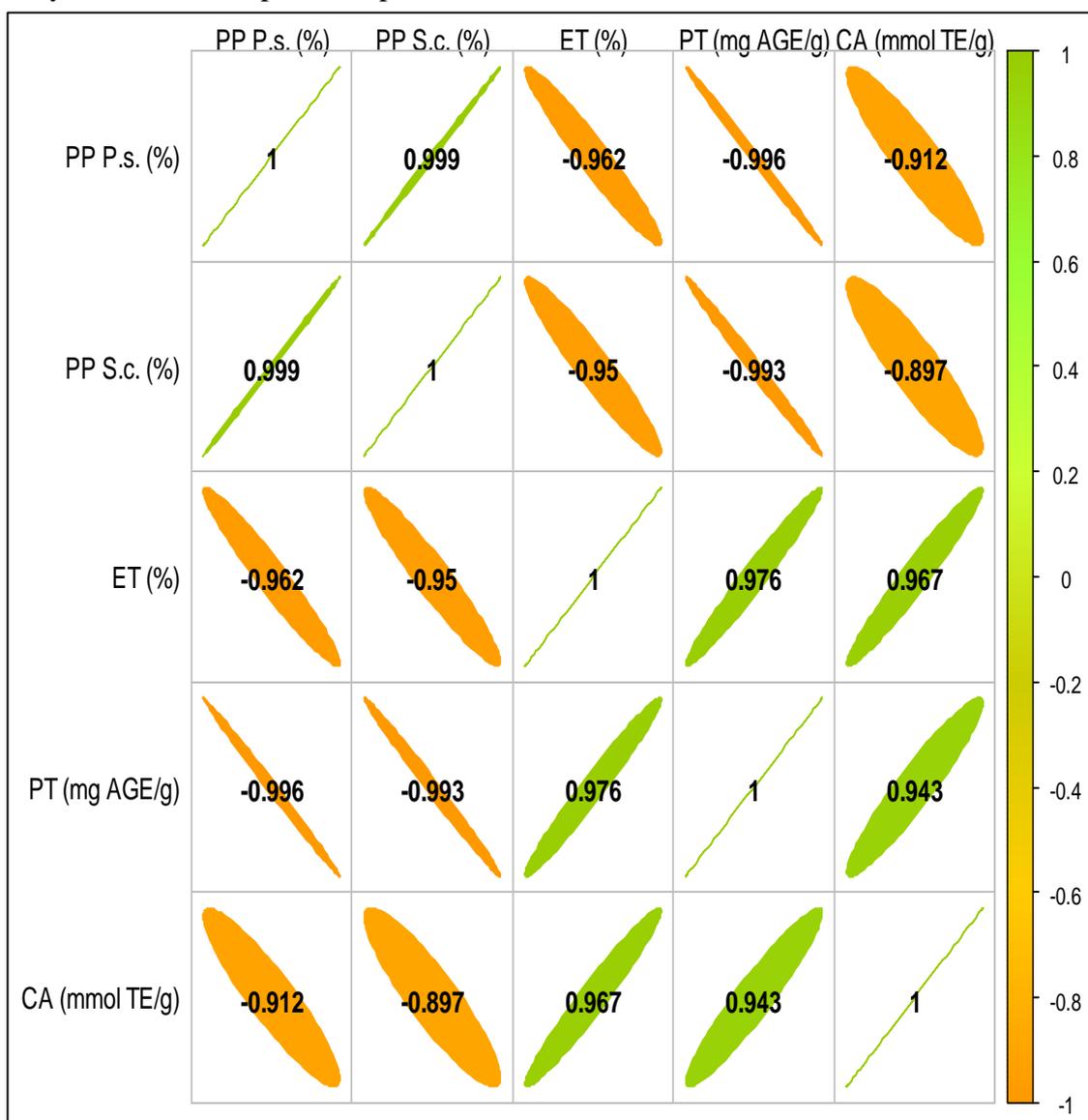


Figura 50: Matriz de correlación de Pearson ($P < 0,05$) entre la pérdida de peso y propiedades fitoquímicas de los extractivos de la madera de *T. grandis*.

PP P.s.: Pérdida de peso con *P. sanguineus* (%); **PP S.c.:** Pérdida de peso con *S. commune* (%); **ET:** Extractivos totales (%), **PT:** Polifenoles (mg AGE/g) y **CA:** Capacidad antioxidante ($\mu\text{mol TE/g}$).

En la matriz se observa que la cantidad de extractivos totales, el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante de la madera de *T. grandis*, guarda una relación inversamente proporcional a la pérdida de peso generada por los hongos de pudrición. Así mismo, existen correlaciones mucho más altas entre estas propiedades fitoquímicas de los extractos y la pérdida de peso ocasionada por *P. sanguineus*, considerado el hongo de mayor agresividad.

Si bien la cantidad de extractivos totales resulta un buen indicador de durabilidad natural en la madera de *T. grandis* con coeficientes de -0,950 y -0,962, como lo indican Kirker et al. (2013) y Ramos et al. (2016); el contenido y posiblemente el sinergismo de polifenoles (quinonas y flavonoides), lo son aún mejor con coeficientes de -0,993 a -0,996 muy cercanos a la unidad. Este último resultado coincide con lo indicado por Niamké et al. (2011) que presentan un coeficiente de correlación negativa también alta, que indica que la pérdida de peso disminuye con el aumento del contenido fenólico.

De igual forma, se encontró una alta correlación positiva entre el contenido de polifenoles y la capacidad antioxidante evaluada por ORAC, con un coeficiente de 0,943. Esta correlación respalda la sugerencia de que los polifenoles son los principales responsables de la capacidad antioxidante de los extractos, que pueden inhibir la actividad de enzimas ligninolíticas generadas por los hongos de pudrición blanca y actuar como atrapadores de radicales libres. Resultados como los indicados contribuyen a afirmar que la presencia de sustancias con alta capacidad antioxidante en la madera de *T. grandis* puede potenciar su capacidad de resistencia al ataque de agentes biológicos como los hongos de pudrición.

De esta forma, las características fitoquímicas de los extractivos obtenidos con etanol de la madera de *T. grandis*, sobre todo del duramen, permiten calificarlos como una potente alternativa para ser utilizados como biopreservantes de aquellas maderas que tienden a ser afectadas por la degradación de hongos con mayor facilidad. Resultado que respalda la investigación de Brocco et al. (2017), que utilizó los extractos etanólicos de madera de *T. grandis* como alternativa a los conservantes convencionales de madera con ganancias significativas de resistencia contra la pudrición marrón y blanca al tratar maderas con esos extractos.

V. CONCLUSIONES

1. La madera de *T. grandis* de Chanchamayo, se clasifica según su durabilidad como resistente en el duramen y moderadamente resistente en la albura, con pérdidas de peso que incrementan desde la base al ápice del fuste.
2. El mayor contenido de extractivos totales se encuentra en la zona basal del fuste, predominando los solubles en etanol (96 %).
3. La composición de metabolitos secundarios es uniforme a lo largo del fuste, con mayor variedad en el duramen frente a la albura.
4. El contenido de polifenoles y la capacidad antioxidante de la madera de *T. grandis* presenta una distribución uniforme a lo largo del fuste en el duramen, mientras que en la albura presenta un descenso significativo de la base al ápice del fuste.
5. El contenido de extractivos totales, polifenoles y la capacidad antioxidante de la madera de *T. grandis* presentan una relación directamente proporcional con su durabilidad natural.
6. El contenido de polifenoles es el mejor indicador fitoquímico de la durabilidad natural de la madera *T. grandis*.

VI. RECOMENDACIONES

1. Evaluar la resistencia de la madera de *T. grandis* al ataque de insectos xilófagos, cuyo comportamiento de degradación es diferente al de los hongos de pudrición.
2. Realizar estudios sobre las propiedades anatómicas y mecánicas para determinar los usos potenciales de la madera que crece en el país, considerando las limitaciones encontradas al ataque de hongos de pudrición.
3. Determinar el potencial de los extractivos de la madera de *T. grandis* considerando sus propiedades fitoquímicas, como probable componente de biopreservantes de maderas de baja resistencia e inclusive como alimentos por su alta capacidad antioxidante.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- Abarca, R. & Blanco, L. (2003). Composición química de *Tectona grandis*. Laboratorio de Productos Forestales, Universidad de Costa Rica
- Alañón, M., Castro-vázquez, L., Díaz-maroto, M., Hermosín-gutiérrez, I., & Gordon, M. (2011). Antioxidant capacity and phenolic composition of different woods used in cooperage, *I29*, 1584–1590. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.06.013>
- Aspé, E., & Fernández, K. (2011). The effect of different extraction techniques on extraction yield, total phenolic, and anti-radical capacity of extracts from *Pinus radiata* Bark. *Industrial Crops and Products*, 34(1), 838–844. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.02.002>
- ASTM. (2005). *D 2017-05_Accelerated Laboratory Test Of Natural Decay Resistance Of Woods.pdf*.
- Avalos, A. (2012). *Proyecto: “Utilización Industrial y Mercado de Diez especies maderables potenciales de Bosques Secundarios y Primarios Residuales” Diversificación de productos y estudio de prototipos de valor*. Lima, Perú.
- Ávalos, A., & Pérez, E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. *REDUCA (Biología)*, 2(3), 119–145.
- Azmir, J.; Zaidul, I.S.M.; Rahman, M.M.; Sharif, K.M.; Mohamed, A.; Sahena, F.; Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: a review. *Journal of Food Engineering* 117(4):426-436.
- Bautista, N., & Sánchez, P. (2011). *Cultivo del hongo Pycnoporus sanguineus (L:Fr) Murr. para evaluar la actividad Leishmanicida en promastigotes de Leishmania (Tesis de pregrado)*. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Cuzco, Perú.
- Berrocal, A., & Rojas, L. (2007). Resistencia de la madera de teca (*Tectona grandis* L.f.) proveniente de plantaciones forestales ante el ataque de termitas de madera seca *Cryptotermes brevis* (Walker). *Revista Forestal Mesoamericana Kurú*, 4(10), 1–15.
- Bhargava S, Jain S, Suri A, Singh P. (1991). Further studies on anthraquinone derivatives from *Tectona grandis*. *J Indian Chem Soc.* 68:631–632.
- Bhat, K. M., Thulasidas, P. K., Florence, E. J., & Jayaraman, K. (2005). Wood durability of

- home-garden teak against brown-rot and white-rot fungi. *Trees - Structure and Function*, 19(6), 654–660. <https://doi.org/10.1007/s00468-005-0429-0>
- Blanco, J., Fernando, P., Tarcisio, J., Gherardi, P. R., & Moreira, J. R. (2014). Characterization of young wood *Tectona grandis* L. F. planted in Brazil. *Madera y Bosques*, 20(1), 11–20. <https://doi.org/10.21829/myb.2014.201172>
- Bobadilla, E. A., Pereyra, O., Silva, F., & Stehr, A. M. (2005). Durabilidad natural de la madera de dos especies aptas para la industria de la construcción. *FLORESTA*, 35(3), 419–428.
- Brocco, V. F., Paes, J. B., Costa, L. G. da, Brazolin, S., & Arantes, M. D. C. (2017). Potential of teak heartwood extracts as a natural wood preservative. *Journal of Cleaner Production*, 142, 2093–2099. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.11.074>
- Burnett AR, Thomson RH. (1968). Naturally occurring quinones part XV biogenesis of the anthraquinones in *Rubia tinctorum* (madder). *J Chem Soc.* 17:2433–2441.
- Camino, R. (2013). *Las plantaciones de teca en América Latina: Mitos y realidades*. Turrialba, Costa Rica.
- Castro, J. de, Caballeira, A. G., & Silva, J. T. da. (2004). Influência da idade na resistência natural da madeira de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex. Maiden ao ataque de cupim de madeira seca (*Cryptotermes brevis*). *Revista Árvore*, 28(4), 583–587.
- Chavesta, M. & Condori, C. (2005). Maderas peruanas y exóticas, características tecnológicas y usos de 10 especies forestales, 66 p.
- Claros, J., Baltazar, H., Trujillo, F., & Araujo, M. (2017). Durabilidad natural de la madera de *Pinus oocarpa* y *Pinus tecunumanii*, proveniente de plantaciones forestales en San Alberto, Oxapampa. *Revista Forestal del Perú*, 32(2), 70–77. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.21704/rfp.v32i2.1038>
- Feitosa, S. (2013). *Propriedades da madeira de Tectona grandis (L. f.), visando a sua utilização para peças preservadas (Tesis de maestría)*. Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, Brasil.
- Ferreira, F. (2006). *Degradação de madeiras por Fungos: Aspectos biotecnológicos e de biorremediação (Tesis de pregrado)*. Universidad Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil.

