



**UNIVERSIDAD MICHOACANA
DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO**

**FACULTAD DE INGENIERÍA EN
TECNOLOGÍA DE LA MADERA.**



**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
MAESTRÍA EN CIENCIAS Y TECNOLOGÍA DE LA MADERA.**

**Estudio anatómico de la madera de *Dalbergia ruddae* mediante diferentes
técnicas de análisis estructural**

Tesis de maestría

Presenta:

Ing. Fidel Morales Hernández

Director de Tesis:

Dr. Raúl Espinoza Herrera

Morelia Michoacán, Septiembre del 2023

DEDICATORIA

A Dios por darme la fortaleza cuando más lo necesite, por brindarme la dicha de la salud, bienestar físico y espiritual. Por haberme guiado con sabiduría para la elaboración y presentación de este trabajo de investigación.

A mis padres Leticia del Carmen Hernández Martínez y Álvaro Morales Gómez por su apoyo en todo momento de mi vida, por sus enseñanzas, consejos, sacrificios alegrías, tristeza, por su eterna paciencia y perdón ante mis errores; para quienes no tengo palabras para expresarles todo mi amor, todo lo que soy como persona se los debo a ustedes, este éxito les corresponde principalmente a ustedes, mil gracias y lo quiero mucho.

A todos mis hermanos Josué, Jesús, Susana, Fernando y Socorro por el amor, sacrificio, apoyo y compañía durante todo este tiempo, por sus valiosos consejos que me han dado siempre.

A mi novia Andrea paulina por enseñarme a sobreponerme frente a toda adversidad, por ayudarme a crecer y ser mejor persona

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi director de tesis el Doctor Raúl Espinoza Herrera por compartirme sus conocimientos en Anatomía de la madera, por su gran apoyo en la revisión y redacción de esta tesis. Para quien no tengo palabras para agradecerle la disposición incondicional en el desarrollo de este proyecto.

Al Doctor Luis Rafael Olmos Navarrete por compartirme sus conocimientos en Tomografía Computarizada de rayos-X y permitir de esta manera la especialización de mi maestría.

A la ingeniero Teresa García Moreno, una gran persona, por su gran apoyo, orientación y confianza durante esta etapa de mi formación.

A mis amigos de rutas y aventuras que siempre han estado motivándome, a mi gran amigo Bob por enseñarme a sobreponerme ante toda situación, a mi amada Andrea Paulina por motivarme, acompañarme, enseñarme y tenerme toda la paciencia en la recta final de este proyecto.

Al Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Tierra INICIT de la UMSNH, al Laboratorio Universitario de Microtomografía de Rayos X – LUMIR, Centro de Geociencias UNAM y al Laboratorio de Microscopía de la Escuela Nacional de Estudios Superiores Unidad Morelia (ENES) de la UNAM, que a través de su infraestructura permitieron la realización del presente trabajo de investigación.

Son muchas las personas que no menciono en esta lista, pero siempre los recuerdo, las cuales de alguna manera han colaborado en el desarrollo de mi formación, a todos ellos y ellas mis más grandes agradecimientos.

INDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUCCIÓN	3
2. MARCO TEÓRICO	5
2.1 La madera	5
2.2 Técnicas de caracterización de la madera	19
2.2.1 Microscopia Óptica (MO).....	19
2.2.2 Microscopia Electrónica de Barrido (MEB).....	20
2.2.3 Tomografía Computarizada de Rayos X (Tc RX)	22
3. ANTECEDENTES	24
3.1 Generalidades de la especie	24
3.2 Microscopia óptica y MEB	26
3.3 Tomografía Computarizada de Rayos X	27
4. OBJETIVOS	29
5. HIPÓTESIS	29
6. JUSTIFICACIÓN	29
7. MATERIALES Y MÉTODOS	30
7.1 Descripción del material de estudio	30
7.2 Elaboración de material para microscopia óptica	32
7.3 Elaboración de muestras para tomografía computarizada	33
7.4 Elaboración de muestras para Microscopia Electrónica de Barrido	34
7.5 Determinación de elementos estructurales	35
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
9. CONCLUSIONES	49
10. RECOMENDACIONES	50
11. REFERENCIAS	50
12. APÉNDICES	55

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Características analizadas mediante MO, MEB y TCR-X	44
Cuadro 2. Características anatómicas de <i>D. ruddae</i> y <i>D. palo-escrito</i>	45

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Partes del tronco de un árbol	5
Figura 2. Planos de estudio de la madera	6
Figura 3. Tipos de elementos de vaso presentes en la madera	7
Figura 4. Tipos de puntuaciones intervasculares	8
Figura 5. Tipos de placas de perforación en elementos de vaso	9
Figura 6. Arreglo de poros en la madera	10
Figura 7. Porosidad en la madera	11
Figura 8. Tipos de fibras en la madera	11
Figura 9. Parénquima apotraqueal	13
Figura 10. Parénquima leñoso paratraqueal	14
Figura 11. Parénquima marginal	14
Figura 12. Tipos de radios	15
Figura 13. Estratificación en la madera	17
Figura 14. Inclusiones de la madera	18
Figura 15. Esquema de funcionamiento del microscopio óptico	19
Figura 16. Microscopio electrónico de Barrido	21
Figura 17. Esquema de funcionamiento del Tomógrafo de rayos X	23
Figura 18. Ejemplar de <i>D. ruddae</i>	25
Figura 19. Material de estudio de <i>Dalbergia ruddae</i>	30
Figura 20. Madera de <i>Dalbergia ruddae</i>	31
Figura 21. Elaboración de cortes histológicos	32
Figura 22. Elaboración de material disociado	33
Figura 23. Proceso de elaboración de probetas para tomógrafo	34
Figura 24. Tomógrafo Xradia Zeiss Versa 510	34

Figura 25. Muestra para microscopio electrónico de barrido	35
Figura 26. Microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-IT300	35
Figura 27. Cortes transversales de <i>Dalbergia ruddae</i>	37
Figura 28. Microfotografías transversales de <i>Dalbergia ruddae</i>	38
Figura 29. Microfotografías tangenciales de <i>D. ruddae</i>	38
Figura 30. Microfotografías radiales de <i>D. ruddae</i>	39
Figura 31. Elemento de vaso vistos en microscopía óptica	39
Figura 32. Elementos de vaso visto en MEB y TCR-X.....	40
Figura 33. Fibras de <i>D. ruddae</i>	40
Figura 34. Gomas de la madera vistas en diferentes técnicas	41
Figura 35. Cristales de la madera vistas en diferentes técnicas	42
Figura 36. Cristales de <i>D. ruddae</i> vistos en 3D	43

RESUMEN

El estudio microestructural de la madera se ha utilizado con diversos objetivos, dentro de los que destacan la identificación o diferenciación de especies, comprender su comportamiento en procesos de transformación y una vez puesta en servicio, así como también la proyección de usos cuando es una especie recién descubierta. El objetivo del trabajo es explorar las técnicas de microscopía óptica (MO), tomografía computarizada de rayos-X (TCR-X) y microscopía electrónica de barrido (MEB), en la caracterización anatómica de la madera de *Dalbergia ruddae*. Para ello, se realizó el análisis de la madera con las tres técnicas mencionadas. El análisis por MO se realizó a partir de muestras de cortes histológicos. Los cortes se obtuvieron a 30-40 μm de espesor de las caras típicas: transversal, radial y tangencial. Los cortes se tiñeron con safranina lo que permitió observar y cuantificar las células. Para la microscopía electrónica de barrido (MEB) se analizó una muestra con sección transversal de 3x3 mm la cual nos proporcionó información morfológica a diferentes aumentos y de composición química elemental de la madera. Mediante la tomografía de rayos-X se obtuvieron imágenes 3D con vóxeles de 1 y 5 μm . Estas imágenes permitieron la visualización de la forma, trayectoria, acomodo y localización y cuantificación de los elementos u otras sustancias. La MO permite observar la zonación de la madera, porosidad difusa, el parénquima leñoso apotraqueal difuso, paratraqueal aliforme y las fibras de tipo libriformes. Mediante MEB se observaron detalladamente las puntuaciones areoladas en los elementos de vasos y el análisis elemental de las fibras arrojó que se componen de carbono, oxígeno y calcio. A partir de TCR-x se observó la continuidad de los vasos dentro de la madera y adicionalmente se cuantificaron los cristales encontrando una abundancia de 0.11% en 1 mm^3 . Las características determinadas podrían ser de utilidad para diferenciar esta especie, además predecir su posible comportamiento en procesos de transformación de la madera. Es evidente que estas técnicas nos aportan información diferente, la cual es complementaria para obtener una caracterización detallada de la estructura de la madera.

Palabras clave: Identificación de madera, Tomografía de rayos X, Microscopía electrónica de barrido, Microscopía óptica, madera para guitarras.

ABSTRACT

The microstructural study of wood has been used with various objectives, among which the identification or differentiation of species stand out, understanding its behavior in transformation processes and once put into service. As well as the projection of uses, it is a species newly discovered. The aim of the work is to explore the techniques of optical microscopy (MO), X-ray computed tomography (X-TCR) and scanning electron microscopy (SEM), in the anatomical characterization of *Dalbergia ruddae* wood. For this, the analysis of the wood was carried out with the three mentioned techniques. MO analysis was performed from samples of histological sections. The cuts were obtained at 30-40 μm thickness of typical faces: transverse, radial and tangential. The sections were stained with safranin, which allowed the cells to be observed and quantified. For scanning electron microscopy (SEM) a sample with a 3x3 mm cross section was analyzed, which provided us with morphological information at different magnifications and the elemental chemical composition of the wood. By means of X-ray tomography, 3D images with voxels of 1 and 5 μm were obtained. These images allowed the visualization of the shape, trajectory, arrangement and location and quantification of the elements or other substances. OM allows observing the zonation of the wood, diffuse porosity, the diffuse apotracheal woody parenchyma, aliform paratracheal and the fibers of the libriform type. By means of SEM, the areolate scores in the vessel elements and the elemental analysis of the shear fibers, which are composed of carbon, oxygen and calcium, were observed in detail. From TCR-x, the continuity of the vessels within the wood was observed and the crystals were additionally quantified, finding an abundance of 0.11% in 1 mm^3 . The determined characteristics could be useful to differentiate this species, in addition to predicting its possible behavior in wood transformation processes. It is evident that these techniques provide us with different information, which is complementary to obtain a detailed characterization of the structure of the wood.

Keywords: Wood identification, X-ray tomography, Scanning electron microscopy, Optical microscopy, guitar wood.

1. INTRODUCCIÓN

El estudio microscópico de la madera es necesario para la identificación y diferenciación entre especies, comprender su comportamiento en los procesos de transformación y una vez puesta en servicio (Hoadley, 2000). Actualmente, la mayor parte de estos estudios se han realizado empleando técnicas 2D como la Microscopia óptica (MO) y la Microscopia electrónica de barrido (MEB). Las técnicas 2D permiten observar y caracterizar la estructura de la madera, pero limitan el análisis tridimensional del material. Un método alternativo de inspección en estructuras 3D es a través de Tomografía computarizada de rayos-X (TCR-X). En la TCR-X se obtienen datos cuantitativos de un volumen analizado y es posible separar virtualmente las diferentes células de la madera obteniendo información selectiva (Maire et al., 2001; Steppe et al., 2004; Mayo et al., 2010).

El análisis de la anatomía de la madera mediante microscopia óptica y microscopia electrónica de barrido ha sido ampliamente utilizado en gran número de especies. Las dos técnicas permiten obtener imágenes de alta calidad donde se puede realizar caracterización la cualitativa y cuantitativa de los elementos estructurales. En comparación, la TCR-X es una técnica poco explorada en la caracterización en la madera, por lo cual requiere de más estudios para conocer el potencial de esta técnica (Trtik et al. 2007; Olmos et al. 2016).

El género *Dalbergia* es un grupo de amplia distribución a nivel mundial, comprende 250 especies (cervantes, 2019). Algunas maderas de *Dalbergia* han sido conocidas en el comercio durante más de 300 años como maderas preferidas para todo tipo de ebanistería, muebles finos, obras de arte, e instrumentos musicales (Guridi 1996; Richter et al. 1996; Gasson et al. 2010; Yin et al. 2018). Los primeros exploradores del continente americano, se llevaron estas maderas a España y Portugal, donde rápidamente se convirtieron en maderas muy deseadas (Gasson et al. 2010), siendo utilizadas en la decoración de palacios europeos (Espinoza et al. 2015).

En México se conocen 27 especies del género *Dalbergia* (Linares y Sousa, 2007), y algunas presentan un alto valor económico debido a sus excelentes propiedades acústicas, de durabilidad y color. Debido a las excelentes características de las maderas de *Dalbergia*, existe una gran demanda de ellas, lo que ha generado una sobreexplotación, talas clandestinas, lo que ha ocasionado que algunas especies de *Dalbergia*, estén en peligro de extinción. Debido a esto varias de las especies de *Dalbergia*, están incluidas en el apéndice II de la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES), donde todo comercio nacional e internacional está prohibido, excepto para propósitos de investigación científica (Gasson et al. 2010).

La especie de *Dalbergia ruddae*, que se encuentra en México, ha sido de interés comercial, y a pesar de que se encuentra en el apéndice II de CITES, no existe información sobre sus características anatómicas, por lo que es muy difícil su identificación.

El objetivo del presente estudio es implementar técnicas como la microscopía óptica, microscopía electrónica de barrido y tomografía computarizada de rayos X en la caracterización de la madera de *Dalbergia ruddae* para determinar la caracterización de la madera de forma detallada.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 LA MADERA

La madera proviene de un proceso orgánico y posee una estructura celular de elementos lignificados. Las células que constituyen la madera presentan cierta variabilidad en cuanto tamaño, forma, disposición, abundancia y función de acuerdo a las necesidades del árbol. Esta variabilidad se debe al resultado de las necesidades fisiológicas, mecánicas y de las condiciones del clima y suelo que predominaron durante el desarrollo del árbol, (Rowell, 2005).

Las diferentes células que constituyen a la madera poseen una fase intercelular de espacios vacíos que funciona como recipiente ocupado por aire u otras sustancias como el agua. Esta condición hace de la madera un material heterogéneo y anisótropo, con propiedades diferentes de acuerdo a la dirección considerada que a su vez afecta cada una de sus propiedades (Hoadley, 2000).

La función de la estructura se divide principalmente en soporte mecánico y medio de transporte o almacenamiento. Por ejemplo, las punteaduras tienen gran importancia en la funcionalidad del sistema de transporte de agua, las placas de perforación en los vasos permiten el flujo de líquidos, el espesor de la pared celular de las fibras tiene una relación directa con las propiedades físico-mecánicas (Bárcenas et al, 2014).

2.1.1 ESTRUCTURA DEL TRONCO

Un árbol está constituido por varias capas concéntricas con diversas funciones. Cuando se corta el tronco de un árbol en forma perpendicular a su longitud y se observa cuidadosamente puede llegarse a distinguir las capas que se ilustran en la figura 1.