- FONAFIFO. (2003). Manual para productores de Teca (*Tectona grandis* L. f) en Costa Rica, 117.
- García, E., Fernández, I., & Fuentes, A. (2016). *Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu*.
- Ghaisas, M., Navghare, V., Takawale, A., Zope, V., & Deshpande, A. (2008). In vitro antioxidant activity of *Tectona grandis* Linn. *Pharmacologyonline*, 3, 296–305.
- Giacomotti, J. (2016). *Evaluación de la dinamica forestal en área de bosque secundario tardío en el fundo Génova, Chanchamayo (Tesis de pregrado)*. Universidad Nacional Agraria la Molina.
- González, V.R. (1970). Durabilidad natural de 53 especies Forestales de Yurimaguas. *Revista Forestal del Perú*. 4(1-2):75-89
- Gorena, T., Saez, V., Mardones, C., Vergara, C., Winterhalter, P., & Von Baer, D. (2014). Influence of post-pruning storage on stilbenoid levels in *Vitis vinifera* L. canes. *Food Chemistry*, 155, 256–263. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.01.073>
- Grassmann, A., Santini, E. J., Kulczynski, S., & Trevisan, R. (2017). Antifungal activity of the black wattle natural extract in relation to *Pycnoporus sanguineus*. *Scientia Forestalis*, 45(11), 383–391.
- Guevara, L., & Lluncor, D. (1993). Durabilidad natural y adquirida de 27 maderas tropicales de campo. *Folia a*, 5, 203–215.
- Gupta KP, Singh P. (2004). A naphthoquinone derivative from *Tectona grandis* Linn. *J Asian Nat Prod Res*. 6:233–240.
- Hallasi, A., Duran, D., & Aguilar, E. (2019). *Informe final del proyecto: “Evaluación de una plantación de Teca (*Tectona grandis*) del Fundo Génova en Chanchamayo, Junín con fines de manejo y conservación”*. UNALM. Lima, Perú.
- Inostroza, J. P., Troncoso, J., Mardones, C., & Vergara, C. (2018). Lignans in olive stones discarded from the oil industry. Comparison of three extraction methods followed by HPLC-DAD-MS/MS and antioxidant capacity determination. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 63(2), 4001–4005.
- Khan, R. M., & Mlungwana, S. M. (1998). 5-Hydroxylapachol: A cytotoxic agent from

- Tectona grandis*. *Phytochemistry*, 50(3), 439–442. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(98\)00478-6](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(98)00478-6)
- Kirker, G. T., Blodgett, A. B., Arango, R. A., Lebow, P. K., & Clausen, C. A. (2013). The role of extractives in naturally durable wood species. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 82, 53–58. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.03.007>
- Kollert, W., & Cherubini, L. (2012). *Teak resources and market assessment 2010*. FAO *Planted Forests and Trees Working Paper*. Roma.
- Kopa TK, Tchinda AT, Tala MF, Zofou D, Jumbam R, Wabo HK, Titanji VPK, Frédéric M, Hua TN, Pierre T. (2014). Antiplasmodial anthraquinones and hemisynthetic derivatives from the leaves of *Tectona grandis* (Verbenaceae). *Phytochem Lett.* 8:41–45.
- Krishna, M., & Nair, J. (2010). Antibacterial , Cytotoxic and Antioxidant Potential of Different Extracts from Leaf , Bark and Wood of *Tectona grandis*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*, 2(2), 155–158.
- Leyva, E., Loredó-Carrillo, S. E., López, L. I., Escobedo-Avellana, E. ., & G., N.-T. (2017). Importancia química y biológica de naftoquinonas . Revisión bibliográfica. *Afinidad*, 74(6), 36–50. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- López, L. I., Leyva, E., & García, R. (2011). Las naftoquinonas: Más que pigmentos naturales. *Revista Mexicana de Ciencias Farmaceuticas*, 42(1), 6–17.
- López - Casamayor, E. (2007). Estudio fitoquímico y aproximación genética en especies de la sección PLINTHINE del Género *Arenaria* (*Caryophyllaceae*) (Tesis de doctorado). Universidad de Granada, Granada, España.
- Lourenço, A., Neiva, D. M., Gominho, J., Marques, A. V., & Pereira, H. (2015). Characterization of lignin in heartwood, sapwood and bark from *Tectona grandis* using Py–GC–MS/FID. *Wood Science and Technology*, 49(1), 159–175. <https://doi.org/10.1007/s00226-014-0684-6>
- Lukmandaru, G., & Takahashi, K. (2009). Radial distribution of quinones in plantation teak (*Tectona grandis* L.f.) Distribution radiale des quinones dans du teak de plantation (*Tectona grandis* L.f.). *Annals of Forest Science*, 66(6), 605–605. <https://doi.org/10.1051/forest/2009051>

- Luque, C. (2009). *Determinación preliminar de metabolitos en hojas y corteza de Camu camu (Myrciaria dubia (H.B.K.) Mc Vaugh) en tres etapas fenológicas (tesis de pregrado)*. Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.
- Martín, C., & Ballesteros, M. (2010). Espectrometría de masas y análisis de biomarcadores (pp. 113–168). Madrid, España.
- Mesa, A., Rincon, D., Toro, J., Tamayo, A., Blair, S., & Rojano, B. (2011). Actividad antioxidante de *Piper piedecuestanum* Trel. & Yunck y *Piper subpedale* Trel. & Yunck. *Rev. Latinoamericana de Química*, 39(3), 91–99.
- Mora, N. & Encinas O. (2001). Evaluación de la durabilidad natural e inducida de *Pterocarpus acapulcensis*, *Tabebuia serratifolia* y *Pinus caribaea*, en condiciones de laboratorio. *Revista Forestal Venezolana* 45(1), 23-31.
- Moreira, R. Y. O., Arruda, M. S. P., Arruda, A. C., Santos, L. S., Müller, A. H., Guilhon, G. M. S. P., ... Terezo, E. (2006). Antraquinonas e naftoquinonas do caule de um espécime de reflorestamento de *Tectona grandis* (Verbenaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 16(3), 392–396. <https://doi.org/10.1590/s0102-695x2006000300017>
- Moya, R., Berrocal, A., Serrano, J. R., & Fo, M. T. (2009). Variación radial de la anatomía, densidad y durabilidad de la madera de teca (*Tectona grandis*) procedente de dos calidades de sitio y dos regiones climáticas de Costa Rica. *Investigación Agraria: Sistemas y Recursos Forestales*, 18(2), 119–131.
- Nalvarte, J. (2013). *Estudio de la composición química de la madera de diez especies maderables potenciales de bosques secundarios y primarios residuales* (Vol. 2). Lima, Perú.
- Niamké, F. B., Amusant, N., Charpentier, J. P., Chaix, G., Baissac, Y., Boutahar, N., ... Jay-Allemand, C. (2011). Relationships between biochemical attributes (non-structural carbohydrates and phenolics) and natural durability against fungi in dry teak wood (*Tectona grandis* L. f.). *Annals of Forest Science*, 68(1), 201–211. <https://doi.org/10.1007/s13595-011-0021-2>
- Niamké, F. B., Amusant, N., Kadio, A. A., Thevenon, M. F., Nourissier, S., Adima, A. A., ... Chaix, G. (2014). Rapid prediction of phenolic compounds as chemical markers for the natural durability of teak (*Tectona grandis* Linn f.) heartwood by near infrared spectroscopy. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 22(1), 35–43.

<https://doi.org/10.1255/jnirs.1091>

- Niamké, F. B., Amusant, N., Stien, D., Chaix, G., Lozano, Y., Kadio, A. A., ... Jay-Allemand, C. (2012). 4',5'-Dihydroxy-epiisocatalponol, a new naphthoquinone from *Tectona grandis* L. f. heartwood, and fungicidal activity. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 74, 93–98. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2012.03.010>
- OMS (Organización Mundial de la Salud). (1998). Quality control methods for medicinal plant materials. CH. 122.
- Palanisamy, K., Hegde, M., & Yi, J.-S. (2009). Teak (*Tectona grandis* Linn. f.): A Renowned Commercial Timber Species. *Journal of Forest and Environmental Science*, 25(1), 1–24.
- Pandey, D., & Brown, C. (2000). La teca: una visión global. *Unasylva*, 51, 3–13. [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(77\)90200-2](https://doi.org/10.1016/0014-4827(77)90200-2)
- Papinutti, L. (2013). *Pycnopus sanguineus*. Ficha de identificación. *Revista Boletín Biológica*, 7(29), 32–33. <https://doi.org/10.3390/moleculas19068276>
- Paúcar, P. (2015). *Determinación de la composición química a nivel básico de la corteza y madera de Septotheca tessmannii (utucuro) procedente de la CCNN Callería y CCNN Puerto Belén en tres niveles longitudinales del fuste (tesis de pregrado)*. Universidad Nacional de Ucayali, Pucallpa, Perú.
- Pavanaram SK, Row LR. (1957). Chemical examination of *Tectona grandis* Linn. Part I Isolation of 3-hydroxy-2-methylanthraquinone. *J Sci Ind Res*. 16B:409–411.
- Peña, A. (2010). *Determinación de la capacidad de dos cepas de hongos basidiomycota para degradar celulosa en chip de Pinus radiata (Tesis de pregrado)*. Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.
- Peraza, F. (2002). Protección preventiva de la madera. Madrid, ES. Ed. AITIM. 433 p
- Pereira, J., Silva, J. T. da, Paes, J. B., Costa, R., Baptista, G., & Dambroz, V. (2013). Resistência natural da madeira de *Tectona grandis* em ensaio de laboratório. *Ciencia Rural*, 43(8), 1393–1398.
- Pinedo, M. (2011). *Identificación de macrofungi lignícolas del jardín botánico de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María (Tesis de pregrado)*. Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María, Perú.

- Pointing, S.; Parungao, M. & Hyde, K. (2003). Production of wood-decay enzymes, mass loss and lignin solubilization in wood by tropical Xylariaceae. *Mycological Research*, 107(2), 231-235.
- Prado, M. (2009). *Estudio fitoquímico de la corteza de capirona Calycophyllum spruceanum en la zona de Pucallpa de PUCALLPA (Tesis de pregrado)*. Universidad Nacional Agraria la Molina, Lima, Perú.
- Pulido, G.; López, A.L. & Pulido, M.T. (2008). Estudios biológicos en las áreas naturales del estado de Hidalgo. Hidalgo, MX. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. 13p.
- Qiu, H., Liu, R., & Long, L. (2019). Analysis of chemical composition of extractives by acetone and the chromatic aberration of teak (*Tectona Grandis* L.F.) from China. *Molecules*, 24(10). <https://doi.org/10.3390/molecules24101989>
- Quintero, J., Feijoo, G., & Lema, J. (2006). Producción de enzimas ligninolíticas con hongos basidiomicetos cultivados sobre materiales lignocelulósicos. *VITAE*, 13(2), 61–67.
- Råberg, U., & Nasko, M. E. (2005). Testing and evaluation of natural durability of wood in above ground conditions in Europe – an overview, 51, 429–440. <https://doi.org/10.1007/s10086-005-0717-8>
- Ramirez, M. G. L., & Garcia, S. (2014). Metabolitos secundarios con actividad antifúngica hacia hongos xilófagos. *Los recursos forestales del Occidente de México: Biodiversidad, manejo, producción, aprovechamiento y conservación*, 211–228.
- Ramos, H., Trujillo, F., Guzmán, D., & Araujo, M. (2016). Durabilidad natural de la madera de pino chuncho (*Shizolobium amazonicum* Huber . ex Ducke) a la acción de dos hongos de pudrición. *Revista Forestal del Perú*, 31(2), 81–89.
- Reyes, R. (2014). *Influencia de cuatro sistemas del uso de la tierra (Teca, cítricos y café bajo sombra manejado y en abandono), en la sortividad en el IRD Selva Fundo la Génova, Chanchamayo, Junín. (Tesis de pregrado)*. Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Rizanti, D. E., Darmawan, W., George, B., Merlin, A., Dumarcay, S., Chapuis, H., ... Gerardin, P. (2018). Comparison of teak wood properties according to forest management: short versus long rotation. *Annals of Forest Science*, 75(39), 12.

<https://doi.org/10.1007/s13595-018-0716-8>

- Rodrigues, A., Stien, D., Eparvier, V., Espindola, L., Beauchêne, J., Amusant, N., ... Raguin, L. (2012). The wood preservative potential of long-lasting Amazonian wood extracts. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 75, 146–149. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2012.03.014>
- Rodríguez, R., Koch, G., Richter, H. G., Fuentes, F. J., Silva, J. A., & Satyanarayana, K. G. (2019). Formation of heartwood, chemical composition of extractives and natural durability of plantation-grown teak wood from Mexico. *Holzforschung*, 73(6), 547–557. <https://doi.org/10.1515/hf-2018-0109>
- Rojas, R. S. (2008). *Determinación de la resistencia natural de la madera de Pino (Pinus Pseudostrobus Lindl.), Palo Blanco (Cybistax donnell-smithii-Rose.Seibert.), Lloro Sangre, (Swartzia Cubensis-Britt-Willson), contra el ataque de termitas subterráneas (Tesis de pr. Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.*
- Romero, B. (2010). *Anatomía y propiedades físicas de Schizolobium amazonicum Huber ex. Ducke y Tectona grandis Linn F. - Satipo (Tesis de pregrado).* Universidad Nacional del Centro del Perú, Huancayo, Perú.
- Rudman P. (1960). Anthroquinones of teak (*Tectona grandis* L). *Chem Ind (London)*. 44:1356–1357.
- Sandermann W, Dietrichs HH. (1959). Chemical studies on tropical woods. IV. Chemical researches on teakwood. *Holzforschung*. 13:133–148.
- Sandermann W, Simatupang MH. (1965). Neue chinone aus teak (*Tectona grandis* L). *Naturwissenschaften*. 52:262–263.
- Scheffer, T. C., & Morrell, J. J. (1998). *Natural Durability of Wood : A Worldwide Checklist of Species.*
- Schultz, T. P., & Nicholas, D. D. (2000). Naturally durable heartwood : evidence for a proposed dual defensive function of the extractives. *Phytochemistry*, 54, 47–52.
- Sepúlveda, G., Porta, H., & Rocha, M. (2003). La Participación de los Metabolitos Secundarios en la Defensa de las Plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 21(3), 355–363.

- Singh P, Jain S, Bhargava S. (1989). A 1,4-Naphthoquinone derivative from *Tectona grandis*. *Phytochemistry*. 28:1258–1259.
- Singh P, Pandey D, Mathur J, Singh LP. (2008). Barleriaquinone-I from the heartwood of *Tectona grandis* Linn. *J Indian Chem Soc*. 85:1060–1063.
- Sumthong, P., Romero-González, R. R., & Verpoorte, R. (2008). Identification of anti-wood rot compounds in teak (*Tectona grandis* L.f.) sawdust extract. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 28(4), 247–260. <https://doi.org/10.1080/02773810802452592>
- Torrenegra, M. E. (2014). *Evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial foliar extraído de especies de Orégano (Origanum vulgare), Oregano “Borde blanco” (Origanum vulgare ssp) y Oreganito (Lippia alba mill) cultivado en la zona norte del departamento de Bolívar (Col. Universidad de Cartagena, Cartagena de Indias, Colombia.*
- Trujillo, F., & González, V. R. (s/f). Durabilidad natural de ocho especies forestales del Perú en medio nutritivo natural. *Revista Forestal del Perú*, 13(1), 1–13.
- Vargas, J., & Encinas, O. (2003). Antioxidantes y biopreservantes para madera a partir de la corteza de *Pinus caribaea* var. *Hondurensis* mor. En *XII Congreso Forestal Mundial* (pp. 137–145). Quebec, Canadá: Ministerio de Recursos Naturales, Fauna y Parques de Quebec y FAO.
- Velásquez, J., Toro, M. E., Rojas, L., & Encinas, O. (2006). Actividad antifúngica in vitro de los extractivos naturales de especies latifoliadas de la Guayana Venezolana. *Madera y Bosques*, 12(1), 51. <https://doi.org/10.21829/myb.2006.1211250>
- Velásquez, J. (2000). *Durabilidad inducida de la madera de Pino caribe (Pinus caribaea var. hondurensis) con extractos de algunas latifoliadas de durabilidad natural elevada. (Tesis de maestría)* ULA, Merida, Venezuela.
- Verde, M. J., García, S., & Rivas, C. (2016). Metodología científica para el estudio de plantas medicinales. *OmniaScience*, 1–39.
- Vergara, C., Von Baer, D., Mardones, C., Wilkens, A., Wernekinck, K., Damm, A., ... Winterhalter, P. (2012). Stilbene levels in grape cane of different cultivars in southern Chile: Determination by HPLC-DAD-MS/MS method. *Journal of Agricultural and*

Food Chemistry, 60(4), 929–933. <https://doi.org/10.1021/jf204482c>

Vignote, S. & Jiménez, F. (2000). Tecnología de la madera. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Ed. Mundi-Prensa. España, Madrid. 218-247.

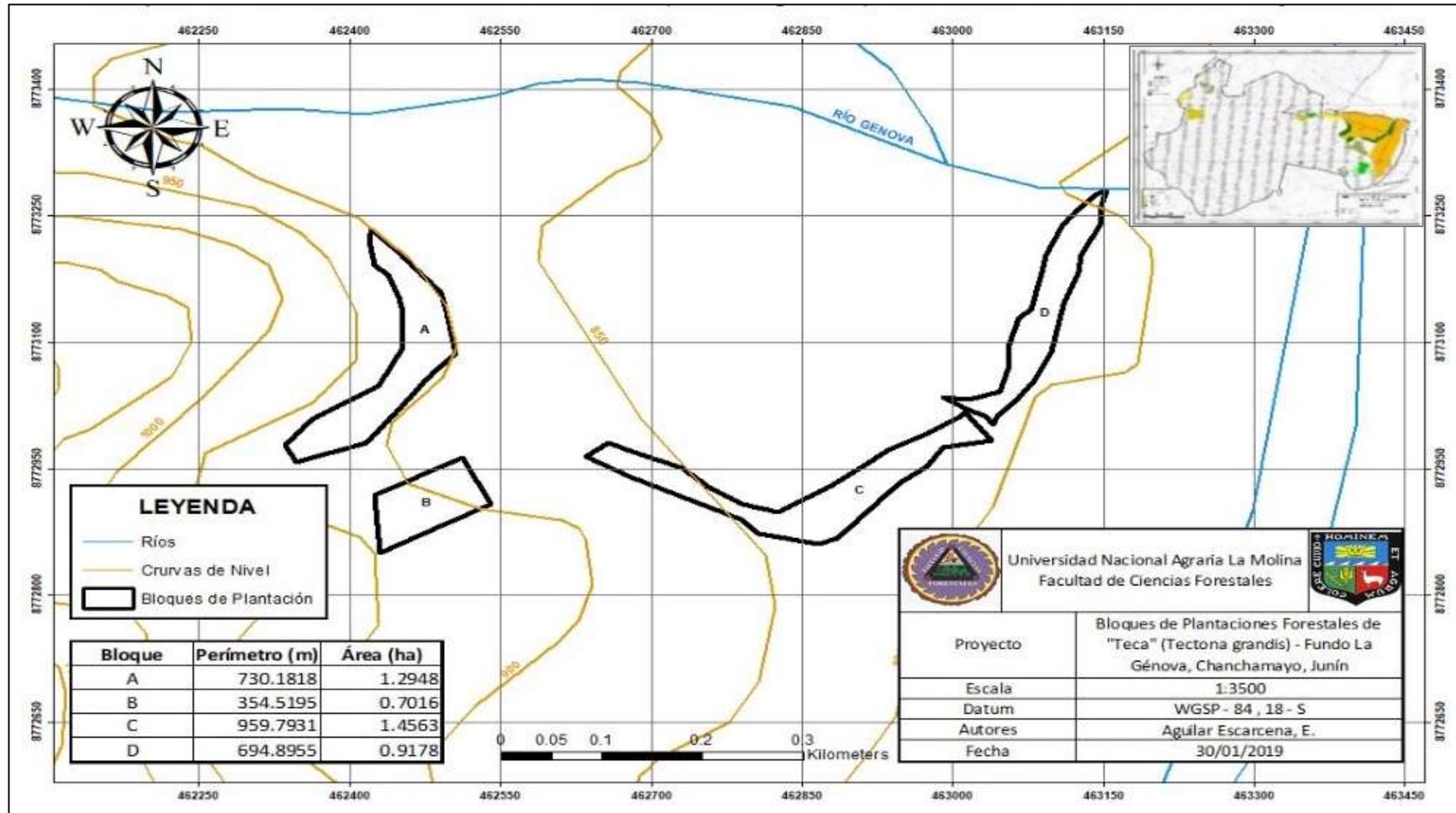
Vyas, P., Yadav, D. K., & Khandelwal, P. (2019). *Tectona grandis* (teak)—A review on its phytochemical and therapeutic potential. *Natural Product Research*, 33(16), 2338–2354. <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1440217>

Ypushima, A. (2015). *Caracterización biológica y química de la madera de teca (Tectona grandis) en dos condiciones edafoclimáticas y su relación con el crecimiento (tesis de doctorado)*. Universidad de Guadalajara, Jalisco, México.