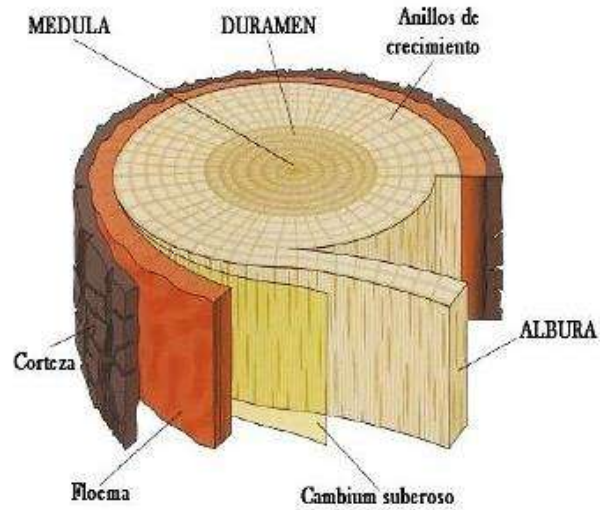


Figura 1. Partes del tronco de un árbol (Anatomy, 2020).

Corteza externa: es la capa exterior que reviste al tronco, está formada por células muertas que protegen al árbol de daños físicos, desecamiento, ataques fúngicos, fuego y cambios climáticos.

Corteza interna: está constituida por el floema, es el conjunto de tejidos vivos especializados en la conducción de savia elaborada.

Cambium: es una capa delgada formada por pocas células de espesor. Es el tejido generatriz de casi la totalidad de las células que forman al tronco, siendo el responsable del crecimiento en grosor del árbol.

Albura: es la parte fisiológicamente activa por la cual se conduce la savia bruta (agua y sales minerales) en forma ascendente hasta las hojas. Esta capa casi siempre es de color más claro que el duramen.

Duramen: es el tejido leñoso formado por células inactivas fisiológicamente, es de coloración más oscura que la albura. El duramen posee casi siempre mayor resistencia a la pudrición, debido a las sustancias químicas que puede contener (taninos, resinas, grasas, sustancias fenólicas, quinonas, alcaloides, saponinas y colorantes). No todos los árboles presentan diferencia de coloración entre albura y duramen.

Médula: es la zona que debe ocupar el centro del tronco, es de consistencia frágil (por estar formada por células de parénquima, las cuales pueden ser cuadradas o esféricas de pared muy delgada) o hasta hueca en segmentos. Respecto a la forma de la medula puede ser circular, elíptica, cuadrada, triangular y en forma de estrella, (Hoadley, 2000; Giménez *et al*, 2005).

2.1.2 PLANOS DE ESTUDIO DE LA MADERA

La observación de las características anatómicas de la madera se realiza en tres diferentes planos o superficies. Estos son los llamados planos de observación o de corte de la madera. En general, como se muestra en la figura 2 existen tres planos uno transversal y dos en sentido longitudinal. Estos últimos son el plano radial y el plano tangencial. También son conocidos con el nombre de sección transversal (X), sección radial (R) y sección tangencial (Tg).

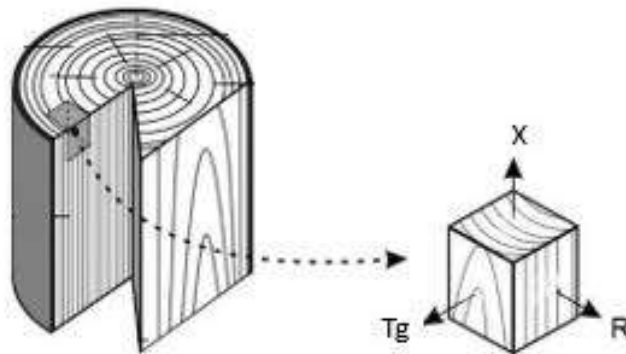


Figura 2. Planos de estudio de la madera
(Modificado de Feijo et al, 2018).

Superficie transversal (X). Es el que se obtiene al hacer un corte perpendicular al eje longitudinal del tallo o muestra de madera.

Superficie radial (R). Se obtiene al hacer un corte paralelo al eje longitudinal del tallo, en donde el mismo es paralelo a los radios o perpendicular a los anillos de crecimiento.

Superficie tangencial (Tg). Se obtiene al hacer un corte paralelo al eje longitudinal del tallo o muestra en donde el mismo es perpendicular a los radios o tangente a los anillos de crecimiento (Hoadley, 2000).

2.1.3 ESTRUCTURA ANATÓMICA DE LA MADERA DE LATIFOLIADAS

La madera de latifoliadas es compleja ya que en su estructura existe mayor especialización y diversidad de elementos constitutivos, que en el caso de las coníferas. De manera general esta estructura se compone de vasos, fibras, parénquima leñoso, parénquima radial y en algunas especies se encuentran presentes conductos gomíferos, laticíferos o taníferos (Wheeler *et al.*, 1989; Giménez *et al.*, 2005).

Elementos vasculares. Son los elementos estructurales más característicos de la madera de latifoliadas, están formados por cadenas de elementos de vaso uno a continuación de otro, formando un sistema de conducción ascendente y pueden ocupar del 10 al 40% de la madera (Figura 3).

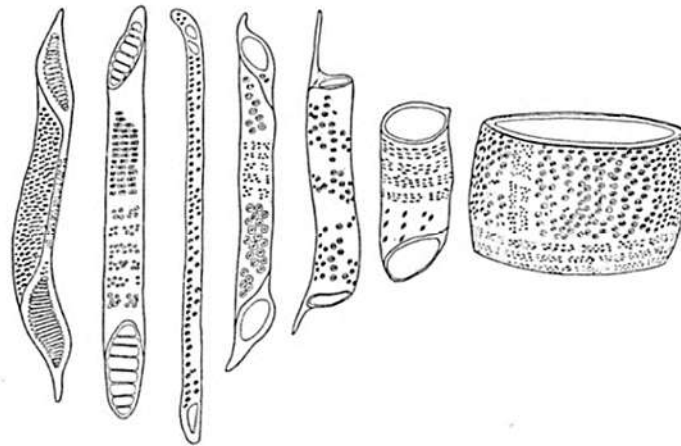


Figura 3. Tipos de elementos de vaso presentes en la madera (Giménez et al, 2005).

Wheeler *et al.* (1989) establecen la clasificación de los elementos de vaso de acuerdo a su longitud:

- Extremadamente cortos < 175 μm
- Muy cortos 175 – 200 μm
- Moderadamente cortos 250 - 350 μm
- Medianos 350 – 800 μm
- Moderadamente largos 800 – 1100 μm
- Muy largos 1100 – 1900 μm
- Extremadamente largos > 1900 μm

Los elementos de vaso presentan punteaduras entre uno y otro lateralmente, formando pares de punteaduras intervasculares, las cuales son más abundantes en las caras tangenciales. El arreglo de dichas punteaduras puede ser; alterno, opuesto y escaleriforme (Figura 4).

La clasificación del tamaño de las punteaduras intervasculares (alternas y opuestas) es:

- Diminutos $\leq 4 \mu\text{m}$
- Pequeños 4–7 μm
- Medianos 7–10 μm
- Grandes $\geq 10 \mu\text{m}$

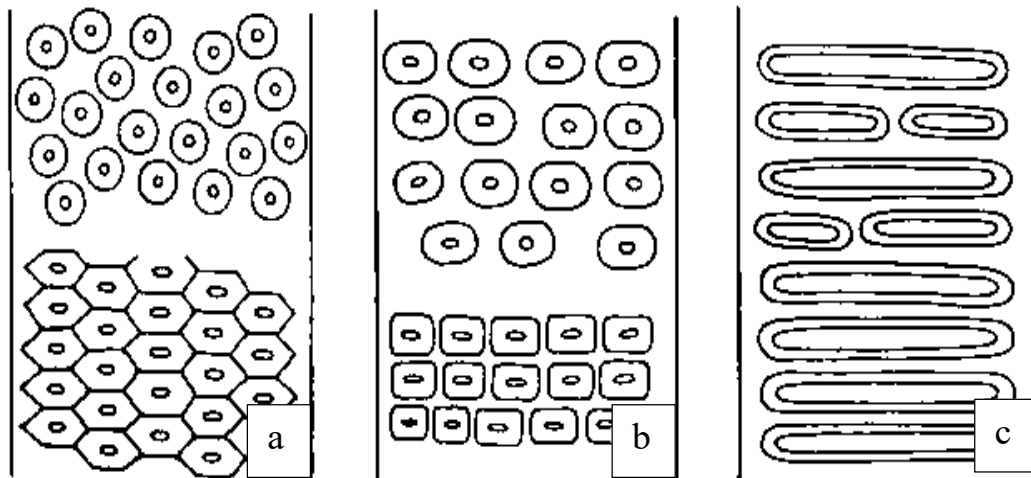


Figura 6. Tipos de punteaduras intervasculares: a) Alternas, b) Opuestas, c) Escaleriformes (Giménez et al, 2005).

La circulación de sustancias a través de los elementos de vaso se efectúa por sus extremidades, las cuales se le denomina platina o placa a de perforación y pueden ser de los siguientes tipos:

- Simples: presenta una sola y gran perforación, se presentan con mayor frecuencia que los otros tipos y pueden caracterizar a familias enteras.
- Escaleriforme: con numerosas perforaciones, en una misma placa, dispuestas en series paralelas.
- Reticulada: cuando las perforaciones de una misma placa, se disponen en forma de red.
- Foraminada: las perforaciones de la placa son casi circulares (Figura 5).

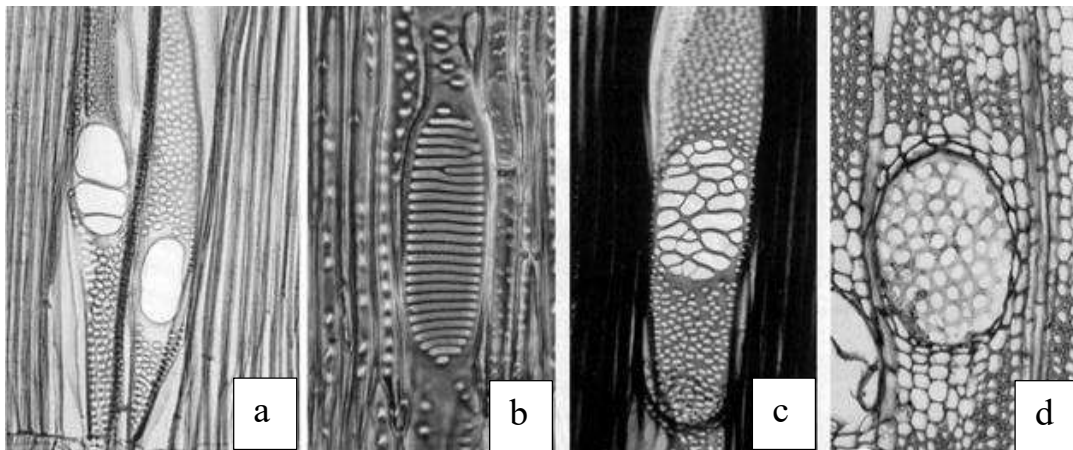


Figura 8. Tipos de placas de perforación en elementos de vaso. a) simple, b) Escaleriforme, c) Reticulada y d) Foraminada (Wheeler et al., 1989).

En sección transversal, los vasos reciben el nombre de “poros” y su distribución, disposición, abundancia, tamaño y agrupamiento son características importantes en la identificación de especies, calidad de la madera (peso específico, densidad) y también en el secado e impregnación (Wheeler *et al.*, 1989).

La clasificación de la abundancia de poros/mm² es:

- | | |
|--------------|-------------------------|
| • Menos de 2 | Muy pocos |
| • 2 -5 | Pocos |
| • 5 – 10 | Moderadamente pocos |
| • 10 - 20 | Moderadamente numerosos |

- 20- 40 Numerosos
- Más de 40 Muy numerosos

La clasificación del diámetro tangencial de poros es:

- 25 – 100 μm Pequeños
- 100 – 200 μm Medianos
- 200 - 300 μm Grandes

Arreglo de los poros. Se refiere a la forma como se distribuyen los poros en la cara transversal de la madera (Wheeler *et al.*, 1989; Giménez *et al.*, 2005), de acuerdo a la clasificación pueden ser de tipo: Solitarios, múltiples radiales, múltiples tangenciales, en diagonal y agrupados (figura 6).

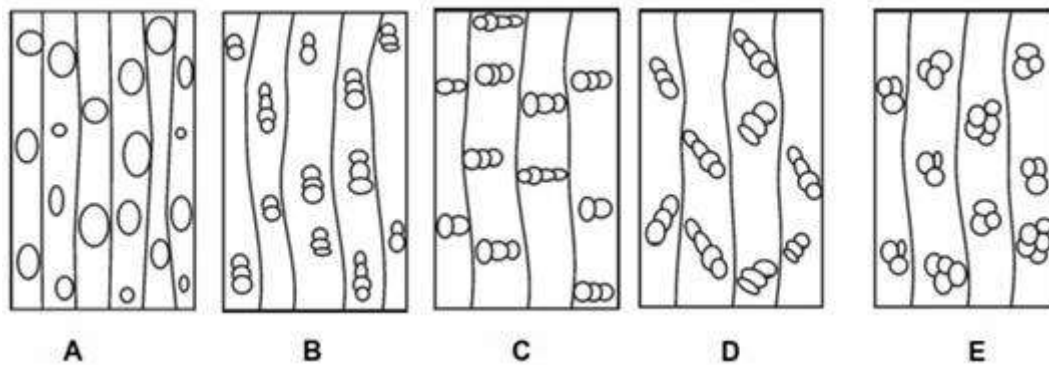


Figura 9. Arreglo de poros en la madera: A) Solitarios; B) Múltiples radiales; C) Múltiples tangenciales; D) Múltiples Diagonales; E) Agrupados (Giménez et al, 2005).

La disposición de los poros en la madera se denomina **porosidad** (figura 7). Esta característica se determina por la disposición y el cambio de diámetro de los poros a través de una zona de crecimiento (Wheeler *et al.*, 1989). La porosidad se clasifica de la siguiente manera:

- **Porosidad circular.** Se presenta cuando se observa una concentración de los poros en el inicio del período vegetativo, además se observa una brusca disminución del diámetro de poros dentro de la zona de crecimiento.
- **Porosidad semicircular.** Se presenta cuando en los poros se observa una disminución gradual del diámetro de los poros dentro de la zona de crecimiento.

- **Porosidad difusa.** Se presenta cuando los poros están dispersos a lo largo de las zonas de crecimiento y presentan diámetro variable.

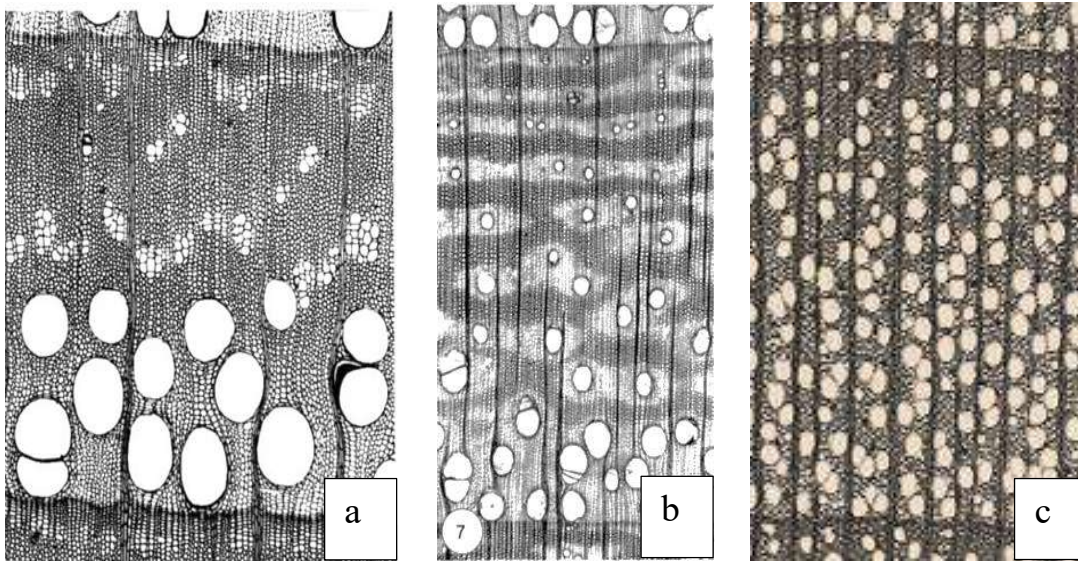


Figura 12. Porosidad en la madera. a) Circular, b) Semicircular y c) Difusa (Wheeler et al., 1989).