Zúñiga, C. (2012). *Aplicación de la dendrocronología para evaluar la influencia de la precipitación y la temperatura en el crecimiento de Tectona grandis L.f. procedente del Fundo Génova - Junín (Tesis de pregrado)*. Universidad Nacional Agraria la Molina, Lima, Perú.

VIII. ANEXOS

Anexo 1: Mapa de ubicación de la plantación de *T. grandis*



Fuente: Hallasi et al. 2019

Anexo 2: Constancia de identificación de la especie maderable



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES - FAX: 349-2041, TEF: 349-5647 / 349-5669, Anexo 203
APDO.456 - LA MOLINA LIMA PERU



CONSTANCIA

El que suscribe, JEFE DEL LABORATORIO DE ANATOMÍA DE LA MADERA, deja constancia que, de acuerdo con los estudios anatómicos efectuados, las muestras de madera proporcionadas por la Bach. KAREN NATHALY FABIAN HIDALGO, ex alumno de la Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad Nacional Agraria la Molina, empleadas en su trabajo de tesis titulado: "Durabilidad natural de la madera de Teca (*Tectona grandis* L.f.) procedente de Chanchamayo - Junín"; corresponden a:

<u>Muestra</u>	<u>Nombre Común</u>	<u>Nombre Científico</u>	<u>Familia</u>
1	Teca	<i>Tectona grandis</i> L.f.	Lamiaceae
2	Teca	<i>Tectona grandis</i> L.f.	Lamiaceae
3	Teca	<i>Tectona grandis</i> L.f.	Lamiaceae

Atentamente,

Ing. Manuel Chavesta Custodio
Lab. Anatomía de la Madera



La Molina, 06 de noviembre de 2019

Anexo 3: Descripción de los hongos de pudrición utilizados

***Pycnoporus sanguineus* (L:Fr) Murr.**

Reino: Fungi

Phylum: Basidiomycota

Clase: Basidiomycetes

Orden: Polyporales

Familia: Polyporaceae

Género: *Pycnoporus*

Especie: *P. sanguineus* (Muller, 2001)

Sinónimos:

- *Polyporus sanguineus* L. ex Fr.
- *Coriolus sanguineus* (Fr.) GH. Comm.
- *Trametes cinnavarina* (jacq. Ex. Fr.)



Esta especie forma parte de la familia Polyporaceae, la cual incluye al grupo más fuerte de hongos lignícolas y eficientes degradadores de la madera (Papinutti, 2013). Hongo de pudrición blanca capaz de hidrolizar la lignina, celulosa y hemicelulosa causando serias alteraciones en las propiedades físicas y mecánicas del material (Grassmann, Santini, Kulczynski, & Trevisan, 2017).

Descripción macroscópica: Cuerpo fructífero con forma de repisa, semicircular y de consistencia parecida al corcho cuando está fresco. El píleo tiene de 1,5 a 4,5 cm de ancho, aterciopelado, de color rojo anaranjado y brillante, unión de píleo de forma lateral de base estrecha. Himenio formado por poros pequeños color naranja, solitarios, dispersos o gregarios (Bautista & Sánchez, 2011)

Descripción microscópica: Sistema hifal trimítico, hifas generativas hialinas con pared delgada y septada, hifas esqueléticas hialinas de pared gruesa e hifas ligadoras muy ramificadas. Basidias clavadas con 4 esterigmas; basidiosporas hialinas, cilíndricas, ovoides, unicelulares de pared lisa y de 5,3 x 2,7 μm (Bautista & Sánchez, 2011)

***Shizophyllum commune* (Fr.) Fr.**

Reino: Fungi

Phylum: Basidiomycota

Clase: Agaricomycetes

Orden: Agaricales

Familia: Schizophyllaceae

Género: *Shizophyllum*

Especie: *S. commune*

Sinónimo:

- *Agaricus commune*



Especie de hongo causante de pudrición blanca de madera de una gran diversidad de árboles, capaz de sobrevivir en época seca en madera expuesta al sol.

Descripción macroscópica: cuerpo de consistencia coriácea, de color blanco grisáceo, forma de concha. Píleo de 1 a 3 cm de ancho, superficie terciopelada. El himeneo está formado por laminas color gris café con tonos violáceos, las láminas llegan a medir de 1 a 2,5 cm. Presenta un pie pequeño estrecho de 0,2 a 0,8 cm de longitud (Pinedo, 2011).

Descripción microscópica: Sistema hifal monolítico, hifas generativas hialinas, con septos fabulados, paredes gruesas, basidias clavadas de 6 μm de largo por 2,5 μm de ancho. Basidiosporas cilíndricas a elipsoidales, hialinas, de pared delgada, margen entero y liso, de 2,8-3,1x 5,7-6,0 μm .

Anexo 4: Datos para la determinación de la pérdida de peso en la madera de *T. grandis*

Pérdida de peso (%) en la madera de duramen a causa del hongo *P. sanguineus*

	Árbol 1			Árbol 2			Árbol 3			Árbol 4			Árbol 5			PROM. POR NIVEL					
	R	Psi (g)	Psf (g)	PP (%)	R	Psi (g)	Psf (g)	PP (%)	R	Psi (g)	Psf (g)	PP (%)	R	Psi (g)	Psf (g)		PP (%)				
BASE	1	5,5588	5,0154	9,7755	1	4,8469	4,2699	11,9045	1	4,6653	4,1437	11,1804	1	5,0655	4,6281	8,6349	1	4,4190	3,8625	12,5933	10,6168 (11,6841)
	2	5,4135	4,8765	9,9196	2	4,9041	4,4565	9,1271	2	4,7634	4,3203	9,3022	2	5,2783	4,7304	10,3802	2	4,3801	3,8327	12,4974	
	3	5,5867	5,0181	10,1777	3	4,9384	4,4636	9,6145	3	4,4478	3,9212	11,8396	3	5,1588	4,6935	9,0195	3	4,2529	3,7258	12,3939	
	4	5,6207	5,0542	10,0788	4	4,9165	4,3447	11,6302	4	4,7770	4,2354	11,3377	4	5,1495	4,7119	8,4979	4	4,2918	3,7583	12,4307	
	PROMEDIO		9,9879 (1,7730)		PROMEDIO		10,5691 (13,2689)		PROMEDIO		10,9150 (10,1816)		PROMEDIO		9,1331 (9,4186)		PROMEDIO		12,4788 (0,7015)		
MEDIO	1	5,8449	5,1905	11,1961	1	4,3874	3,9101	10,8789	1	4,4453	3,9253	11,6977	1	4,9100	4,4057	10,2709	1	4,0356	3,6218	10,2537	11,4020 (4,8244)
	2	5,7757	5,122	11,3181	2	4,5046	4,0158	10,8511	2	4,3048	3,7383	13,1597	2	4,9890	4,4550	10,7035	2	4,1389	3,6693	11,3460	
	3	5,8617	5,1947	11,3790	3	4,4102	3,9384	10,6979	3	4,2168	3,7540	10,9751	3	5,0289	4,4904	10,7081	3	4,0999	3,5861	12,5320	
	4	5,5791	4,9009	12,1561	4	4,4583	3,9258	11,9440	4	4,1740	3,6437	12,7048	4	4,9907	4,4409	11,0165	4	4,2547	3,7335	12,2500	
	PROMEDIO		11,5123 (3,7861)		PROMEDIO		11,0930 (5,1646)		PROMEDIO		12,1344 (8,1182)		PROMEDIO		10,6748 (2,8713)		PROMEDIO		11,5954 (8,8622)		
ÁPICE	1	4,7488	4,2077	11,3945	1	4,1123	3,5683	13,2286	1	4,2089	3,6944	12,2241	1	4,7370	4,2409	10,4729	1	4,1803	3,6380	12,9728	11,6377 (6,5415)
	2	4,6988	4,0834	13,0970	2	4,7496	4,2678	10,1440	2	4,3510	3,8045	12,5603	2	4,6318	4,1287	10,8619	2	4,2244	3,7234	11,8597	
	3	4,6587	4,0834	12,3489	3	4,3341	3,8127	12,0302	3	4,2853	3,7850	11,6748	3	4,6466	4,2077	9,4456	3	4,1633	3,6620	12,0409	
	4	4,8599	4,3795	9,8850	4	4,6170	4,1017	11,1609	4	4,1830	3,6698	12,2687	4	4,8764	4,3524	10,7456	4	4,2264	3,7050	12,3367	
	PROMEDIO		11,6813 (11,8609)		PROMEDIO		11,6409 (11,2480)		PROMEDIO		12,1820 (3,0335)		PROMEDIO		10,3815 (6,2117)		PROMEDIO		12,3025 (3,9680)		
PROMEDIO DE PP (%) EN DURAMEN																	11,2188				

R: Repetición, Psi: Peso seco inicial de la probeta (g), Psf: Peso seco final de la probeta (g), PP: Pérdida de peso de la probeta (%).

El coeficiente de variación se muestra entre paréntesis

Pérdida de peso (%) en la madera de albura a causa del hongo *P. sanguineus*

	Árbol 1			Árbol 2			Árbol 3			Árbol 4			Árbol 5			PROM. POR NIVEL					
	R	Psi (g)	Psf (g)	PP (%)	R	Psi (g)	Psf (g)	PP (%)	R	Psi (g)	Psf (g)	PP (%)	R	Psi (g)	Psf (g)	PP (%)	R	Psi (g)	Psf (g)	PP (%)	
BASE	1	5,3682	4,1465	22,7581	1	4,7775	3,5101	26,5285	1	4,9016	3,5202	28,1826	1	5,0364	3,6719	27,0928	1	3,8462	2,8120	26,8889	25,3012 (11,5130)
	2	5,3293	4,2424	20,3948	2	4,8046	3,6694	23,6274	2	4,7689	3,5064	26,4736	2	5,0775	3,7277	26,5839	2	3,9059	2,8355	27,4047	
	3	5,4585	4,3535	20,2437	3	5,4348	4,3317	20,2970	3	4,8239	3,4178	29,1486	3	4,9698	3,608	27,4015	3	4,2373	3,0687	27,5789	
	4	5,3952	4,2939	20,4126	4	4,9660	3,7255	24,9799	4	4,0295	2,8614	28,9887	4	4,9539	3,7542	24,2173	4	4,4908	3,2863	26,8215	
	PROMEDIO		20,9523 (5,7572)		PROMEDIO		23,8582 (11,1223)		PROMEDIO		28,1984 (4,3446)		PROMEDIO		26,3239 (5,4866)		PROMEDIO		27,1735 (1,3814)		
MEDIO	1	4,387	3,467	20,9711	1	4,4994	3,3033	26,5835	1	3,9391	2,6136	33,6498	1	4,9526	3,5812	27,6905	1	4,0634	2,8226	30,5360	27,1803 (15,7149)
	2	4,5036	3,5836	20,4281	2	4,2908	3,0827	28,1556	2	3,8381	2,6134	31,9090	2	4,9200	3,4683	29,5061	2	4,0920	2,8797	29,6261	
	3	4,5524	3,6324	20,2091	3	4,3683	3,0892	29,2814	3	3,93	2,6574	32,3817	3	4,7898	3,5492	25,9009	3	4,0859	2,9032	28,9459	
	4	4,6196	3,6996	19,9151	4	4,4050	3,1596	28,2724	4	3,8133	2,7977	26,6331	4	5,0625	3,9824	21,3353	4	3,9101	2,6716	31,6744	
	PROMEDIO		20,3809 (2,1887)		PROMEDIO		28,0732 (3,9694)		PROMEDIO		31,1434 (9,9392)		PROMEDIO		26,1082 (13,4281)		PROMEDIO		30,1956 (3,9133)		
ÁPICE	1	5,1785	3,641	29,6901	1	4,0713	2,9685	27,0872	1	4,1830	3,0095	28,0540	1	4,2641	3,1456	26,2306	1	3,6374	2,7174	25,2928	27,7866 (7,1463)
	2	5,2121	3,6996	29,0190	2	4,0959	3,0019	26,7096	2	4,2251	3,0762	27,1923	2	4,3893	3,1717	27,7402	2	3,5089	2,5889	26,2190	
	3	4,9845	3,5019	29,7442	3	4,5501	3,4106	25,0434	3	4,0342	2,8752	28,7294	3	4,2522	3,0802	27,5622	3	3,5766	2,6566	25,7228	
	4	5,2931	3,4595	34,6413	4	4,1150	2,9899	27,3414	4	4,0433	2,8846	28,6573	4	4,3953	3,0671	30,2186	4	3,7043	2,7843	24,8360	
	PROMEDIO		30,7737 (8,4470)		PROMEDIO		26,5454 (3,8968)		PROMEDIO		28,1582 (2,5272)		PROMEDIO		27,9379 (5,9525)		PROMEDIO		25,5176 (2,3176)		
PROMEDIO DE PP (%) EN ALBURA																				26,7560	

R: Repetición, Psi: Peso seco inicial de la probeta (g), Psf: Peso seco final de la probeta (g), PP: Pérdida de peso de la probeta (%), El coeficiente de variación se muestra entre paréntesis

Pérdida de peso (%) en la madera de duramen a causa del hongo *S. commune*

	Árbol 1			Árbol 2			Árbol 3			Árbol 4			Árbol 5			PROM. POR NIVEL					
	R	Psi (g)	Psf (g)	PP (%)	R	Psi (g)	Psf (g)	PP (%)	R	Psi (g)	Psf (g)	PP (%)	R	Psi (g)	Psf (g)	PP (%)					
BASE	1	5,3858	5,0314	6,5803	1	4,8805	4,4958	7,8824	1	4,8103	4,4858	6,7459	1	5,1955	4,8603	6,4517	1	4,4046	4,0688	7,6238	7,0903 (5,8182)
	2	5,0058	4,6479	7,1497	2	4,9410	4,5615	7,6806	2	4,7586	4,4387	6,7226	2	5,0515	4,6979	6,9999	2	4,6479	4,4132	5,0496	
	3	5,4004	5,0435	6,6088	3	4,8794	4,4965	7,8473	3	4,6200	4,3097	6,7165	3	5,3022	4,9248	7,1178	3	4,3061	3,9585	8,0723	
	4	4,9953	4,6502	6,9085	4	4,5535	4,2046	7,6622	4	4,6503	4,3028	7,4726	4	5,1745	4,8378	6,5069	4	4,5422	4,1785	8,0071	
	PROMEDIO			6,8118 (3,9606)	PROMEDIO			7,7681 (1,4524)	PROMEDIO			6,9144 (5,3855)	PROMEDIO			6,7691 (5,0049)	PROMEDIO			7,1882 (20,0245)	
MEDIO	1	5,7761	5,4339	5,9244	1	4,4329	4,1212	7,0315	1	4,3913	4,0582	7,5855	1	5,0077	4,6575	6,9932	1	4,2914	3,9802	7,2517	7,1813 (7,8520)
	2	5,5537	5,2153	6,0932	2	4,5737	4,2313	7,4863	2	3,9527	3,6647	7,2862	2	4,9587	4,5750	7,7379	2	4,2488	3,9192	7,7575	
	3	5,4695	5,1336	6,1413	3	4,2373	3,9151	7,6039	3	4,3326	4,0489	6,5480	3	4,8650	4,4898	7,7122	3	4,2714	3,9559	7,3863	
	4	5,5293	5,1671	6,5506	4	4,2635	3,9351	7,7026	4	3,9963	3,6778	7,9699	4	4,9445	4,5852	7,2667	4	4,2152	3,8950	7,5963	
	PROMEDIO			6,1774 (4,2996)	PROMEDIO			7,4561 (3,9770)	PROMEDIO			7,3474 (8,1922)	PROMEDIO			7,4275 (4,8661)	PROMEDIO			7,4980 (2,9835)	
ÁPICE	1	4,878	4,516	7,4211	1	4,1509	3,8164	8,0585	1	4,2009	3,9044	7,0580	1	4,9913	4,6593	6,6516	1	4,0208	3,7060	7,8293	7,5255 (4,5230)
	2	4,7585	4,4016	7,5003	2	4,4027	4,0660	7,6476	2	4,2802	3,9144	8,5463	2	4,5629	4,2258	7,3878	2	4,1123	3,8126	7,2879	
	3	4,8575	4,5113	7,1271	3	4,2585	3,9279	7,7633	3	4,2285	3,8997	7,7758	3	4,9343	4,5987	6,8014	3	4,2120	3,8760	7,9772	
	4	4,8332	4,477	7,3699	4	4,3372	4,0179	7,3619	4	4,1820	3,8460	8,0344	4	4,7649	4,4214	7,2090	4	4,1163	3,7993	7,7011	
	PROMEDIO			7,3546 (2,1870)	PROMEDIO			7,7078 (3,7403)	PROMEDIO			7,8536 (7,8889)	PROMEDIO			7,0124 (4,9009)	PROMEDIO			7,6989 (3,8487)	
PROMEDIO DE PP (%) EN DURAMEN																7,2657					

R: Repetición, Psi: Peso seco inicial de la probeta (g), Psf: Peso seco final de la probeta (g), PP: Pérdida de peso de la probeta (%).

El coeficiente de variación se muestra entre paréntesis

Pérdida de peso (%) en la madera de albura a causa del hongo *S. commune*

	Árbol 1			Árbol 2			Árbol 3			Árbol 4			Árbol 5			PROM. POR NIVEL					
	R	Psi (g)	Psf (g)	PP (%)	R	Psi (g)	Psf (g)	PP (%)	R	Psi (g)	Psf (g)	PP (%)	R	Psi (g)	Psf (g)	PP (%)	R	Psi (g)	Psf (g)	PP (%)	PP (%)
BASE	1	5,4133	4,7799	11,7008	1	5,3735	4,7293	11,9885	1	4,1948	3,5377	15,6646	1	4,904	4,2055	14,2435	1	4,5015	3,8524	14,4196	
	2	5,3945	4,7823	11,3486	2	4,9251	4,3112	12,4647	2	4,0683	3,4438	15,3504	2	4,9874	4,1636	16,5176	2	3,9801	3,2747	17,7232	13,8593
	3	5,4167	4,7987	11,4092	3	4,6150	4,0214	12,8624	3	4,6327	3,9672	14,3653	3	4,9281	4,2831	13,0882	3	4,5791	3,8385	16,1735	(12,2752)
	4	5,4002	4,7799	11,4866	4	4,8935	4,2290	13,5792	4	4,8205	4,1447	14,0193	4	4,9385	4,2167	14,6158	4	4,4388	3,8100	14,1660	
	PROMEDIO			11,4862	PROMEDIO			12,7237	PROMEDIO			14,8499	PROMEDIO			14,6163	PROMEDIO			15,6206	
			(1,3387)				(5,2894)				(5,2725)				(9,7472)				(10,6385)		
MEDIO	1	4,7592	4,2218	11,2918	1	4,3104	3,7807	12,2889	1	3,9608	3,3733	14,8329	1	5,0113	4,2489	15,2136	1	3,9471	3,3299	15,6368	
	2	5,1896	4,6578	10,2474	2	4,3735	3,6150	17,3431	2	4,1982	3,6064	14,0965	2	4,9729	4,2337	14,8646	2	4,0892	3,4261	16,2159	14,1865
	3	4,6898	4,1759	10,9578	3	4,3421	3,7455	13,7399	3	4,2785	3,7248	12,9415	3	4,9864	4,2352	15,0650	3	4,0078	3,3664	16,0038	(13,8053)
	4	4,6175	4,1063	11,0709	4	4,2278	3,5296	16,5145	4	4,1725	3,5714	14,4062	4	5,0010	4,2485	15,0470	4	4,0423	3,3974	15,9522	
	PROMEDIO			10,8920	PROMEDIO			14,9716	PROMEDIO			14,0693	PROMEDIO			15,0475	PROMEDIO			15,9522	
			(4,1457)				(15,7678)				(5,7587)				(0,9505)				(1,4996)		
ÁPICE	1	5,0863	4,4767	11,9851	1	4,0817	3,4684	15,0256	1	3,4172	2,8938	15,3166	1	4,4477	3,7782	15,0527	1	3,8092	3,3130	13,0264	
	2	5,2063	4,606	11,5303	2	4,6271	3,9056	15,5929	2	3,5556	2,9957	15,7470	2	4,4323	3,8115	14,0063	2	3,9202	3,3223	15,2518	14,5338
	3	5,2358	4,5255	13,5662	3	4,0531	3,3927	16,2937	3	3,9089	3,2734	16,2578	3	4,4427	3,8282	13,8317	3	4,0925	3,4640	15,3574	(8,5023)
	4	5,1996	4,5003	13,4491	4	4,2630	3,6541	14,2834	4	3,8819	3,2508	16,2575	4	4,3944	3,7661	14,2977	4	4,0794	3,4860	14,5463	
	PROMEDIO			12,6327	PROMEDIO			15,2989	PROMEDIO			15,8947	PROMEDIO			14,2971	PROMEDIO			14,5454	
			(8,1406)				(5,5746)				(2,8588)				(3,7713)				(7,3894)		
PROMEDIO DE PP (%) EN ALBURA																					14,1932

R: Repetición, Psi: Peso seco inicial de la probeta (g), Psf: Peso seco final de la probeta (g), PP: Pérdida de peso de la probeta (%).