Las Fibras

Las fibras son células alargadas y estrechas, con los extremos en forma en punta (figura 8). Las fibras pueden presentar punteaduras simples en el caso de las fibras libriformes o puntuación areolada en las fibrotraqueidas. Las fibras constituyen el tejido de soporte del árbol y son las principales responsables del comportamiento físico y mecánico de la madera de las latifoliadas, ocupan del 30 al 70% de la madera (Giménez *et al*, 2005).



Figura 13. Tipos de fibras en la madera (adaptado de Myburg y Lev-Yadun, 2001).

La clasificación de la longitud de la fibra es:

- < 500 μm Extremadamente cortas
- 500 – 700 μm Muy cortas
- 700 - 900 μm Moderadamente cortas
- 900 – 1600 μm Medianas
- 1600 – 2200 μm Moderadamente largas
- 2200 – 3000 μm Muy largas
- > 3000 μm Extremadamente largas

La clasificación del diámetro de fibra es:

- Menor a 25 μm Finas
- 25 - 40 μm Medianas
- Mayor a 40 μm Anchas

La clasificación del espesor de pared de la fibra es:

- Muy delgadas: Cuando el lumen ocupa $\frac{3}{4}$ o más del diámetro de la fibra
- Delgadas: Cuando el lumen ocupa de $\frac{3}{4}$ a $\frac{1}{2}$ del diámetro de la fibra
- Gruesas: Cuando el lumen ocupa de $\frac{1}{2}$ a $\frac{1}{3}$ del diámetro de la fibra
- Muy gruesas: Cuando el lumen es menor a $\frac{1}{3}$ del diámetro de la fibra

Células parenquimatosas

Estas células tienen la función de almacenar sustancias nutritivas. Son células de paredes delgadas con puntuaciones simples. Tienen forma cilíndrica, se presentan en sentido longitudinal el parénquima leñoso y en sentido radial los radios (Wheeler *et al.*, 1989). En los cortes histológicos se distinguen como elementos de color más claro.

Parénquima leñoso. Ocupan del 5-30% del tejido leñoso, se distinguen en las secciones transversales y pueden ser de tipo apotraqueal, paratraqueal y marginal.

1. Parénquima apotraqueal. Es cuando el parénquima no está asociado a los poros (Figura 9)

- Difuso: Cuando las células están aisladas o dispersas entre las fibras.
- Difuso agregado: cuando se forman pequeños grupos de células en líneas cortas discontinuas.
- En Bandas: son bandas de células aisladas dentro de la zona de crecimiento.

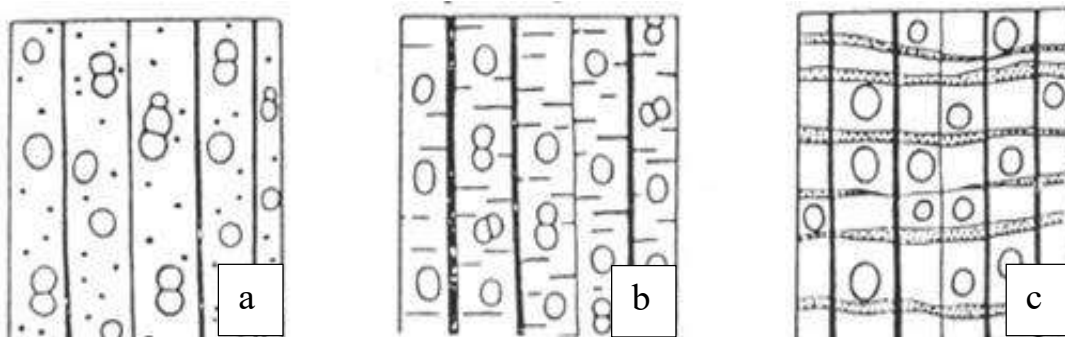


Figura 15. Parénquima apotraqueal. a) Difuso, b) Difuso agregado, c) En bandas (Giménez et al, 2005).

2. Parénquima leñoso paratraqueal. Se presenta cuando el parénquima está asociado a los poros (Figura 10).

- Paratraqueal escaso: células parenquimáticas aisladas alrededor de los poros.
- Paratraqueal unilateral: células parenquimáticas parcialmente alrededor del poro.
- Paratraqueal vasicéntrico: células parenquimáticas completamente alrededor del poro.
- Paratraqueal aliforme: células parenquimáticas con extensiones en forma de alas.
- Paratraqueal aliforme confluyente: células parenquimáticas con extensión de las alas formando bandas.
- Paratraqueal en bandas confluentes: células parenquimáticas formando bandas tangenciales o diagonales irregulares.

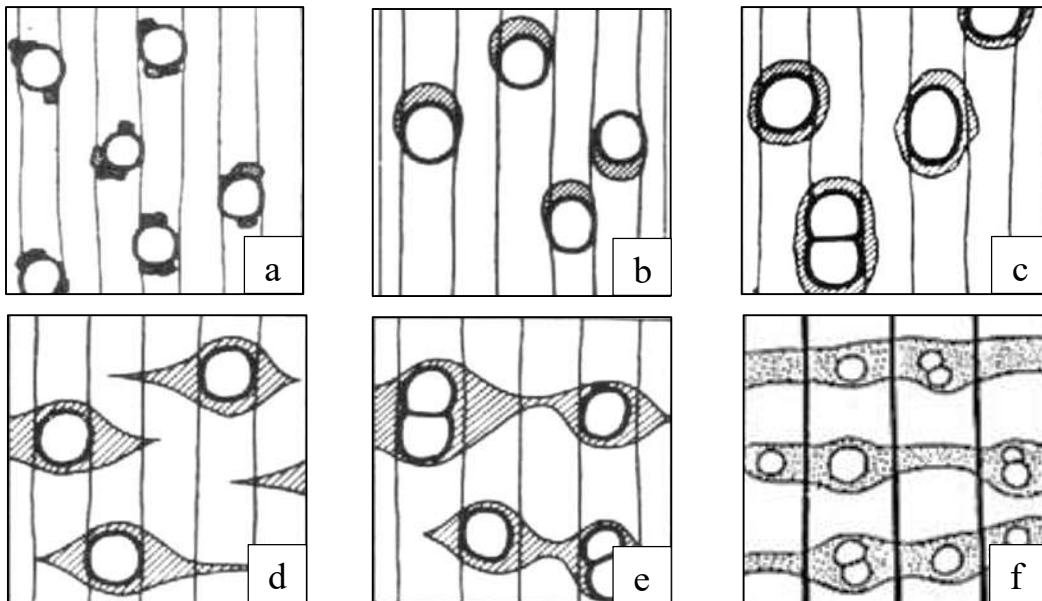


Figura 17. Parénquima leñoso paratraqueal. a) escaso, b) unilateral, c) vasicéntrico, d) aliforme, e) aliforme confluyente, f) en bandas (Giménez et al, 2005).

3. **Parénquima marginal.** Cuando está localizado al inicio de una zona de crecimiento se denomina marginal inicial y cuando se encuentra al final se le conoce como marginal terminal (Figura 11).

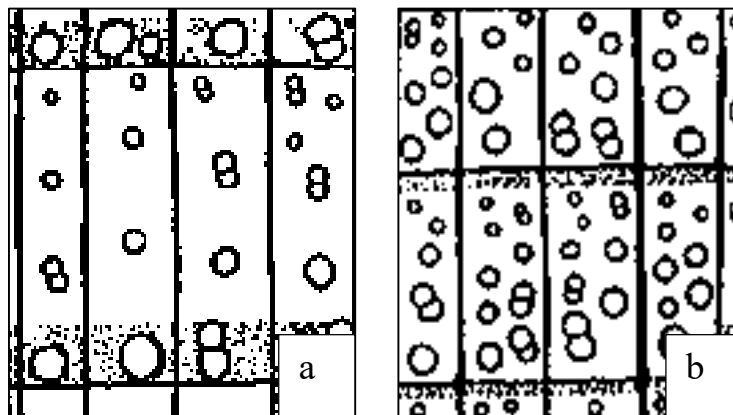


Figura 20. Parénquima marginal. A) Marginal inicial, b) Marginal terminal (Giménez et al, 2005).

Parénquima radial (Rayos)

Los radios de las latifoliadas tienen la función de almacenamiento y conducción transversal de las sustancias nutritivas. Presentan gran variedad en forma, tamaño y número de células (figura 12). Los radios por el tipo de células que los constituye se clasifican en:

- Radios Homogéneos: formados por un único tipo de células. Normalmente se refiere el término homogéneo a radios cuyo tejido está formado por células horizontales o procumbentes.
- Radios Heterogéneos: están formados por más de un tipo de células: procumbentes y verticales, en diversas combinaciones.

Los radios homogéneos y heterogéneos pueden ser uniseriados, es decir constituidos por una hilera de células en la sección tangencial; o multiseriados formados por dos o más hileras de células.

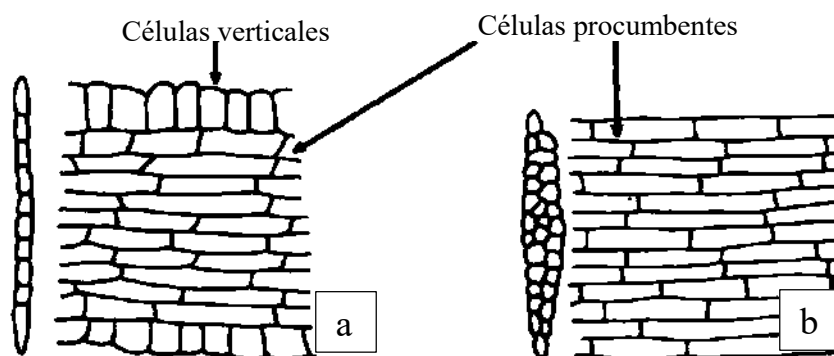


Figura 12. Tipos de radios. A) Uniseriado heterogéneo, b) Multiseriado homogéneo (Giménez et al, 2005).

La clasificación de la altura de radios poliseriados es:

- | | |
|-------------|-------------------------|
| • Muy bajos | hasta 200 μm |
| • Bajos | 200 – 500 μm |
| • Medianos | 500 – 800 μm |
| • Altos | 800 – 2 mm |
| • Muy altos | Más de 2 mm |

La clasificación del ancho de radios poliseriados es:

- Muy angostos hasta 25 μm
- Moderadamente angostos 25 – 50 μm
- Medianos 50 – 100 μm
- Moderadamente anchos 100 – 200 μm
- Muy anchos Más de 200 μm

La clasificación de la abundancia de radios/mm es

- Muy pocos Hasta 2
- Pocos 2 – 4
- Pocos numerosos 4 – 7
- Numerosos 7 – 10
- Muy abundantes 10 – 15
- Extremadamente numerosos Más de 15

Estructura estratificada

En especies más evolucionadas los elementos axiales pueden estar organizados formando franjas horizontales regulares o estratos (Wheeler *et al.*, 1989), esto es más evidente en cortes tangenciales (figura 13). La estratificación puede ser de tipo:

- Estratificación parcial: se presenta cuando algunos elementos estructurales de la madera (radios parénquima leñoso, fibras y elementos de vaso) están organizados en capas.
- Estratificación total: se presenta cuando todos los elementos de la madera (radios, parénquima leñoso, fibras y elementos de vaso) están organizados en capas.

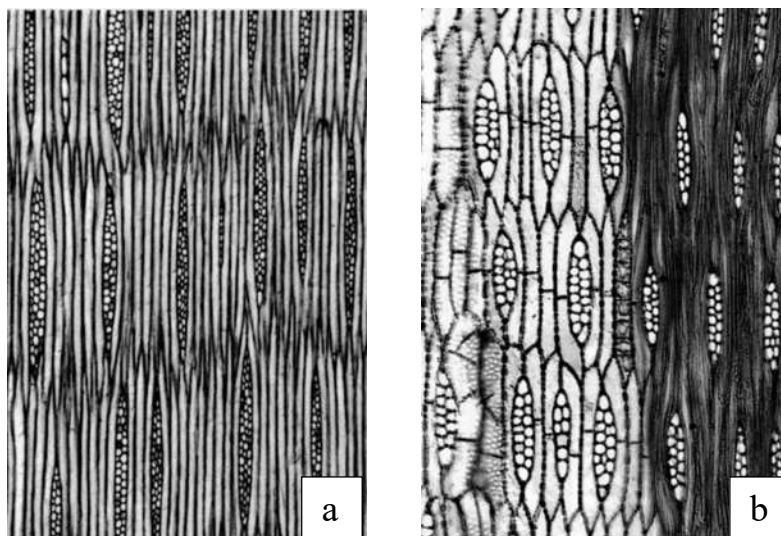


Figura 13. Estratificación en la madera. a) Estratificación parcial, b) Estratificación total (Wheeler et al., 1989).

La clasificación de la estratificación de los radios es:

- Bastos 2 filas o menos por mm
- Medios 3-6 filas por mm
- Finos Más de 6 filas por mm

Inclusiones

Las inclusiones en la madera, son elementos que constituyen un aspecto importante de la madera desde el punto de vista tecnológico y de diagnóstico. Las inclusiones en la madera son a menudo son gomas y cristales, aunque también puede haber látex en conductos laticíferos y depósitos de ceniza o calcio, así como azúcares y almidones dentro de las fibras y del parénquima leñoso. En la figura 14, se presentan diferentes tipos de inclusiones, cristales, tilosis y gomas. Las gomas se encuentran a menudo dentro de los vasos y el parénquima leñoso o parénquima radial. Los cristales son de diversas formas y tipos, a menudo se localizan dentro del parénquima radial y dentro de células del parénquima leñoso. Además de los cristales, puede haber en la madera otras sustancias orgánicas como compuestos fenólicos e inorgánicos (carbonatos, sulfatos, oxalatos). La tílido o tilosis, este es un material membranoso que ocluye parte o la totalidad del lumen de los elementos vasculares. Es el resultado de la excrecencia de una célula

parenquimatosa radial o leñosa, a través de la cavidad de una puntuación (Wheeler *et al.*, 1989; Giménez *et al.*, 2005).