El coeficiente de variación se muestra entre paréntesis

Anexo 5: Datos para la cuantificación de extractivos totales en la madera de *T. grandis*

Extractivos obtenidos con etanol (96 %) de la madera de duramen

NIVEL	R	ÁRBOL					PROM. POR NIVEL (%)
		1	2	3	4	5	
Base	1	11,4623	7,2124	10,7042	11,2470	9,0144	9,7681 (17,0352)
	2	11,2791	7,3405	10,8734	10,5706	8,6153	
	3	11,3852	7,3347	10,0461	10,4532	8,9837	
	PROM.	11,3755 (0,8085)	7,2959 (0,9912)	10,5412 (4,1460)	10,7569 (3,9829)	8,8711 (2,5033)	
Medio	1	12,1346	6,0160	7,4217	12,1513	7,2423	8,8850 (29,9086)
	2	11,5285	6,5016	6,5712	11,5407	7,5931	
	3	11,0704	7,0441	6,4314	12,1453	7,8823	
	PROM.	11,5778 (4,6107)	6,5206 (7,8875)	6,8081 (7,8728)	11,9458 (2,9365)	7,5725 (4,2319)	
Ápice	1	11,4984	5,8400	6,1558	10,5552	9,5916	8,6894 (25,7369)
	2	9,8635	5,8681	7,7546	10,7574	9,1097	
	3	10,4825	5,4774	6,9728	10,7074	9,7063	
	PROM.	10,6148 (7,7765)	5,7285 (3,8033)	6,9610 (11,4849)	10,6734 (0,9868)	9,4692 (3,3432)	
PROMEDIO DE EXTRACTIVOS DE DURAMEN CON ETANOL						9,1142	

El coeficiente de variación se muestra entre paréntesis

Extractivos obtenidos con etanol (96 %) de la madera de albura

NIVEL	R	ÁRBOL					PROM. POR NIVEL (%)
		1	2	3	4	5	
Base	1	6,9561	3,5959	6,6900	4,1229	3,7260	5,1630 (21,5903)
	2	6,7267	6,1020	4,1427	4,8219	3,2991	
	3	6,9867	5,8988	5,0111	4,6819	4,6837	
	PROM.	6,8898 (2,0627)	5,1989 (26,7736)	5,2813 (24,5205)	4,5423 (8,1426)	3,9029 (18,1663)	
Medio	1	2,5273	3,6224	4,1844	7,4176	5,1114	4,2592 (27,4958)
	2	2,1041	4,7462	3,9316	5,9168	5,7217	
	3	2,4633	4,3160	2,7314	5,6633	3,4305	
	PROM.	2,3649 (9,6470)	4,2282 (13,4103)	3,6158 (21,4698)	6,3326 (14,9736)	4,7546 (24,9563)	
Ápice	1	2,4638	4,9625	2,5908	5,8831	3,2934	3,7162 (28,3003)
	2	3,0135	4,4363	2,1757	5,8291	2,6751	
	3	2,6471	4,2221	2,9589	5,5638	3,0283	
	PROM.	2,7081 (10,3340)	4,5403 (8,3916)	2,5751 (15,2170)	5,7587 (2,9675)	2,9989 (10,3435)	
PROMEDIO DE EXTRACTIVOS DE ALBURA CON ETANOL						4,3795	

El coeficiente de variación se muestra entre paréntesis

Extractivos obtenidos con agua fría de la madera de duramen

NIVEL	R	ÁRBOL					PROM. POR NIVEL (%)
		1	2	3	4	5	
Base	1	0,1831	0,1475	0,1482	0,1910	0,1939	0,1754 (11,7112)
	2	0,1432	0,1793	0,1443	0,1925	0,2153	
	3	0,1503	0,1976	0,1634	0,1913	0,1906	
	PROM.	0,1588 (13,4062)	0,1748 (14,5089)	0,1520 (6,6580)	0,1916 (0,4132)	0,1999 (6,6971)	
Medio	1	0,1414	0,1544	0,1386	0,1512	0,1301	0,1454 (7,1553)
	2	0,1538	0,1685	0,1276	0,1579	0,1364	
	3	0,1653	0,1286	0,1376	0,1549	0,1345	
	PROM.	0,1535 (7,7828)	0,1505 (13,4393)	0,1346 (4,5280)	0,1547 (2,1442)	0,1337 (2,4021)	
Ápice	1	0,1223	0,1251	0,1370	0,1474	0,1227	0,1369 (8,4078)
	2	0,1165	0,1458	0,1470	0,1340	0,1299	
	3	0,1251	0,1824	0,1336	0,1468	0,1379	
	PROM.	0,1213 (3,5844)	0,1511 (19,1912)	0,1392 (4,9967)	0,1427 (5,2994)	0,1302 (5,8535)	
PROMEDIO DE EXTRACTIVOS DE DURAMEN CON AGUA FRÍA						0,1526	

El coeficiente de variación se muestra entre paréntesis

Extractivos obtenidos con agua fría de la madera de albura

NIVEL	R	ÁRBOL					PROM. POR NIVEL (%)
		1	2	3	4	5	
Base	1	1,7700	1,5690	1,7736	1,7426	1,6266	1,6709 (2,7896)
	2	1,7176	1,5714	1,5434	1,6608	1,7702	
	3	1,6964	1,7906	1,5455	1,7338	1,5518	
	PROM.	1,7280 (2,1934)	1,6436 (7,7409)	1,6209 (8,1627)	1,7124 (2,6229)	1,6495 (6,7295)	
Medio	1	1,4621	1,5556	1,5564	1,7311	1,2368	1,4947 (6,1219)
	2	1,6198	1,4927	1,4773	1,5180	1,4511	
	3	1,6353	1,4970	1,3864	1,4461	1,3550	
	PROM.	1,5724 (6,0925)	1,5151 (2,3199)	1,4734 (5,7768)	1,5651 (9,4695)	1,3476 (7,9653)	
Ápice	1	1,2851	1,3287	1,0465	1,5149	1,0081	1,3264 (4,1723)
	2	1,4177	1,3084	1,4037	1,0456	1,4898	
	3	1,3274	1,4694	1,6683	1,1561	1,4261	
	PROM.	1,3434 (5,0417)	1,3688 (6,4071)	1,3729 (22,7283)	1,2389 (19,8053)	1,3080 (20,0046)	
PROMEDIO DE EXTRACTIVOS DE ALBURA CON AGUA FRÍA						1,4973	

El coeficiente de variación se muestra entre paréntesis

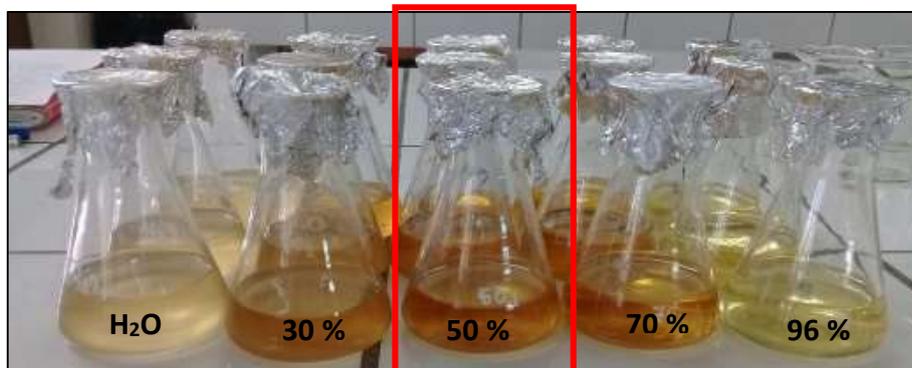
Extractivos obtenidos con agua caliente de la madera de duramen

NIVEL	R	ÁRBOL					PROM. POR NIVEL (%)
		1	2	3	4	5	
Base	1	3,7367	2,9502	3,4867	3,5686	3,7403	3,4914 (14,6849)
	2	3,3856	3,9756	4,9671	2,1626	2,1653	
	3	4,5547	3,5886	3,8318	3,4025	2,8549	
	PROM.	3,8923 (15,4112)	3,5048 (14,7731)	4,0952 (18,9135)	3,0446 (25,2360)	2,9201 (27,0371)	
Medio	1	2,9100	3,5452	3,4901	3,4579	3,9241	3,2662 (18,3690)
	2	2,7984	3,6185	3,1104	3,0208	4,5542	
	3	2,0516	3,5122	2,9167	2,1823	3,9009	
	PROM.	2,5867 (18,0442)	3,5586 (1,5292)	3,1724 (9,1952)	2,8870 (22,4535)	4,1264 (8,9833)	
Ápice	1	2,1561	3,2304	3,5913	2,6315	3,8808	3,2152 (11,7302)
	2	3,5436	3,1564	2,7851	4,1497	3,1609	
	3	2,6816	2,8672	2,5482	3,9393	3,9053	
	PROM.	2,7938 (25,0751)	3,0847 (6,2227)	2,9749 (18,3809)	3,5735 (23,0178)	3,6490 (11,5888)	
PROMEDIO DE EXTRACTIVOS DE DURAMEN CON AGUA CALIENTE						3,3243	
El coeficiente de variación se muestra entre paréntesis							

Extractivos obtenidos con agua caliente de la madera de albura

NIVEL	R	ÁRBOL					PROM. POR NIVEL (%)
		1	2	3	4	5	
Base	1	2.5400	3.4864	3.9029	3.2995	3.1551	3.2664 (12,3301)
	2	2.7492	3.0440	3.4008	3.8429	3.7819	
	3	2.5206	3.4727	3.6143	2.5625	3.6233	
	PROM.	2.6032 (4.8692)	3.3344 (7.5438)	3.6393 (6.9239)	3.2350 (19.8659)	3.5201 (9.2581)	
Medio	1	2.9831	3.3858	2.9151	3.4656	2.4070	2.8499 (15,5132)
	2	3.9339	2.6041	2.3628	2.0464	1.3579	
	3	3.5055	2.4063	3.0040	3.4026	2.9680	
	PROM.	3.4741 (13.7071)	2.7987 (18.5055)	2.7606 (12.5837)	2.9716 (26.9830)	2.2443 (36.4156)	
Ápice	1	3.8869	3.8143	2.5398	3.2861	3.2558	3.2034 (13,3423)
	2	2.7792	3.5523	2.5238	2.3109	3.8530	
	3	3.6251	2.7505	2.4874	3.6627	3.7232	
	PROM.	3.4304 (16.8778)	3.3724 (16.4343)	2.5170 (1.0660)	3.0866 (22.6021)	3.6106 (8.6991)	
PROMEDIO DE EXTRACTIVOS DE ALBURA CON AGUA CALIENTE						3,1066	
El coeficiente de variación se muestra entre paréntesis							

Anexo 6: Datos para determinar el grado de solubilidad de los extractos de madera de *T. grandis*



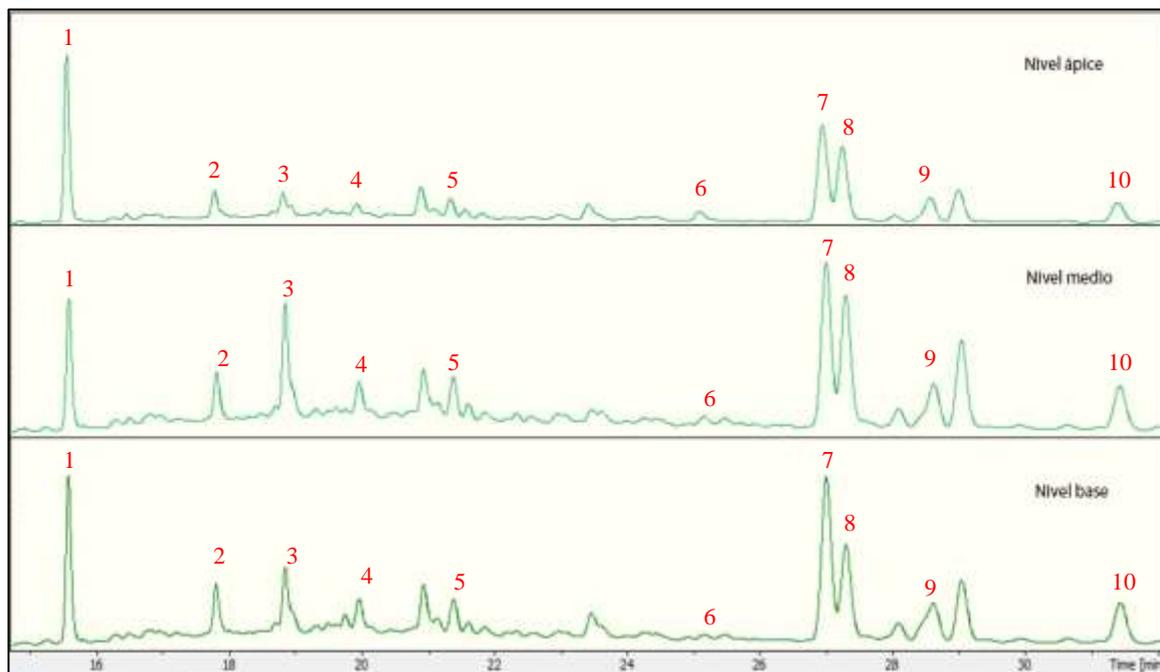
Nivel longitudinal del árbol	CONCENTRACIÓN				
	AGUA	30 %	50 %	70 %	96 %
Base	0,9494	1,6250	1,8441	1,8441	0,7760
Medio	0,6920	0,8832	1,4113	1,4022	0,1912
Ápice	0,4524	0,6831	0,7570	0,4893	0,1662



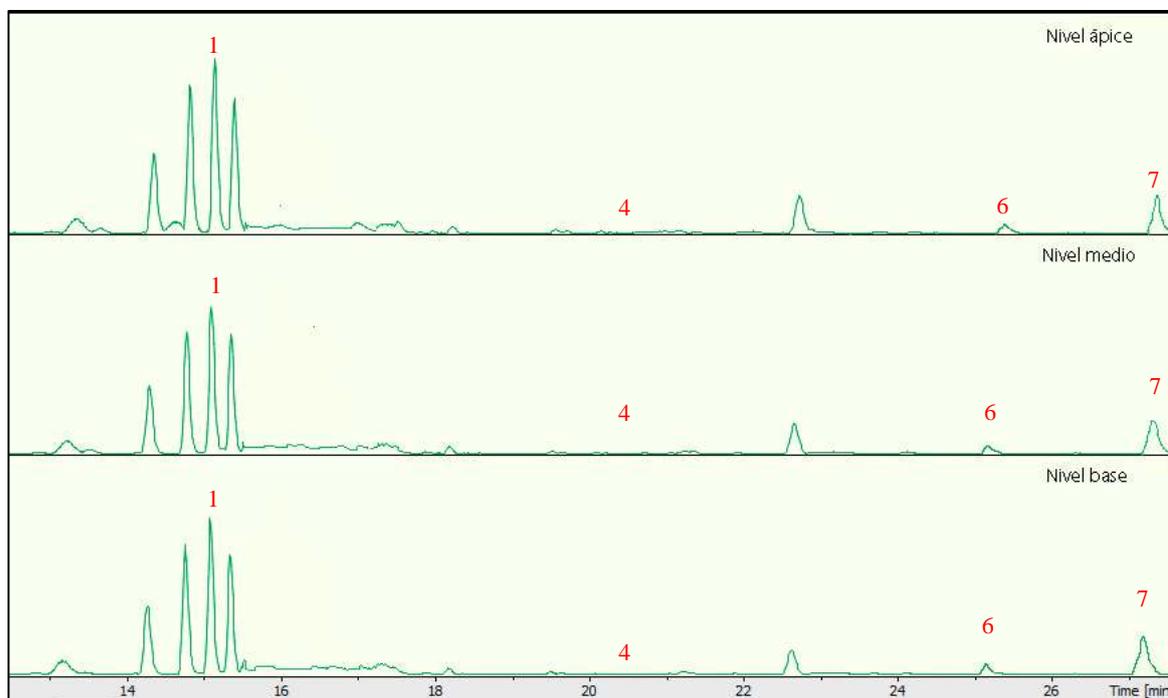
Nivel longitudinal del árbol	CONCENTRACIÓN				
	AGUA	30 %	50 %	70 %	96 %
Base	1,4714	2,1519	3,6233	3,6416	2,8968
Medio	0,5015	2,1882	4,0209	4,4950	3,0026
Ápice	0,4362	2,1539	2,3902	2,6174	2,1267

Anexo 7: Perfil de cromatogramas

Muestras de duramen



Muestras de albura



Anexo 8: Metabolitos secundarios identificados en la madera de *T. grandis*

Metabolitos secundarios identificados en el duramen

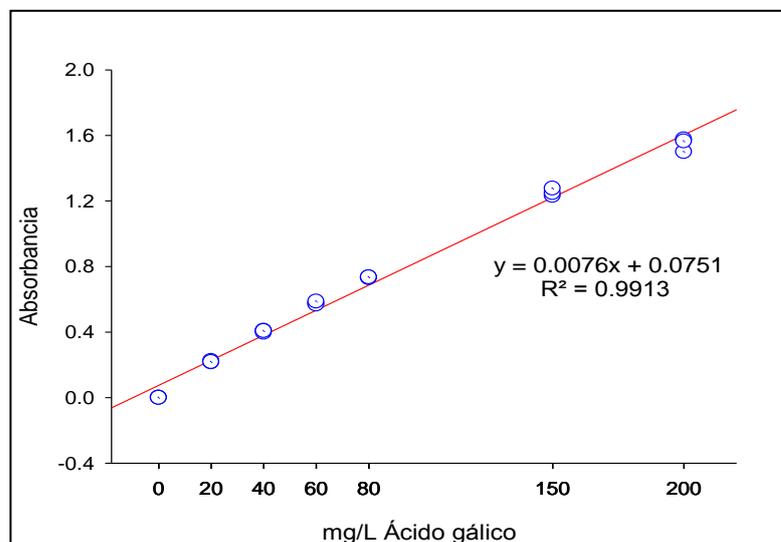
Peak	tR (min)	Fórmula	MS (exacta)	m/z [M+H] ⁺	error (ppm)	Score	Fragmentos (m/z)	Compuesto
1	15,6	C ₁₅ H ₁₄ O ₂	226,0994	227,106	3	0,5655	89,0386; 103,0542; 105,0335; 157,0648; 181,0648; 194,0726; 209,0961	Deoxilapachol
2	17,8	C ₁₅ H ₁₄ O ₃	242,0943	243,1019	-1,2	0,4564	91,0542; 105,0335; 131,04917	Lapachol
3	18,8	C ₁₅ H ₁₂ O ₃	240,0786	241,0859	0,2	0,2924	116,0621; 133,0284	6-Hidroxiflavanona
4	20,6	C ₁₅ H ₁₄ O ₄	258,089	259,0956	3,4	1	223,0754; 187,039; 133,0284; 105,0335	5-Hidroxilapachol
5	21,4	C ₁₅ H ₁₄ O ₃	242,0943	243,1016	7,5	0,7906	89,0386; 106,0413; 115,0542; 128,0621; 169,1012; 208,0883; 210,0675	β-Lapachona
6	25,1	C ₁₅ H ₁₂ O ₃	240,0786	241,085	3,8	0,7936	91,0542; 103,0542; 115,0542; 119,0491; 131,0491; 133,0284	7-Hidroxiflavanona
7	26,9	C ₁₅ H ₁₀ O ₃	238,063	239,0703	4,2	0,9304	105,0335; 133,0284; 182,0726; 193,0648	2-Hidroximetiltraquinona
8	27,1	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	254,0579	255,0652	7,4	0,8689	91,0542; 103,0542; 105,0335; 131,0491; 133,0284; 197,0597; 227,0703	4",6-Dihidroxi flavona
9	28,6	C ₁₅ H ₁₂ O ₂	224,0837	225,0906	1,7	1	91,0542; 103,0542; 113,0386; 133,0284; 141,0699; 155,0491	4"-Hidroxichalcona
10	31,5	C ₁₄ H ₁₂ O ₂	212,0837	213,0919	3,9	0,8736	103,0542; 105,0335; 115,0542; 129,0699; 141,0699; 165,0699; 183,0804	4,4"-Dihidroxiestilbeno

Metabolitos secundarios identificados en la albura

Peak	tR (min)	Fórmula	MS (exacta)	m/z [M+H]⁺	error (ppm)	Score	Fragmentos (m/z)	Compuesto
1	15,7	C ₁₅ H ₁₄ O ₂	226,0994	227,1057	4,2	0,6783	89,038; 103,054; 105,033	Deoxilapachol
4	20,6	C ₁₅ H ₁₄ O ₄	258,089	259,0956	-4,1	1	171,0441; 181,0859	5-Hidroxilapachol
6	25,2	C ₁₅ H ₁₂ O ₃	240,0786	241,0859	-1,3	1	223,0754	7-Hidroxiflavanona
7	27,1	C ₁₅ H ₁₀ O ₃	238,063	239,0703	6,8	1	105,0335; 133,0284; 182,0726; 193,0648; 209,0597	2-Hidroximetilantraquinona

Anexo 9: Cuantificación de polifenoles

Recta de calibración para la cuantificación de polifenoles



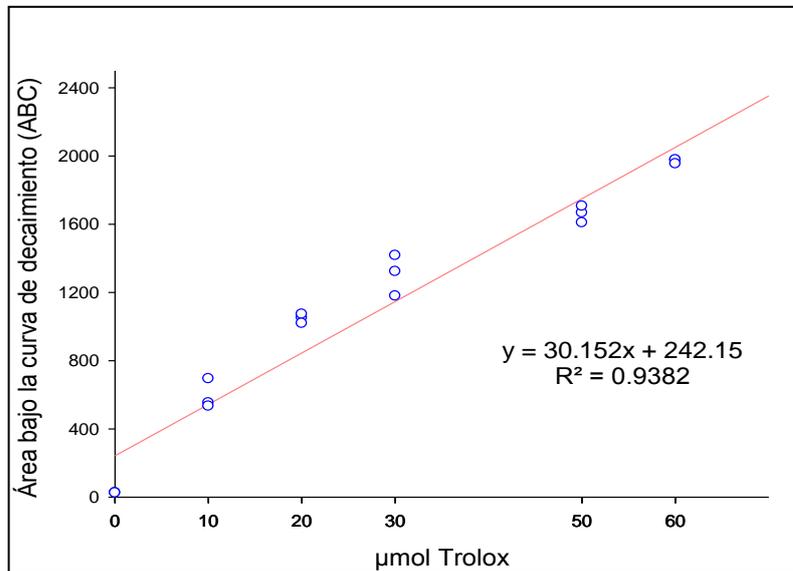
Datos para cuantificar los polifenoles

Tipo de Leño	NIVEL	R	Absorbancia	mg/L AGE	mg AGE /g PS de muestra	PROM.
Duramen	Base	1	0,3533	109,8289	5,4912	5,7146 (3,5443)
		2	0,3733	117,7237	5,8859	
		3	0,3673	115,3553	5,7675	
	Medio	1	0,3543	110,2237	5,5108	5,5828 (1,1363)
		2	0,3603	112,5921	5,6292	
		3	0,3593	112,1974	5,6095	
	Ápice	1	0,3343	102,3289	5,1165	5,3534 (3,8492)
		2	0,3533	109,8289	5,4915	
		3	0,3513	109,0395	5,4520	
Albura	Base	1	0,2283	60,4868	3,0243	3,0901 (2,2431)
		2	0,2353	63,2500	3,1625	
		3	0,2313	61,6711	3,0835	
	Medio	1	0,2083	52,5921	2,6296	2,6361 (4,8713)
		2	0,2023	50,2237	2,5111	
		3	0,2153	55,3553	2,7677	
	Ápice	1	0,1873	44,3026	2,2152	2,2152 (3,5640)
		2	0,1833	42,7237	2,1362	
		3	0,1913	45,8816	2,2941	