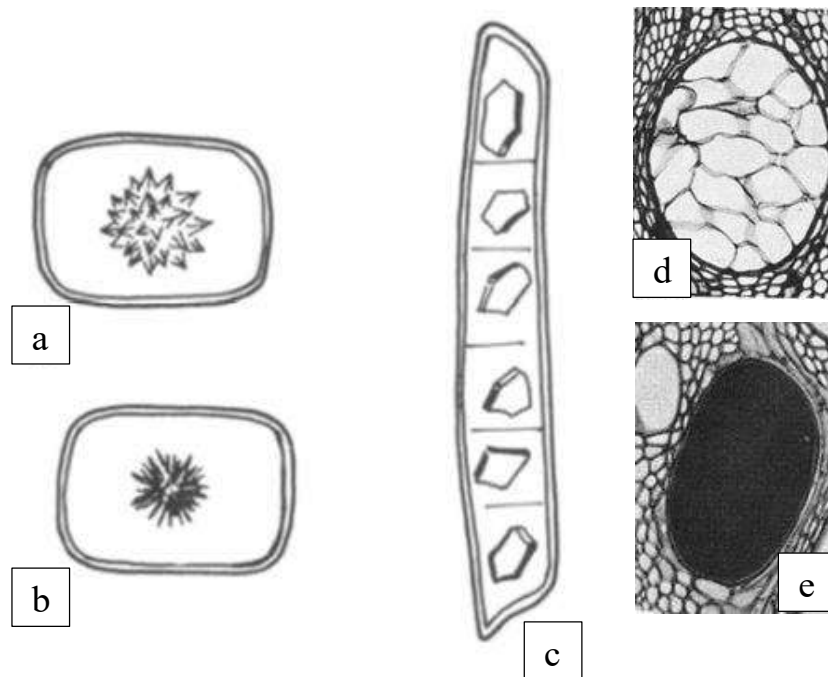


Figura 14. Inclusiones de la madera. a) y b) Cristales en forma de drusa, c) Cristales prismáticos en hilera, d) Tilosis, e) Goma (Wheeler *et al.*, 1989; Giménez *et al.*, 2005).

2.2 TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN DE LA MADERA

2.2.1 Microscopia Óptica (MO)

La microscopía óptica ha sido de gran utilidad en los campos de la ciencia donde la estructura y la organización microscópica es importante, nos permite conocer la microestructura de las muestras mediante la interacción con un haz de luz (fotones). La información que se obtiene a través del estudio al microscopio óptico es muy significativa para identificar y caracterizar los materiales, así como para establecer las técnicas empleadas en su preparación o niveles de degradación de los mismos (Ubero, 2020).

El principio de funcionamiento de un microscopio óptico se basa en la propiedad de algunos materiales que permiten cambiar la dirección de los rayos de luz (Figura 15). En el caso de un microscopio óptico se genera la imagen aumentada al hacer converger o divergir los rayos de luz partir de distintas lentes; algunos montados en el objetivo del microscopio y otros en el ocular. Primeramente, las lentes del objetivo generan una imagen real aumentada de la muestra, esta imagen es a continuación ampliada mediante las lentes del ocular dando lugar a una imagen virtual de tamaño superior a la muestra original. Los aumentos en MO vienen dados por el producto de la magnificación de los oculares con la de las lentes-objetivos (Fernández, 2020; SCAI, 2016).

Un elemento esencial para el funcionamiento del microscopio óptico es la luz, por este motivo los microscopios ópticos vienen equipados con un foco de luz y un condensador para focalizar un haz de luz hacia la muestra. Una vez la luz ha atravesado la muestra, las lentes son las encargadas de desviar esta luz de forma correcta para generar la imagen aumentada (Fernández, 2020).

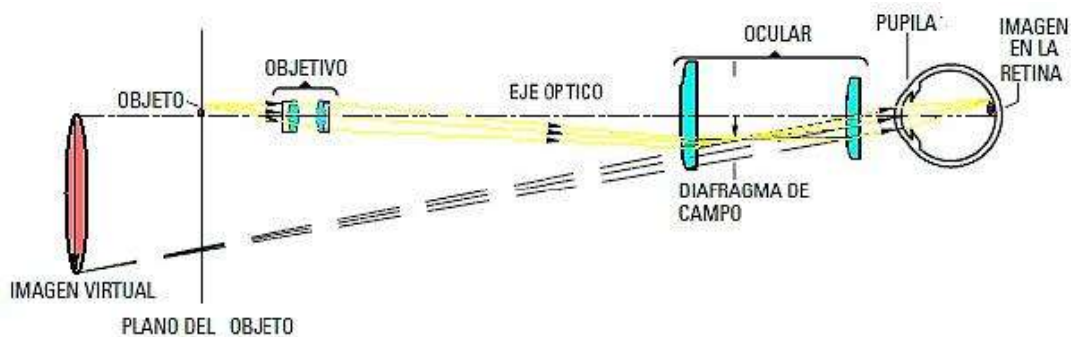


Figura 15. Esquema de funcionamiento del microscopio óptico (Fernández 2020).

2.2.2 Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)

La microscopía electrónica de barrido es una técnica de obtención de imágenes ampliamente utilizada debido a su alta resolución y capacidades de analizar características morfológicas, estructurales y químicas de las muestras bajo estudio. Esta técnica de caracterización superficial ha sido empleada en campos como biología, materiales, ciencias ambientales, geociencias, etc. La MEB permite observar muestras con una resolución de 4 nanómetros con magnificaciones entre 5X - 300,000X (Clavijo, 2013). Se requieren dos condiciones para analizar muestras en

un MEB, uno que la muestra se encuentre libre de humedad y que sea conductiva. Las muestras no conductoras necesitan una cubierta metálica para lograr su observación, generalmente una cubierta de oro o con carbono (Ipohorski y Patricia, 2013).

Un equipo de MEB se encuentra principalmente compuesto por un emisor de electrones, una columna y diferentes lentes electromagnéticas. La función del emisor es generar un haz de electrones con energías entre 300 y 30000 eV, el cual viaja a través de la columna (Vacío de 10^{-4} Pa). En la columna el haz de electrones pasa a través de las diferentes lentes electromagnéticas y un sistema de deflexión que permite manipular el haz de electrones y hacerlo incidir para llevar a cabo un barrido superficial de la muestra (Clavijo, 2013), este esquema de funcionamiento se aprecia en la figura 16.

Una vez que los electrones incidentes interaccionan con la superficie de la muestra se generan diferentes señales: electrones secundarios (SE), electrones retro-dispersados (BSE) y rayos X. Estas señales son capturadas por distintos dispositivos detectores que registran cada uno la cantidad de electrones detectados y nos brindan información específica, los rayos secundarios producen imágenes de morfología superficial de la muestra, los electrones retro-dispersados producen imágenes con diferente brillantez en función de la composición química y topografía de la superficie y los rayos X proveen información cualitativa de composición química de la muestra de manera rápida y eficiente, realizando un análisis semi-cuantitativo de los elementos detectados (Ipohorski y Patricia, 2013), con este tipo de información generada se puede obtener información morfológica, textura y de composición química elemental de la muestra.

La microscopía electrónica de barrido es una técnica que permite caracterizar una gran variedad de materiales, como nano-estructurados, aleaciones metálicas, polímeros, minerales, fibras, películas delgadas, biomateriales, etc. Los nuevos microscopios electrónicos de barrido pueden operar en condiciones de alto Vacío (10^{-6} torr), bajo Vacío (10^{-2} a 1 torr) y modo ambiental (1 a 20 torr), permitiendo estudiar muestras con un alto contenido de humedad. La ventaja de las modalidades bajo vacío y ambiental es que se pueden analizar muestras sin necesidad de preparación previa, como el metalizado o secado (Hanako, 2020).

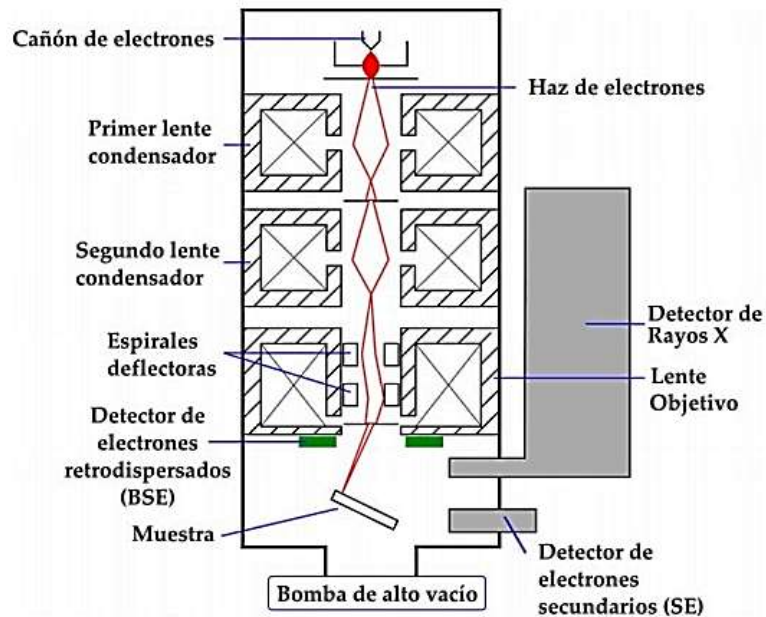


Figura 16. Microscopio electrónico de Barrido (adaptado de Clavijo, 2013).

2.2.3 Tomografía computarizada de rayos X (TCR-X)

La tomografía computarizada es una técnica de diagnóstico por imagen basada en rayos X que permite obtener imágenes 2D y 3D de diferentes tipos de estructuras. Desde su introducción ha experimentado sucesivos avances que han hecho posible la aplicación en diferentes campos. Esta técnica posee la ventaja de analizar las muestras sin necesidad de pretratamientos (Caeiro et al., 2015).

La TCR-X se basa en la atenuación que sufre un haz de fotones de rayos-X al atravesar un espesor de materia. Cuando un haz de fotones atraviesa un material, sufren interacciones que dependen de su energía y las propiedades (la densidad y el número atómico) del material que está siendo irradiado. El espectro de rayos-X generado es dirigido hacia un detector de rayos-X y dentro de esta trayectoria es colocado el objeto de estudio, los fotones inciden sobre el detector, dispositivo de carga acoplada (CCD) con propiedades fotoeléctricas (capta fotones y libera electrones), los electrones liberados en el CCD cargados negativamente son atraídos y

congregados alrededor de los electrodos; cada electrodo corresponde a un elemento del mosaico digital o imagen, conocidos como pixel. Posteriormente se lleva a cabo la operación de traspaso de electrones a un canal de lectura (hilera de electrodos sin electrones acumulados) y de ahí a un amplificador de salida donde se hace el recuento de electrones para que la imagen quede codificada numéricamente (Hsieh, 2009; Landis, 2010), (figura 17).

El análisis de la estructura de la madera es relativamente moderno, las ventajas de esta técnica de análisis son: se obtiene una visión tridimensional de la estructura interna y se pueden realizar análisis in-situ de las muestras, segmentación de fases. Por otra parte, el reducido campo de visión de estudio, y la necesidad de equipo especializado son desventajas de la técnica (Ballesteros *et al.*, 2013; Olmos *et al.*, 2016).

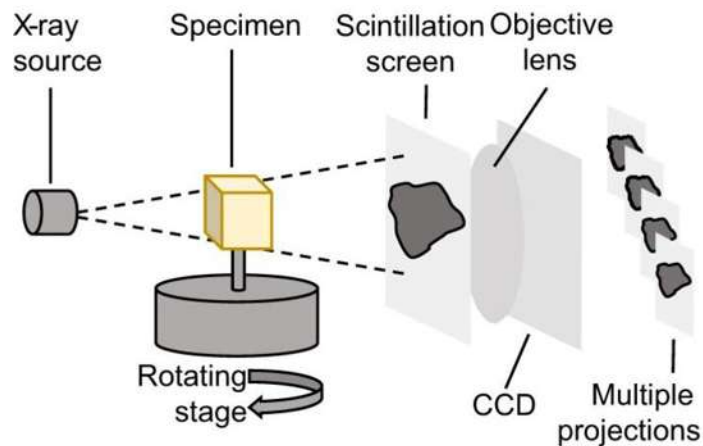


Figura 17. Esquema de funcionamiento del Tomógrafo de rayos X (Adaptado de Shearer *et al.*, 2016).

3. ANTECEDENTES

3.1 GENERALIDADES DE LA ESPECIE

3.1.1 Distribución

Dalbergia ruddae se ha encontrado en la región costera de Chiapas en el área del Soconusco, entre los municipios de Escuintla, Acacoyagua y la Esperanza. La especie crece en regiones perteneciente a selva alta perennifolia, donde predominan suelos arenosos y húmedos, muy cerca de la costa y en vegetación riparia. Los arboles llegan a alcanzar hasta los 25 m de altura y 40 cm de diámetro (Linares y Sousa, 2007).

3.1.2 Descripción botánica

***Dalbergia ruddae* J. Linares & M. Sousa.**

Nombres comunes: Corazón bonito, Tepenahuastle, Frijolillo.

Es un árbol de crecimiento lento, llega a medir de 7 - 25 m de altura. Desarrolla un fuste limpio de hasta 6 m, con diámetros de 80 cm. El árbol presenta una copa amplia con ramas fértiles, estriadas y ligeramente negruzcas (Figura 18 a). La corteza es fisurada de color castaño-grisáceo comúnmente con abundante musgo (Figura 18 c). Las hojas miden de 19-32 cm, son densas o medianamente pubescente; los folíolos son de ovados a oblongo-elípticos, la base ligeramente oblicua, cuneada a obtusa, el borde liso, el ápice agudo a acuminado y la nervadura central prominente por el envés (Figura 18 b). Las inflorescencias son panículas axilares, relativamente densas, originadas en ramas muy jóvenes. Los frutos son vainas oblongas de color claro pajizos a café al madurar, atenuados hacia la base y mucronados en el ápice. La especie florece de enero a febrero y fructifica probablemente de octubre a diciembre, (Linares, 2007).



Figura 18. Ejemplar de *D. ruddae*: a) árbol, b) hojas y vainas, c) corteza (Fuente: autor).

3.1.3 Usos

En México la madera del genero *Dalbergia* madera ha sido usada de manera tradicional para la construcción de muebles y artesanías desde la época virreinal (Linares y Sousa, 2007; Cervantes, 2016), construcciones rústicas (palapas) en las costas del Pacífico de México. Las excelentes propiedades acústicas de este recurso hacen que sea empleada en la construcción de instrumentos musicales como lo son: teclas de marimba, instrumentos musicales como guitarras y mandolinas (Guridi, 1996).

3.1.4 Importancia de la especie

- Ecológica: Se ha reportado que las especies del género *Dalbergia* establecen relaciones simbióticas con rizobios para la fijación de nitrógeno. Esta función tiene un papel importante en los ecosistemas ya que mejora la fertilidad de los suelos.
- Económica: Las especies maderables del género *Dalbergia* se distinguen porque su duramen es considerado de alto valor económico por su belleza, durabilidad y excelentes propiedades físicas, mecánicas y acústicas (Cervantes, 2016). Así mismo, producen metabolitos antimicrobianos y antifúngicos (Barragán-Huerta *et al.*, 2004; Rutiaga-Quiñones *et al.*, 2010), además de tener propiedades antibióticas, antioxidantes y actividades citotóxicas.

3.2 Microscopia óptica y Microscopia electrónica de Barrido

El análisis de la anatomía de la madera mediante microscopía óptica y microscopía electrónica de barrido ha sido ampliamente utilizado para la caracterización, identificación y separación de especies, así mismo para detectar cambios en la morfología estructural de la madera sujeta a algún tratamiento.

Gasson *et al.*, (2010), utilizan la microscopia óptica para caracterizar anatómicamente la madera de *Dalbergia nigra* y establecer que la frecuencia de poros (poros/mm²) y la abundancia de rayos (radios /mm) como caracteres de valor diagnóstico para diferenciar a *D. nigra* de *D. cearensis* y *D. miscolobium* respectivamente.

Wiemann y Ruffinatto, (2012), estudian las características anatómicas, algunas propiedades físicas y la fluorescencia del duramen de *D. stevensonii* y *D. tucurensis* con la finalidad de diferenciar ambas especies. Encontrando que anatómicamente son muy similares y el único

carácter que ayuda a su separación es la densidad, la cual es mayor en *D. stevensonii* 0.93–1.17 g/cm³ y 0.65–0.82 g/cm³ para *D. tucurensis*.

Ruiz-Aquino et al, (2016), utilizan la microscopía óptica y determinan algunas características como lo son: poros son solitarios, radios multiseriados, parénquima apotraqueal difuso en agregados, fibras libriiformes y fibrotraqueidas. Además, utilizan la *MEB* para analizar las tílides y las puntuaciones areoladas alternas en elementos de vaso en la madera de *Quercus laurina* y *Q. crassifolia*.

Gonçalves, Marcati y Scheel-Ybert, (2012), analizan mediante MO y MEB la estructura anatómica de la madera de *D. violácea* y *Stryphnodendron polyphyllum*, antes y después de la carbonización de las mismas. Reportan la reducción del diámetro tangencial de los vasos y la contracción de radios (en ancho) como los cambios más evidentes después de la carbonización.

3.3 Tomografía computarizada de Rayos-X

Los análisis de la madera que se han realizado mediante tomografía han sido para diversos fines, por ejemplo, la caracterización estructural de la madera, identificación de especies, observar deformaciones en la madera debido a algún tratamiento o la localización de sustancias ajenas a la madera.

Rivera Ramos et al, (2020), utilizan la TCR-X para analizar una sección de 0.1 x 0.1 x 1 cm de madera de *Eucalyptus nitens* y cuantificar el diámetro de fibra y de lumen para las fibras. Además, reportan microgrietas de la pared celular como resultado de las dificultades al flujo del agua, abultamiento de las paredes tangenciales de la fibra y a las regiones de escasa conectividad entre células.

Olmos et al (2016), utilizan la técnica de TCR-X para analizar la estructura 3D de la madera de *Pithecellobium pallens* preservada con hidróxido de calcio (Ca(OH)₂). Reportando que las partículas preservantes se alojan en las paredes de los tejidos leñosos.

Derome et al, (2011), analizan los cambios tridimensionales microscópicos de la madera de *Picea abies*, encontrando que la madera tardía presenta mayor movimiento ante la contracción y el hinchamiento comparado con la madera temprana. Además, las deformaciones radiales de la madera temprana son menores a un tercio de la deformación tangencial.

Mizumo, (2010), utiliza la TCR- X para caracterizar estructuralmente la madera de una máscara de madera datada del siglo XVI. En la muestra de madera se pudo observar desde la porosidad difusa, rayos heterogéneos uniseriados y perforación simple, dichas características ayudaron a determinar que la madera en estudio pertenece al género *Salix sp.*

Bulcke et al (2009), reportan la caracterización anatómica de *Pinus silvestris*, *Fagus sylvatica*, *Distemonanthus benthamianus* y *Azalia bipindensis* realizada a partir de TCR-X. Además, mencionan que esta técnica es un complemento muy avanzado de las técnicas ya existentes, permite al usuario visualizar el material con un tamaño de vóxel cercano $<1 \mu\text{m}$ para muestras pequeñas ($<1 \text{ mm}$). Así mismo, con ayuda de software de procesamiento se pueden obtener datos cuantitativos sobre la madera en dos y tres dimensiones.

Tritik et al (2007), realizaron la reconstrucción 3D del duramen de *Picea abies* haciendo énfasis en diámetro, el lumen y el torus de las traqueidas. Utilizando una muestra de $0.2 \times 0.2 \text{ mm}$ y un tamaño de voxel de $7 \mu\text{m}$.

4. OBJETIVOS

4.1 General:

Implementar microscopía óptica, microscopía electrónica de barrido y tomografía computarizada de rayos X, en análisis de la madera, para determinar la viabilidad del uso de las tres técnicas en conjunto, caracterizando de forma detallada la estructura anatómica de la madera de *Dalbergia ruddae*.

4.2 Específicos:

- Realizar el análisis de la madera de *Dalbergia ruddae* mediante:
 - Microscopía óptica
 - Microscopía electrónica de barrido
 - Tomografía Computarizada de rayos X

5. HIPÓTESIS

La observación y el análisis mediante microscopía óptica, microscopía electrónica de barrido y tomografía computarizada de rayos-X aportan información complementaria para una caracterización anatómica de la madera más detallada.

6. JUSTIFICACIÓN

La caracterización anatómica de la madera se realiza principalmente por microscopía óptica y microscopía electrónica. Estas técnicas proveen un análisis de imágenes 2D de alta calidad.

La tomografía de rayos X permite observar la microestructura de la madera en 3D. Además, de la visualización de las trayectorias de células y cuantificación de componentes ajenos a la madera. La combinación de estas tres técnicas para el estudio de *D. ruddae* pudiera ser complementaria para un análisis más detallado de dicha especie de importancia comercial por sus cualidades acústicas empleadas en la elaboración de guitarras finas y que se encuentra en el apéndice II de CITES.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Caracterización del material de estudio.

El árbol seleccionado para el presente trabajo procede de la localidad de Mariscal perteneciente al municipio de Tumbalá, Chiapas. El sitio de colecta se ubica entre las coordenadas 17°21'00.48" N y 92°21'50.12" O. La localidad se encuentra a una altitud 978 metros sobre el nivel del mar. La región pertenece a selva mediana y alta perennifolia. El clima es cálido-húmedo con lluvias todo el año, temperatura media anual de 28.6°C y precipitación media anual de 3369.5 mm (INEGI, 2010).

El árbol de *Dalbergia ruddae* se colectó siguiendo la metodología propuesta por Ramos y Díaz (1981), presentaba una altura promedio de 15 m y un diámetro a la altura del pecho de 42 cm. El material colectado se habilitó en tablillas de xiloteca de 1.5 X 7 X 15 cm, con las que se describieron las características macroscópicas y organolépticas. La rodaja obtenida se utilizó para habilitar el material para el presente estudio (Figura 19).



Figura 19. Material de estudio de *Dalbergia ruddae*. a) árbol, b) rodaja.

En la figura 20 se muestran las tablillas de *D. ruddae*. La madera de albura posee un color que va del blanco al amarillo pálido de acuerdo a las tablas munsell, (1975); HUE 2.5 Y 8/2, HUE 5Y 8/4. El duramen es de un color rosa a marrón claro rojizo (HUE 5YR 6/4, HUE 5YR 7/4) con vetas café rojizo oscuro (HUE 5YR 3/3). La madera no presenta olor, el sabor es ligeramente amargo y astringente. La textura es media tendiendo a fina con hilo entrecruzado.

El veteado de la madera es pronunciado, con diseño veteado en la corte radial y parabólico cromático en corte tangencial. El brillo de la madera es medio. La densidad de la madera es de $0.76 - 0.78 \text{ g/cm}^3$ clasificada como una madera de densidad alta de acuerdo con Lincoln, (1986).



Figura 20. Madera *Dalbergia ruddae*.
a) superficie transversal, b) superficie tangencial y c) superficie radial.

7.2 Elaboración de muestras para microscopio óptico.

Las muestras para microscopio óptico se habilitaron a partir de cubos de madera (2x2x2 cm con caras representativas X, Tg y R). Los cubos se sometieron a un proceso de ablandamiento por medio de cocción durante 400 horas a ebullición normal (Kukachka, 1977).

Los cortes se obtuvieron en un micrótopo Leitz Wetzlar ® a un grosor de 30-40 micras. Una parte de los cortes se blanquearon con una solución de 1/4 de hipoclorito de sodio al 5% y 3/4 partes de agua destilada, se lavaron y en seguida se tiñeron con safranina por 10 minutos; posteriormente se lavaron con alcohol al 60 %. La otra mitad se dejó al natural y ambos grupos de cortes se deshidrataron gradualmente con alcoholes: 70% y 80% por 1 h en cada concentración, 96% (50 minutos) y al 100% (5 minutos), se aclararon con xilol durante 1 minuto (Figura 21). La observación y obtención de las imágenes de los elementos constitutivos se realizó con un microscopio Carl Zeiss con cámara.

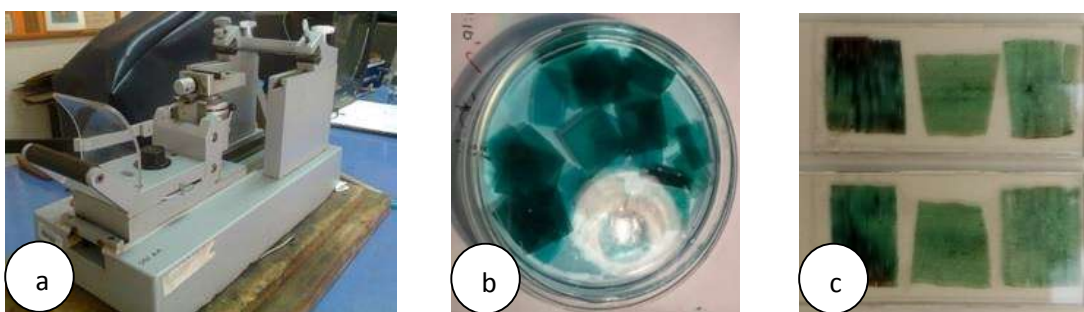


Figura 21. Elaboración de cortes histológicos. a) micrótopo de deslizamiento, b) cortes de *D. ruddae*, c) muestras para microscopio óptico.

7.2.1 Elaboración de material disociado

La figura 23 ilustra parte del proceso para la obtención del material disociado. Las astillas se obtuvieron de la cara radial de los cubos previamente ablandados. Las astillas se colocaron en tubos de ensaye y se les agregó la mezcla disociadora (ácido acético glacial, ácido nítrico, ácido láctico y glicerina 1:1:1:1). Los tubos de ensaye se taparon con papel aluminio y se dejó reposar durante 24 horas, transcurrido el tiempo el tubo se sometió a baño maría durante 15 minutos. Después se taparon los tubos de ensaye con un tamiz de nylon (para retener el material disociado), se lavaron 5 veces con agua destilada para eliminar residuos de la mezcla y se dejaron escurrir. Una vez lavado el macerado se tiño con pardo de Bismarck durante 15 minutos

y se volvió a lavar 5 veces con alcohol al 60 %, posteriormente se vertió el macerado en una caja de petri con alcohol al 70% para después montarse en un portaobjetos, con ayuda de un pincel y una aguja de disección, distribuyéndolas uniformemente; las muestras obtenidas se dejaron secar por 8 días a temperatura ambiente y 1 hora bajo la luz de una lámpara, una vez secas se les colocó xilol para aclararlas, resina de montaje y se les adicionó el cubreobjetos, se dejaron secar y posteriormente se limpió los restos de resina (Figura 22).

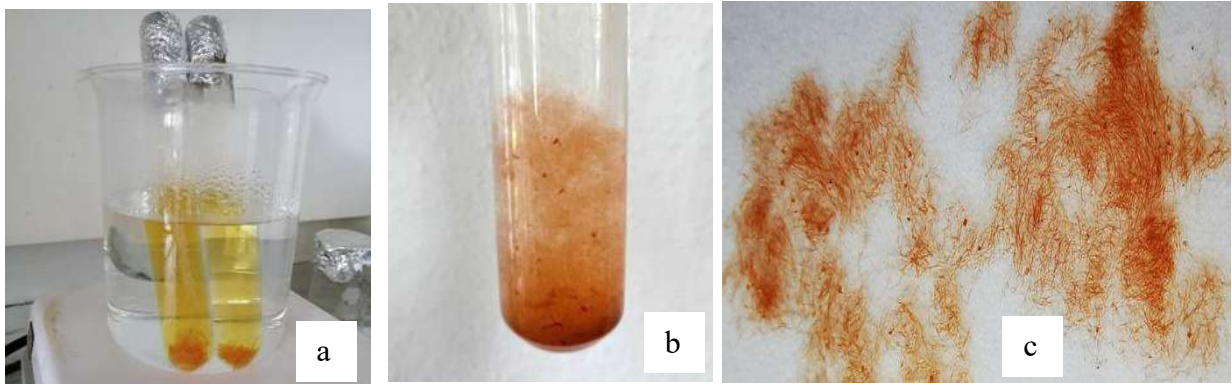


Figura 22. Elaboración de material disociado. a) Astillas en baño maría, b) Material disociado, c) Muestra de material disociado

7.3 Elaboración de probetas para tomografía computarizada.

A partir de la rodaja destinada para el estudio anatómico se obtuvieron las probetas para el análisis con TCR-X. Las probetas se habilitaron a partir de piezas con sección de 5x5x30 mm. Las piezas se obtuvieron de la albura y el duramen, posteriormente estas piezas fueron torneadas hasta obtener un cilindro con diámetro de 4mm (Figura 23). El seccionamiento de las muestras se realizó con una navaja de acero manual y un torno.

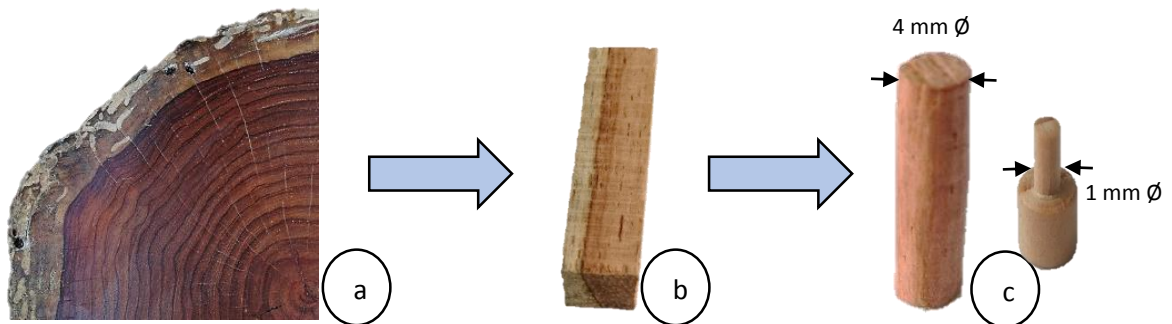


Figura 23. Elaboración de probetas para tomógrafo. a) Rodaja, b) Pieza de 5x5x30 mm, c) Probetas para tomógrafo.

La adquisición de las imágenes se llevó a cabo en un equipo de tomografía Xradia Zeiss Versa 510 (Figura 24). Para ello en una probeta libre de irregularidades se definió una región de 4 mm de longitud la cual se montó sobre el cabezal porta muestras y se procedió a analizar. Posteriormente a la misma probeta se desbaste hasta obtener un cilindro de 1 mm de diámetro, al cual se le realizó el mismo tratamiento. Las imágenes 3D para la caracterización de las células de la madera se obtuvieron a un tamaño de voxel de 5 y 1 μm .