El coeficiente de variación se muestra entre paréntesis

Anexo 10: Capacidad antioxidante - ORAC

Recta de calibración para determinar la capacidad antioxidante ORAC



Datos para determinar la capacidad antioxidante ORAC de los extractos

Tipo de Leño	NIVEL	R	(ABC) de decaimiento de fluorescencia	μmol TE	mmol TE/g PS de muestra	PROM.
Duramen	Base	1	1792,9947	51,4342	5,1434	5,29834 (3,0717)
		2	1835,2867	52,8368	5,2837	
		3	1890,8387	54,6792	5,4679	
	Medio	1	1822,5557	52,4146	5,2415	5,2413 (1,2373)
		2	1842,0417	53,0609	5,3061	
		3	1802,9357	51,7639	5,1764	
	Ápice	1	1581,1037	44,4068	4,4407	4,7998 (6,5766)
		2	1759,8097	50,3336	5,0334	
		3	1727,2447	49,2536	4,9254	
Albura	Base	1	1533,5227	42,8288	4,2829	4,2289 (5,6519)
		2	1438,4457	39,6755	3,9676	
		3	1579,7997	44,3635	4,4364	
	Medio	1	1240,8097	33,1208	3,3121	3,1573 (4,2577)
		2	1173,8217	30,8992	3,0899	
		3	1167,7797	30,6988	3,0699	
	Ápice	1	1065,5497	27,3083	2,7308	2,5440 (7,2209)
		2	1007,2967	25,3763	2,5376	
		3	954,82067	23,6359	2,3636	

El coeficiente de variación se muestra entre paréntesis

Anexo 11: Análisis estadístico de la variable pérdida de peso

Procedimiento	ANOVA		
Variable dependiente:	Pérdida de peso (%)		
Factor de variación:	Niveles		
A: Especie de hongo:	<i>P. sanguineus</i>	<i>S. commune</i>	
B: Tipo de leño:	Duramen	Albura	
C: Nivel de altura del fuste:	Base	Medio	Ápice
Numero de observaciones	240		

Fuente	Gl	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor F	Valor P
Efectos principales					
A: Especie hongo	1	4091,64	4091,64	1026,88	< 0,001*
B: Tipo de leño	1	7569,97	7569,97	1899,85	< 0,001*
C: Nivel de altura del fuste	2	55,26	27,63	6,93	0,001*
A*B	1	1111,90	1111,90	279,06	< 0,001*
A*C	2	18,02	9,01	2,26	0,107 ^{n.s.}
B*C	2	8,02	4,01	1,01	0,367 ^{n.s.}
A*B*C	2	3,95	1,98	0,50	0,610 ^{n.s.}
Error	228	908,47	3,98		
Total	239	13767,24	57,604		

(*) Nivel de significación $P < 0,05$ n.s. = no significativo

COMPARACIÓN MULTIPLE DE PARES - PRUEBA DE TUKEY PARA LOS EFECTOS PRINCIPALES: ($P < 0,05$)

Para el factor Especie de hongo: no es necesario por tratarse solo de dos niveles

Para el factor Tipo de leño: no es necesario por tratarse solo de dos niveles

Para el factor Nivel longitudinal del fuste

Comparación	Diferencia de medias	p	Q	P
Ápice vs. Base	1,154	3	5,171	0,001*
Ápice vs. Medio	0,383	3	1,718	0,444 ^{n.s.}
Base vs. Medio	0,771	3	3,453	0,039*

(*) Nivel de significación $P < 0,05$. n.s.= no significativo

Anexo 12: Análisis estadístico de la variable extractivos totales

Procedimiento	ANOVA		
Variable dependiente:	Extractivos Totales (%)		
Factor de variación:	Niveles		
B: Tipo de leño:	Duramen	Albura	
C: Nivel de altura del fuste:	Base	Medio	Ápice
Numero de observaciones	90		

Fuente	Gl	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor F	Valor P
Efectos principales					
B: Tipo de leño	1	292,84	292,84	92,454	<0,001*
C: Nivel de altura del fuste	2	44,67	22,33	7,051	0,001*
B*C	2	0,88	0,44	0,139	0,871 ^{n.s.}
Error	84	266,06	3,17		
Total	89	604,44			

(*) Nivel de significación $P < 0,05$. n.s.= no significativo

COMPARACIÓN MULTIPLE DE PARES - PRUEBA DE TUKEY PARA LOS EFECTOS PRINCIPALES: ($P < 0,05$)

Para el factor Tipo de leño: no es necesario por tratarse solo de dos niveles

Para el factor Nivel de altura del fuste

Comparación	Diferencia de medias	p	Q	P
Base vs. Ápice	1,624	3	4,998	0,002*
Base vs. Medio	1,317	3	4,055	0,014*
Medio vs. Ápice	0,306	3	0,943	0,783 ns

(*) Nivel de significación $P < 0,05$. n.s.= no significativo

Anexo 13: Análisis estadístico de la variable polifenoles totales

Procedimiento	ANOVA		
Variable dependiente:	Polifenoles (mg AGE/g)		
Factor de variación:	Niveles		
B: Tipo de leño:	Duramen	Albura	
C: Nivel de altura del fuste:	Base	Medio	Ápice
Numero de observaciones	18		

Fuente	Gl	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor F	Valor P
Efectos principales					
B: Tipo de leño	1	37,9265	37,9265	1978,15	< 0,001*
C: Nivel de altura del fuste	2	1,1468	0,5734	29,91	< 0,001*
B*C	2	0,2022	0,1011	5,27	0,023*
Error	12	0,2301	0,0192		
Total	17	39,5056	2,324		

(*) Nivel de significación $P < 0,05$

ANOVA DE LOS EFECTOS SIMPLES DE: Tipo de leño y nivel longitudinal del fuste

Fuente	Gl	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor F
Efecto simple del tipo de leño en los niveles de altura del fuste:				
Base	1	10,3319	10,3319	102,1951*
Medio	1	13,0245	13,0245	128,8278*
Ápice	1	14,7722	14,7722	146,1150*
Efecto simple del nivel longitudinal del fuste en los tipos de leño:				
Duramen	2	0,2004	0,1002	0,9912 ^{n.s}
Albura	2	1,1486	0,5743	5,6805*

(*) Nivel de significación $P < 0,05$. n.s. = no significativo

COMPARACIÓN MULTIPLE DE PARES - PRUEBA DE TUKEY: ($P < 0,05$)

Para el factor Tipo de leño: no es necesario por tratarse solo de dos niveles

Para el factor Nivel de altura del fuste

Comparación	Diferencia de medias	Albura		
		p	q	P
Base vs. Ápice	0,875	3	10,944	<0,001*
Base vs. Medio	0,454	3	5,679	0,005*
Medio vs. Ápice	0,421	3	5,266	0,008*

(*) Nivel de significación $P < 0,05$

Anexo 14: Análisis estadístico de la variable capacidad antioxidante - ORAC

Procedimiento	ANOVA		
Variable dependiente:	Capacidad antioxidante ($\mu\text{mol TE/g}$)		
Factor de variación:	Niveles		
B: tipo de leño:	Duramen	Albura	
C: nivel de altura del fuste:	Base	Medio	Ápice
Numero de observaciones	18		

Fuente	Gl	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor F	Valor P
Efectos principales					
B: Tipo de leño	1	14,629	14,629	366,866	< 0,001*
C: Nivel de altura del fuste	2	3,576	1,788	44,844	< 0,001*
B*C	2	1,233	0,616	15,458	< 0,001*
Error	12	0,479	0,399		
Total	17	19,917	1,172		

(*) Nivel de significación $P < 0,05$

ANOVA DE LOS EFECTOS SIMPLES DE: Tipo de leño y nivel de altura del fuste

Fuente	Gl	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Valor F
Efecto simple del tipo de leño en los niveles de altura del fuste:				
Base	1	1715579,4206	1715579,4206	43,0205*
Medio	1	6515240,1436	6515240,1436	163,3787*
Ápice	1	7630905,7518	7630905,7518	191,3556*
Efecto simple del nivel de altura del fuste en los tipos de leño:				
Duramen	2	447109,0658	223554,5329	5,6059*
Albura	2	4362053,3288	2181026,6644	54,6923*

(*) Nivel de significación $P < 0,05$

COMPARACIÓN MULTIPLE DE PARES - PRUEBA DE TUKEY: ($P < 0,05$)

Para el factor Tipo de leño: no es necesario por tratarse solo de dos niveles

Para el factor Nivel de altura del fuste

Comparación	Albura				Duramen			
	Diferencia de medias	p	q	P	Diferencia de medias	p	q	P
Base vs. Ápice	1,685	3	14,612	<0,001*	0,499	3	4,325	0,025*
Base vs. Medio	1,071	3	9,293	<0,001*	0,057	3	0,492	0,936 ^{n.s.}
Medio vs. Ápice	0,613	3	5,320	0,007*	0,442	3	3,833	0,047*

(*) Nivel de significación $P < 0,05$

Anexo 15: Análisis de correlación entre la durabilidad natural y las propiedades fitoquímicas de los extractivos de la madera

Datos utilizados para la correlación de Pearson

FACTOR	PP P.s. (%)	PP S.c. (%)	ET (%)	PT (mg AGE /g)	CA (mmol TE/g)
Dura_Base	10,6168	7,0903	13,4349	5,7146	5,2981
Dura_Medio	11,4020	7,1813	12,2966	5,5828	5,2414
Dura_Ápice	11,6377	7,5255	12,0415	5,3534	4,7995
Albu_Base	25,3012	13,8593	10,1003	3,0901	4,2286
Albu_Medio	27,1803	14,1865	8,6038	2,6361	3,1573
Albu_Ápice	27,7866	14,5338	8,2460	2,2152	2,5440

PP: Pérdida de peso por *P. sanguineus* (%), PP: Pérdida de peso por *S. commune* (%), ET: Extractivos totales (%), PT: Polifenoles (AGE/g) y CA: Capacidad antioxidante (mmol TE/g)

DATOS	P	R	R²
PP P.s – PP S.c	< 0,001*	0,999	0,998
PP P.s – ET	0,002*	-0,962	0,925
PP P.s – PT	< 0,001*	-0,996	0,992
PP P.s – CA	0,011*	-0,912	0,832
PP S.c – ET	0,004*	-0,950	0,903
PP S.c – PT	< 0,001*	-0,993	0,986
PP S.c – CA	0,015*	-0,897	0,805
ET – PT	< 0,001*	0,976	0,953
ET – CA	0,0016*	0,967	0,935
PT – CA	0,0047*	0,943	0,889

R: Coeficiente de correlación, R²: Coeficiente de determinación (*) Nivel de significación P < 0,05