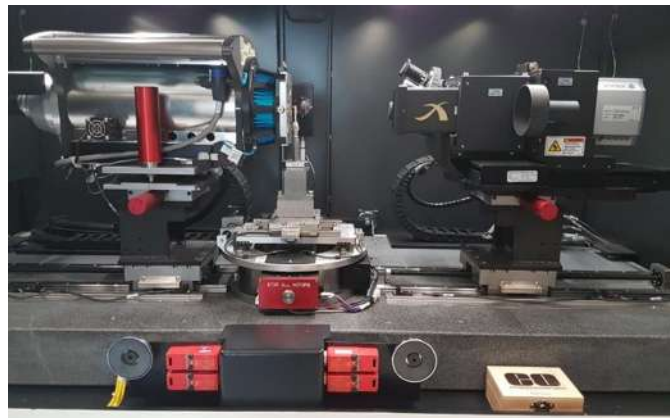


Figura 24. Tomógrafo Xradia Zeiss Versa 510

7.4 Elaboración de muestras para microscopio electrónico de barrido

Las muestras para el microscopio electrónico de barrido fueron habilitadas a partir de las probetas utilizadas para TCR-X, esto con la finalidad de observar la misma región en ambas técnicas. En la figura 25a se muestra una probeta circular de 4 mm de diámetro, en la cual se definió un área de interés. Los cortes típicos transversal, radial y tangencial se realizaron con ayuda de una navaja de acero y de manera manual. La probeta de 3x3x3 mm (Figura 25 b) se analizó con el Microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-IT300 (Figura 26). El proceso se realizó a condiciones de bajo vacío por lo cual no fue necesario recubrir la muestra con ningún material. El análisis permitió obtener imágenes de los cortes típicos y los elementos estructurales a distintas magnificaciones. Adicionalmente se seleccionaron áreas de interés que contenían fibras, cristales y gomas para realizar la determinación química elemental.

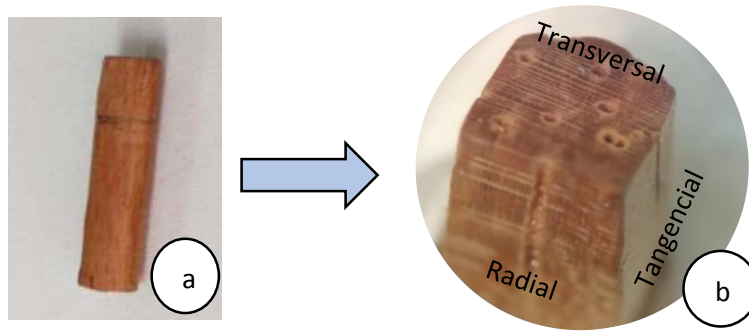


Figura 25. Muestra para microscopio electrónico de barrido. a) pieza utilizada para TCR-X, b) probeta con cortes típicos vista a 20 aumentos.



Figura 26. Microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-IT300

7.5 Determinación de características de elementos estructurales.

La descripción microscópica de la madera se realizó siguiendo la nomenclatura propuesta por la International Association of Wood Anatomists (IAWA, 1989).

Las mediciones de los elementos se realizaron a partir del material disociado, los cortes histológicos, las microfotografías y tomografías. Se tomó un tamaño de muestra de 50 mediciones para cada una de las características: diámetro tangencial de poros, abundancia (poros/mm²), ancho y alto de radios, radios/mm, estratos/mm, longitud de elementos de vaso, longitud de fibra, diámetro de fibra, diámetro de lumen, grosor de paredes. También se determinaron caracteres como porosidad, arreglo de los poros, tipo de parénquima leñoso.

Las mediciones y procesamiento de tomografías se realizaron con el software ImageJ® versión 1.45. Para los caracteres medidos se reporta el promedio, valor mínimo, valor máximo. Además se mencionan en orden de abundancia.

8 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 Descripción Microscópica

La figura 27 muestra cortes transversales de la madera de *Dalbergia ruddae*, en la que se observa que presenta porosidad difusa. Los poros son de contorno elíptico, con pared de 7.3 -11 μm y algunos se observa saturados de gomas. El arreglo de poros es de tipo solitarios, múltiples radiales de 2,3 escasos de 4-5, agrupados de 3 y 4, escasos de 8 donde se combinan poros grandes con muy pequeños y múltiple en diagonal de 2, (Figura 27-28). Los poros son poco numerosos en abundancia encontrando de 3 (2-5) poros/ mm^2 y presentan diámetro mediano con 156 μm (40-256 μm). El parénquima leñoso es de tipo apotraqueal difuso y difuso agregado, paratraqueal unilateral y escaso paratraqueal en bandas y paratraqueal aliforme (Figura 28).

Las características como la porosidad y el arreglo de poros se pueden definir claramente en las tres técnicas. La zonación solo se aprecia mediante la MO. El parénquima leñoso y los poros se aprecia en las tres técnicas, resaltando que en la MO el parénquima leñoso se define mejor que en las otras técnicas.

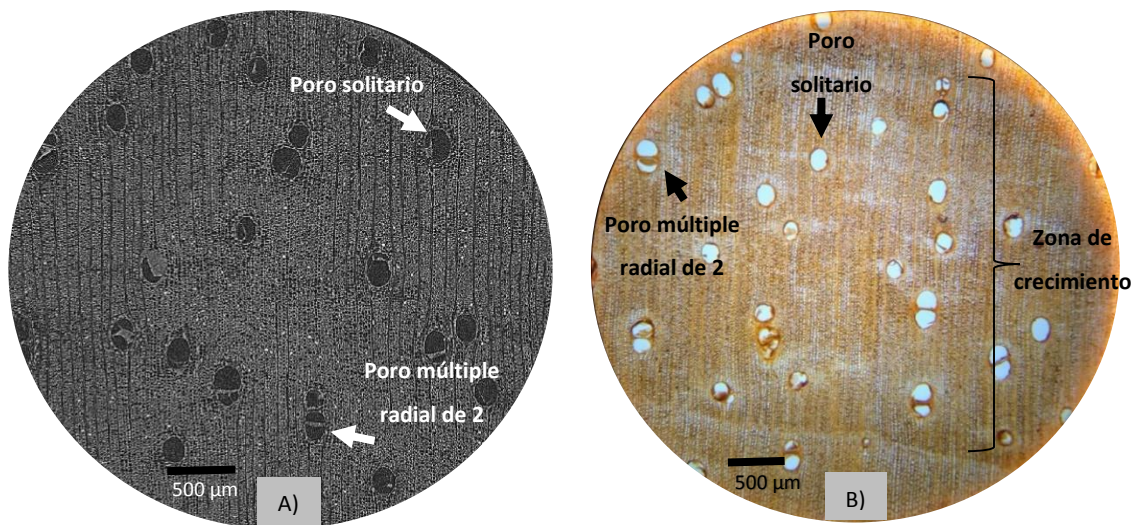


Figura 27: Cortes transversales de *Dalbergia ruddae*: a) Tomografía computarizada, b) Microscopía óptica.

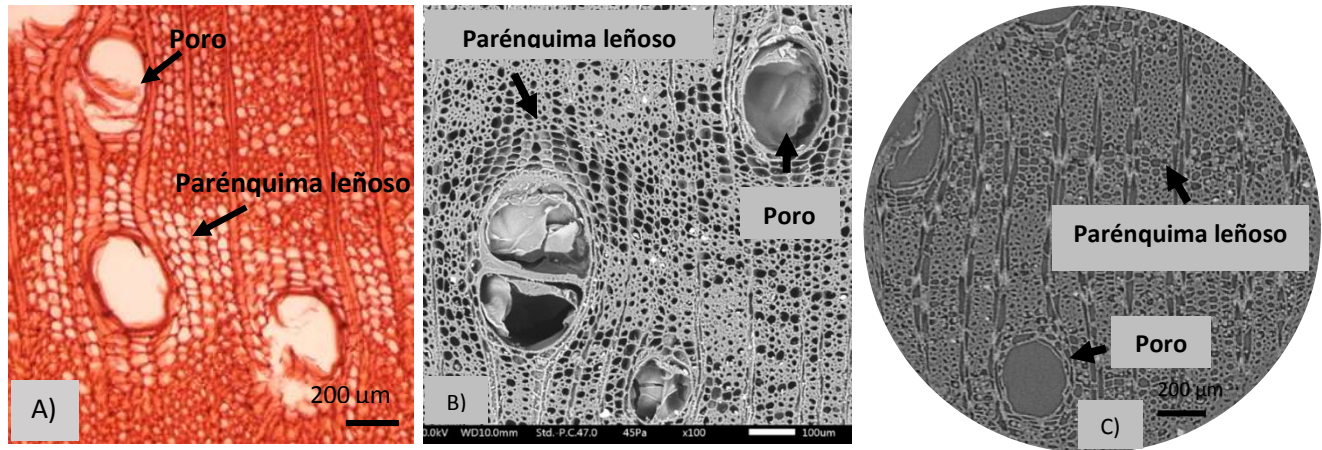


Figura 28. Microfotografías transversales de *Dalbergia ruddae*: a) Microscopia óptica, b) MEB y c) Tomografía computarizada.

Las figuras 29 y 30 muestran microfotografías tangenciales y radiales respectivamente. En las cuales se aprecian los radios de tipo triseriados, biseriados, parcialmente biseriados, uniseriados, escasos poliseriados de 4, también se observan radios fusionados por los extremos (en hileras de 2 y 3, estos radios interrumpen la estratificación) con una longitud de 266 µm (194-426.8 µm). Los radios son muy abundantes encontrando de 15-17 radios/mm, son muy bajos de altura con 125.5 µm (73-164 µm) y moderadamente angostos con 27.7 µm (19.6 – 39.2 µm). La especie presenta estratificación de radios y elementos de vaso, el parénquima leños tiende a estratificarse. La composición de los radios es heterogénea y homogénea.

El corte tangencial permite determinar el tipo, la longitud y el ancho de los radios, así mismo determinar la presencia de estratificación. Dichas características se pueden definir claramente en las tres técnicas. El corte radial permitió determinar la composición de los radios y las inclusiones en las tres técnicas.

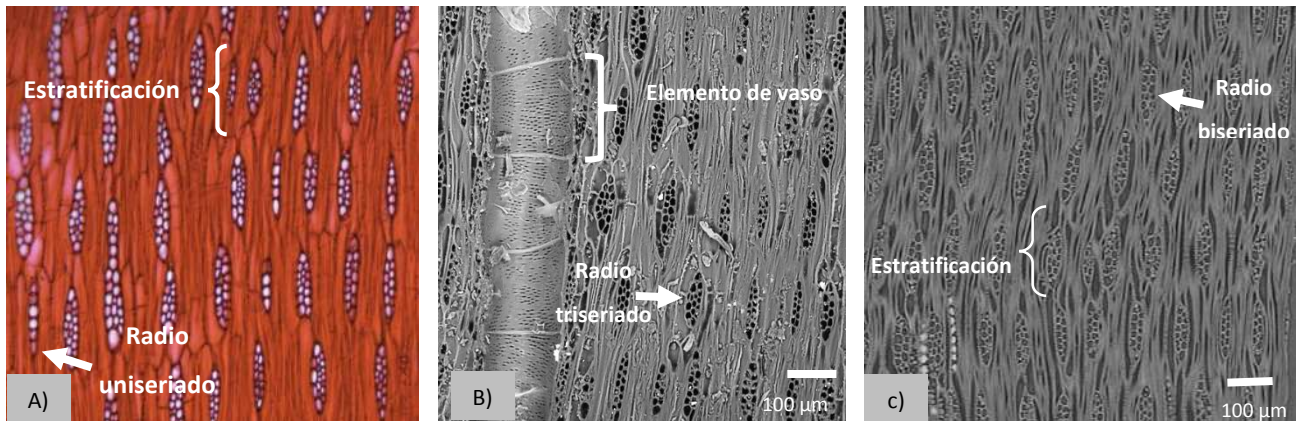


Figura 29. Microfotografías tangenciales de *D. ruddae*: a) Microscopía óptica, b) Microscopía electrónica de barrido, c) Tomografía computarizada.

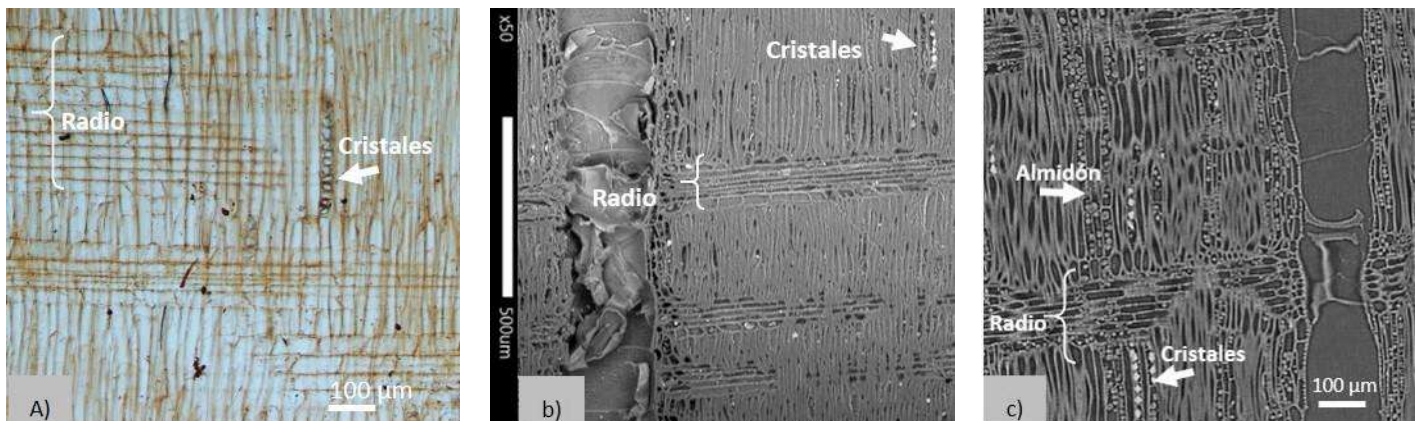


Figura 30. Microfotografías Radiales de *D. ruddae*. a) Microscopía óptica, b) Microscopía electrónica de barrido, c) Tomografía computarizada.

Los elementos de vasos son de longitud muy cortos con $167 \mu\text{m}$ ($106.7\text{-}213.4 \mu\text{m}$), con placa de perforación simple de horizontal a ligeramente inclinada y punteaduras intervasculares areoladas alternas y areoladas opuestas con abertura elíptica y hornamentaciones (Figura 31 y 32a). La longitud de los elementos de vaso comúnmente se determina en el material disociado, aunque también se puede realizar en corte tangencial. Las puntuaciones intervasculares se aprecian con mayor detalle con la MEB en comparación con MO. La resolución empleada en TCR-X no permitió la determinación de las características del vaso, la figura 32 ilustra la trayectoria y visualización 3D de los elementos de vaso.

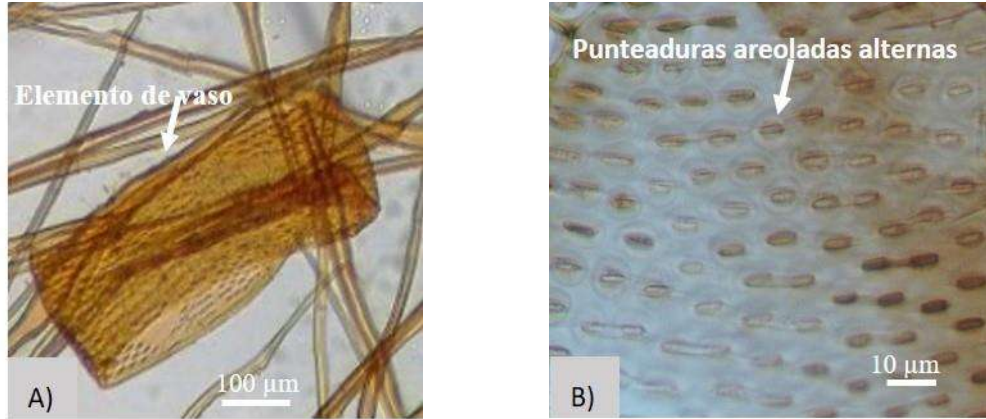


Figura 31. Elemento de vaso visto en microscopía óptica. A) vaso visto en material disociado, b) Punteaduras del elemento de vaso.

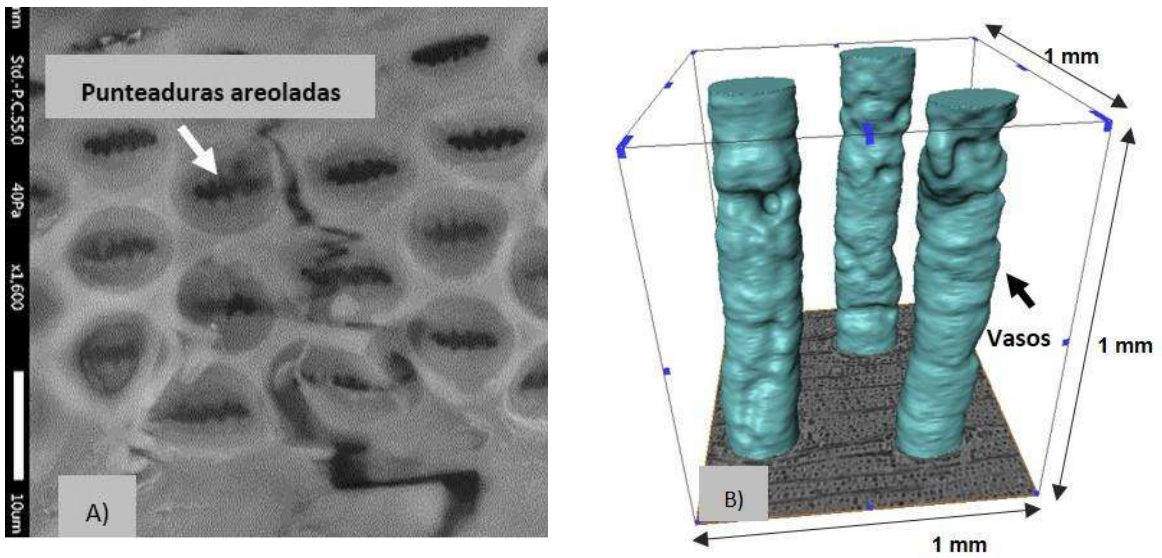


Figura 32. Elementos de vaso visto en MEB y TCR-X. a) Punteaduras del elemento de vaso visto en MEB, b) visualización 3D de elementos de vaso.

Las fibras son de tipo libriforme se observan en la figura 33a. Estas tienen longitud media con 1425.5 μm (1115-1697). Son de diámetro fino 20.9 (11-24) y pared celular delgada 11.3 μm (figura 33b). Este elemento estructural solo se pudo observar en microscopía óptica a partir del material disociado. Las características de la fibra únicamente se determinaron con la microscopía óptica a partir del material disociado, con la MEB únicamente se pudo determinar el diámetro y espesor de paredes. La resolución empleada en la TCR-X no permitió definir detalladamente las fibras

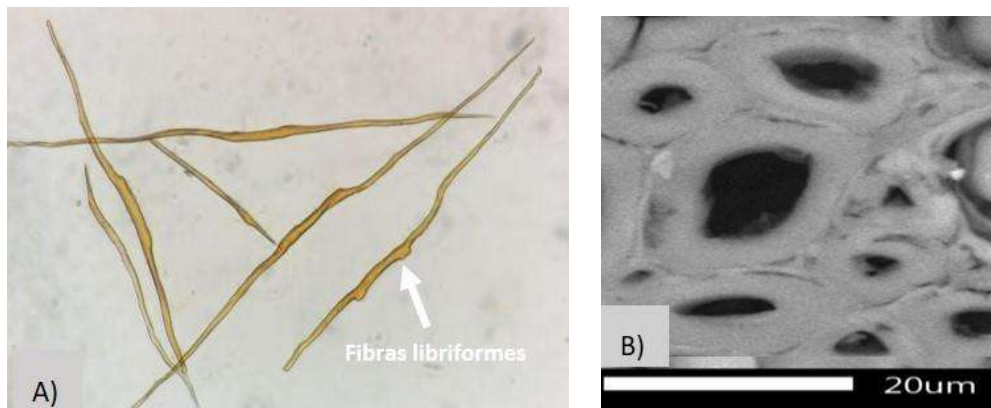


Figura 33. Fibras de *D. ruddae*. a) Fibras en material disociado vistas en MO,
b) Fibras en corte transversal vistas en MEB

El análisis químico elemental realizado a las fibras arrojó como principal componente al carbono con 35.11%, oxígeno con 44.3% y calcio con 20.59%. Los componentes de la madera son celulosa, hemicelulosa y lignina en diferentes proporciones. La celulosa y hemicelulosa químicamente son polímeros de glucosa, a su vez la lignina está constituida por unidades de fenil propano, (Dietrich y Ebray, 1989). Estos tres componentes de la madera son compuestos a base de carbono y oxígeno unidos a diferentes grupos funcionales. Lo cual se ve reflejado en el análisis elemental realizado a la presente especie, donde tenemos como elementos mayoritarios al carbono y el oxígeno.

Las inclusiones presentes en la madera fueron cristales, almidones y gomas de color marrón rojizo en los poros y parénquima leñoso, las cuales se observan en la figura 34. Las gomas presentes en *D. ruddae* se componen de: carbono 64.20%, oxígeno 34.86%, sodio 0.06%, magnesio 0.09%, silicio 0.06%, azufre 0.04%, potasio 0.07%, calcio 0.61%. Estudios realizados han demostrado que los extractivos presentes en este género son similares, por ejemplo, *D. congestiflora* presenta ceras, resinas y esteroides (Martínez-Sotres et al, 2010). Por lo cual se infiere que estos compuestos están presentes en la especie de estudio.

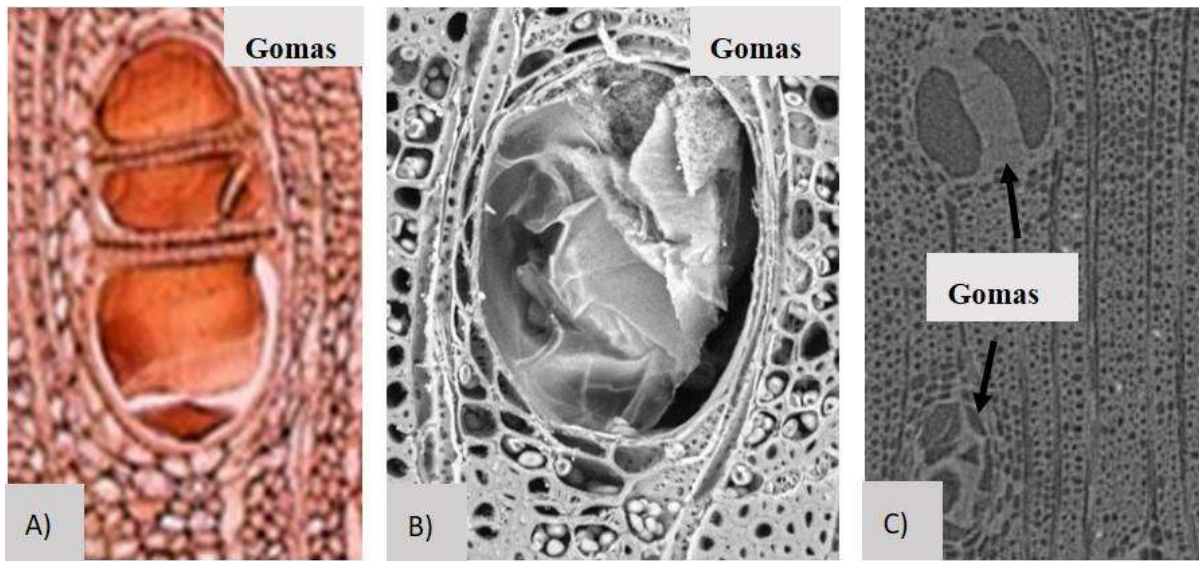


Figura 34. Gomas de la madera vistas en diferentes técnicas. a) Microscopía óptica, b) MEB, c) TCR-X

En la figura 35. se observan cristales prismáticos de sílice en hileras verticales de 2-7 y gránulos de almidón estos últimos encontrados únicamente en la albura. Los cristales de sílice tienen gran importancia en las cualidades de trabajabilidad, debido a su efecto abrasivo sobre las herramientas de corte. Los cristales observados estos ocupan el 0.11% de un volumen de 1 cm³ (Figura 36) y de acuerdo a lo arrojado por el análisis químico elemental los elementos presentes en su mayoría son sílice 13.86%, magnesio 9.46 %, carbono 26.61% y oxígeno 42.22%, encontrándose trazas de hierro 6.77%.

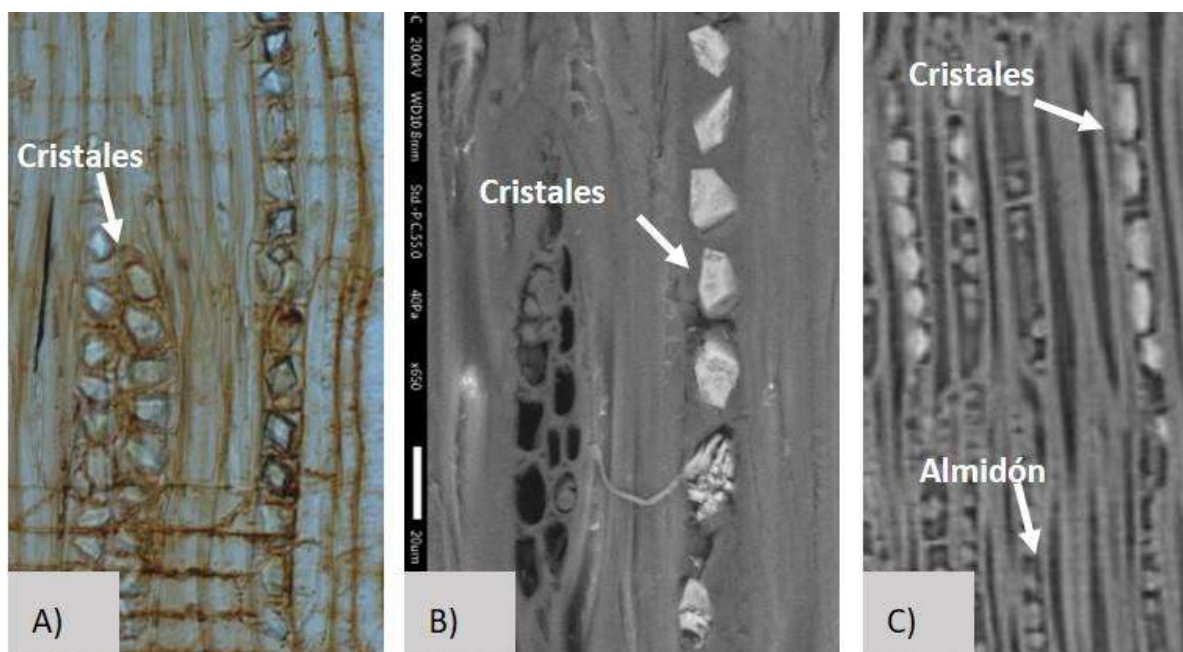


Figura 35. Cristales de la madera vistos en diferentes técnicas. a) Microscopía óptica, b) MEB, c) Tomografía.

La parte inorgánica de la madera puede ser de 0.1-5% en especies tropicales. Estos minerales no solo se depositan en las paredes celulares, sino también en los lúmenes o formando estructuras como los cristales. Los minerales más comunes son: Na, Si, B, Mn, Fe, Cu, Zn, Ag, Au, Ba, Co, Cr, Ni, Pb, Sn. Estos elementos se encuentran formando parte de carbonatos, oxalatos, silicatos, fosfatos y sulfatos en diferentes formas geométricas (Ávila, 2012).

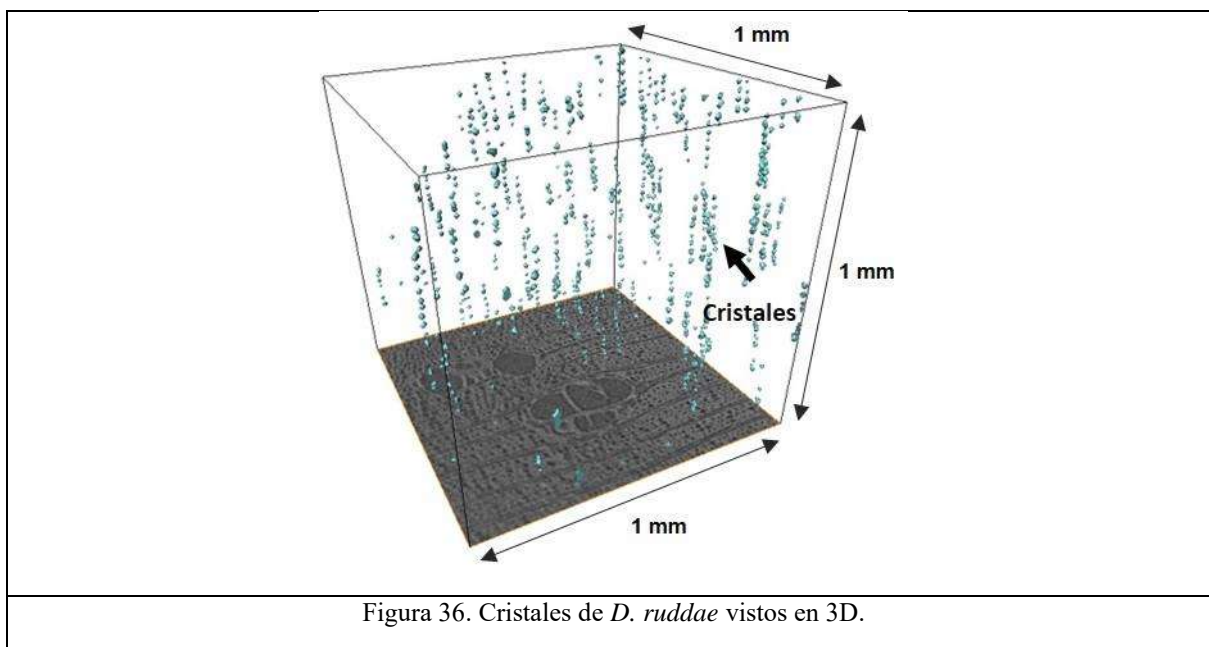


Figura 36. Cristales de *D. ruddae* vistos en 3D.

Las inclusiones se observaron detalladamente con MO y MEB, para la TCR-X se necesita mayor resolución para definir claramente los cristales y los gránulos de almidón.

En el cuadro 1 se muestra el resumen del comportamiento de las tres técnicas empleada frente al análisis de los diferentes caracteres anatómicos observados. La MO es muy versátil ya que en ella se pueden analizar detalladamente el 100% de los caracteres. La MEB permite un análisis del 80% de los caracteres y adicionalmente nos arroja la composición química elemental de la muestra. La TCR-X permite analizar el 70% de los caracteres con la ventaja de la visualización 3D de las células.

Cuadro 1. Características analizadas mediante MO, MEB y TCR-X.

Característica anatómica		MO	MEB	TCR-X
Vasos	Porosidad	✓	✓	✓
	Arreglo de poros	✓	✓	✓
	Poros /mm ²	✓	✓	✓
	Longitud, tipo de punteaduras	✓	✓	*
Fibras	Diámetro, longitud, espesor de paredes	✓	*	*
Radios	Ancho y Alto	✓	✓	✓
	Radios /mm	✓	✓	✓
	Estratificación	✓	✓	✓
Parénquima leñoso		✓	*	*
Inclusiones		✓	✓	✓
Composición química elemental		No	✓	No

Separación y cuantificación de elementos	No	No	✓
Sección de observación	1mm ² - 1 cm ²	5µm – 4 mm ²	0.027 mm ³ - 1 cm ³

- ✓ Bien definido
- * Se aprecia con dificultad

La madera de *D. ruddae* tiene un gran parecido a la madera de *D. palo-escrito*, por lo que, en esta etapa de finalización de resultados, se presenta el cuadro 2, con una comparación de características de estas dos maderas.

Las características organolépticas de *D. ruddae* son similares a *D. palo-escrito*. Algunas diferencias se observaron en el color del duramen de *D. ruddae* es castaño claro rojizo a castaño naranja con vetas pronunciadas castaño oscuro rojizo, diferenciándose del color de *D. palo-escrito* que es castaño rojizo ligeramente violáceo con vetas pronunciadas de color oscuro casi negras. El sabor ligeramente amargo y astringente presente en *D. ruddae* e imperceptible en *D. palo-escrito*. La densidad de *D. ruddae* se encuentra entre 0.75 - 0.78 g/cm³ siendo más alta comparada con *D. palo-escrito* (0.54-0.60 g/cm³) y encontrándose dentro del rango de densidad reportada por Richter et al. (1996) para otras especies del genero *Dalbergia* (0.60-1.35 g/cm³). La madera de *D. ruddae* no presenta olor después de seca, distinguiéndose de otras especies del mismo género conocidas comercialmente como “rosewood” debido a que presentan un olor característico similar a la rosa de castilla o a canela (Meier,2016).

La madera de *D. ruddae* presenta características microscópicas similares a la madera de *D. palo-escrito* como lo es la zonación notoria, porosidad difusa, poros (solitarios, múltiples radiales, diagonales y agrupados), elementos de vaso cortos con perforación simple y punteaduras intervasculares areoladas alternas. Se observaron pequeñas diferencias en la abundancia de poros encontrando 2-7 poros/mm² en *D. ruddae* y de 1-14 poros/mm² en *D. palo-escrito*, así mismo para el diámetro de poros encontrando de 40-256 µm en *D. ruddae* y 38.8-145.5 µm en *D. palo-escrito*. Las fibras de *D. ruddae* son de tipo libriforme con una longitud entre 1.11 - 1.69 mm, las cuales son ligeramente más largas que *D. palo-escrito* (0.77-1.69 mm). El

parénquima leñoso apotraqueal difuso, paratraqueal vasicentrico, P. aliforme y marginal se observó en ambas especies. *D. ruddae* tiene en mayor proporción radios triseriados, contrastando contra los biseriados que son más abundantes en *D. palo-escrito*. La abundancia de radios es mayor en *D. ruddae* de 15-17/mm comparados con 9-14 /mm de *D. palo-escrito*. La altura y ancho de los radios se encuentran en rangos muy similares en ambas especies. Las inclusiones como gomas y cristales prismáticos se encontraron en ambas especies. Los cristales en *D. ruddae* fueron abundantes y se encontraron únicamente en el parénquima leñoso. La abundancia de cristales puede afectar en el procesamiento mecánico de la madera debido al efecto abrasivo de los cristales en las herramientas de corte.

Cuadro 2. Características organolépticas y microscópicas de las maderas de *D. ruddae* y *D. palo-escrito*.

	<i>D. ruddae</i> J. Linares & M. Sousa	<i>D. palo-escrito</i> Rzed. & Guridi-Gómez
Características generales		
Color	El duramen es de color castaño claro rojizo a naranja con vetas pronunciadas castaño oscuro rojizo La albura es de color crema a beige	El duramen es de color castaño rojizo ligeramente violáceo con vetas pronunciadas de color oscuro casi negras. La albura es de color crema
Olor	No se aprecia	No se aprecia
Sabor	Ligeramente amargo y astringente	No se aprecia
Textura	Media	Media tendiendo a fina
veteado	Pronunciado con diseño policromático parabólico (Tg) y diseño veteado ligeramente sinuoso (R)	Pronunciado con diseño policromático y parabólico irregular (Tg) y veteado sinuoso (R) [vetas con apariencia de caligrafía]
Hilo	Entrecruzado	Ligeramente entrecruzado

Brillo	Medio tendiendo a alto	Alto
Densidad	0.75- 0.78 g/cm ³	0.54-0.6078 g/cm ³
Zonación	Poco notoria, debido a una franja de fibras de pared más gruesa, (se aprecian líneas oscuras que asemejan zonas de crecimiento de 5mm -1.2 cm de amplitud)	Poco notoria, debido al parénquima marginal, (se aprecian líneas oscuras que asemejan zonas de crecimiento de 2- 6 mm de amplitud)
Vasos		
Porosidad	Difusa	Difusa con tendencia a semicircular
Arreglo de poros	Solitarios, múltiples radiales de 2-3, (escasos 4-5), múltiples en diagonal, agrupados de 3-4 (escasos de 8)	Solitarios, múltiples radiales 2-5 (escasos 7), múltiple diagonal y tangencial de 2, agrupados de 3-6 (escasos de 11)
Poros/mm²	Poco numerosos 3 (2-7)	Poco numerosos 5 (1-14)
Ø de poros	Medianos 156 µm (40-256)	Medianos 145.5 µm (38.8-145.5)
Espesor de pared	7-11 µm Media	12- 18 µm Gruesa
Longitud de elementos de vaso	Muy cortos 175.4 µm (106-213)	Extremadamente cortos 167.8 µm (106.7-213.4)
Puntuaciones del elemento de vaso	Areoladas alternas y areoladas opuestas con ornamentaciones	Areoladas opuestas con tendencia a escaleriforme, A. alternas, con ornamentaciones
Parénquima leñoso		
	Apotraqueal difuso, A. difuso agregado, Paratraqueal vasicéntrico, P. en bandas y escaso P. aliforme y marginal	Paratraqueal vasicéntrico, P. aliforme, apotraqueal difuso y A. difuso agregado y marginal

Radios		
Tipo	Triseriados, biseriados, parcialmente biseriados, uniseriados, escasos poliseriados de 4. Radios fusionados por los extremos (2 y 3)	Biseriados, triseriados, parcialmente biseriados, uniseriados escasos poliseriados de 4 Radios fusionados por los extremos (2 y 3)
Composición	Heterogéneos y homogéneos	Heterogéneos y homogéneos
Radios/mm	Muy abundantes 15-17	Muy abundantes 9-14
Altura de radios	Muy bajos 125.5 μm (73-164)	Muy bajos 138.3 μm (98 – 232.8)
Ancho de radios	Angostos 27.7 μm (19.6 – 39.2)	Angostos 33.3 μm (22 – 44.1)
Altura de radios fusionados	266 μm (194-426.8)	297.9 μm (245-610)
Estratificación		
	Radios estratificados, parénquima leñoso y elementos de vaso con tendencia a estratificarse.	Radios estratificados, parénquima leñoso y elementos de vaso con tendencia a estratificarse.
Estratos / mm	5-6	6
Fibras		
Tipo	Libriforme	Libriforme
Longitud de fibras	Media 1425.5 μm (1115.5 – 1697.5)	Media 1304.5 μm (776-1697.5)
Ø de fibras	Fino 20.9 μm (11 - 24)	Fino 20.3 μm (12.2 – 24.5)
Espesor de pared	Delgadas	Delgadas
Inclusiones		
	Cristales prismáticos en hileras verticales de 2-7	Cristales prismáticos en hileras verticales de (8-12 cristales) y

cristales, gomas de color marrón (en poros y parénquima leñoso). Gránulos de almidón en albura	gomas color castaño marrón (en poros y parénquima leñoso y parénquima radial).
---	--

9 CONCLUSIONES

1. La microscopia óptica presenta mayor facilidad para identificar las células de la madera en los diferentes cortes debido a la tinción de los cortes.
2. Las muestras para MO necesitan de un largo proceso para la obtención.
3. Las estructuras menores a 5µm se analizan con dificultad mediante MO.
4. La MEB posee mayor poder de resolución y profundidad de campo, con lo cual permite analizar detalladamente todas las estructuras de la madera.
5. La MEB permite realizar el análisis químico elemental lo que nos da una idea de los compuestos que pueden estar presentes en la muestra.
6. La MEB requiere que la superficie de la muestra a analizar debe estar con un corte libre de imperfecciones, lo cual resulta difícil de conseguir.
7. La TCR-X es una técnica útil para la adquisición de imágenes (2D y 3D). El nivel de detalle obtenido en las imágenes es suficiente para realizar el análisis anatómico descriptivo y cuantitativo, excepto para caracterizar elementos pequeños como las punteaduras intervasculares.
8. La TCR-X permite la caracterización tridimensional y la segmentación de fases, a partir de la cual se puede analizar las trayectorias de las células, localización y cuantificación de componentes ajenos a la madera.
9. El voxel empleado en la TCR-X se determina de acuerdo al tamaño de la estructura a analizar.
10. La observación de las células en la TCR-X estuvo limitada tamaño del voxel empleado y por la nitidez de la imagen ya que nos proporciona imágenes en escala de grises.
11. Se demostró que las técnicas empleadas permiten observar la estructura de la madera a distinto nivel de detalle. De acuerdo a la necesidad del estudio y disponibilidad de equipo se puede emplear una o más técnicas en conjunto.

10 RECOMENDACIONES

1. Se recomienda realizar el análisis químico de *D. ruddae* para determinar los compuestos que están presentes.
2. Utilizar la MO para estudios de identificación o caracterización anatómica de la madera.
3. Emplear MEB o TCR-X para analizar muestras provenientes de tratamientos o procesos de transformación a los que se someten la madera. Por ejemplo impregnación, muestras de madera degradada y/o carbonizada. También cuando se necesite analizar y cuantificar un volumen de madera o el contenido de sustancias ajenas a la madera.
4. Realizar más estudios de caracterización empleando las mismas técnicas para reforzar los alcances y limitaciones de las mismas

11 BIBLIOGRAFÍA

- Anatomynote. (2020). Tree sectional view. <https://www.anatomynote.com/plants-and-trees/wood-and-tree/tree-sectional-view-2>. Consulta 17 de mayo del 2020.
- Ávila L. (2012). Fundamentos de Química de la Madera. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. México. 107.
- Bárcenas-Pazos, G. M., Ortega-Escalona, F., Ángeles-Álvarez, G., & Ronzón-Pérez, P. (2014). Relación estructura-propiedades de la madera de angiospermas mexicanas. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 21(42).
- Bulcke, J., Boone, M., Van Acker, J., Stevens, M., Hoorebeke, L. (2009). X-ray tomography as a tool for detailed anatomical analysis. *Annals of Forest Science*, 66 (5), 508.
- Caeiro, J. R., Serra, J., González, P., Muñoz, F., & González-Cantalapiedra, A. (2015). Caracterización no destructiva de biomateriales mediante microtomografía computarizada. *Biomateriales: Diseño, producción y caracterización*, 53-64.
- Cervantes M.A. (2016). La conservación del granadillo en México: una carrera contra el tiempo. *CONABIO. Biodiversitas* (128): 6-11.
- Cervantes, A., Linares, J., Quintero, E. (2019). Un listado actualizado de las especies mexicanas de *Dalbergia* (Leguminosae) para ayudar en los esfuerzos para su conservación. *Revista Mexicana de Biodiversidad* (90): 1-11.

- Clavijo, J. (2013). Caracterización de materiales a través de medidas de microscopía electrónica de barrido (SEM). *Revista elementos*, (3), 134-146.
- Derome, D., Griffa, M., Koebel, M., Carmeliet, J. (2011). Histeresis de la hinchazón de la madera a escala celular probada por tomografía de rayos-X de contraste de fases. *Journal of Structural Biology* (173):180-190.
- Dietrich F, Gerd W y Ebray. (1989). *Wood: chemistry, ultrastructure reactions*. Walter de Gruyter, Berlin; New York.
- Espinoza, E. O., Wiemann, M. C., Barajas-Morales, J., Chavarria, G. D., & McClure, P. J. (2015). Forensic analysis of CITES-protected *Dalbergia* timber from the Americas. *IAWA journal*, 36(3), 311-325.
- Feijo, F. C., Ramón, A. D., Pucha, C. D. (2018). Guía para cortes anatómicos de la madera. Apuntes de Laboratorio de anatomía de maderas tropicales. Universidad Nacional de Loja, Ecuador.
- Fernández, J.L. (15 de mayo 2020). El Microscopio. Recuperado de <https://www.fisicalab.com/apartado/microscopio>
- Gasson, P.; Miller, R.; Stekel, D.J.; Whinder, F.; Ziemińska, K. 2010. Wood identification of *Dalbergia nigra* (CITES Appendix I) using quantitative wood anatomy, principal components analysis and naïve Bayes classification. *Annals of Botany*. 105, 45–56.
- Giménez A., Moglia J., Hernández P., Gerez R. (2005). *Anatomía de madera*. Segunda ed. Santiago del estero. Universidad Nacional de Santiago del Estero.
- Guridi G. L. I. (1996). Caracterización macroscópica de cuatro especies tropicales mexicanas: Campincerán (*Dalbergia congestiflora* Pittier), Granadillo o Zangalicua (*D. granadillo* Pittier), Palo escrito (*D. palo-escrito* Rzedowski-Guridi) y Granadillo (*Platymiscium lasiocarpum* Sandw.). *Ciencia y Tecnología de la Madera* (8): 3-14.
- Hanako R. S. (2020). Microscopía electrónica de barrido y microanálisis de elementos del Clúster Científico y Tecnológico BioMimic®. Recuperado de <https://www.inecol.mx/inecol/index.php/es/ct-menu-item-25/ct-menu-item-27/17-ciencia-hoy/723-microscopia-electronica-de-barrido-y-microanalisis-de-elementos-del-cluster-cientifico-y-tecnologico-biomimic>. 15 de mayo 2020.
- Hoadley, R. B. (2000). *Understanding wood: a craftsman's guide to wood technology*. Taunton press..

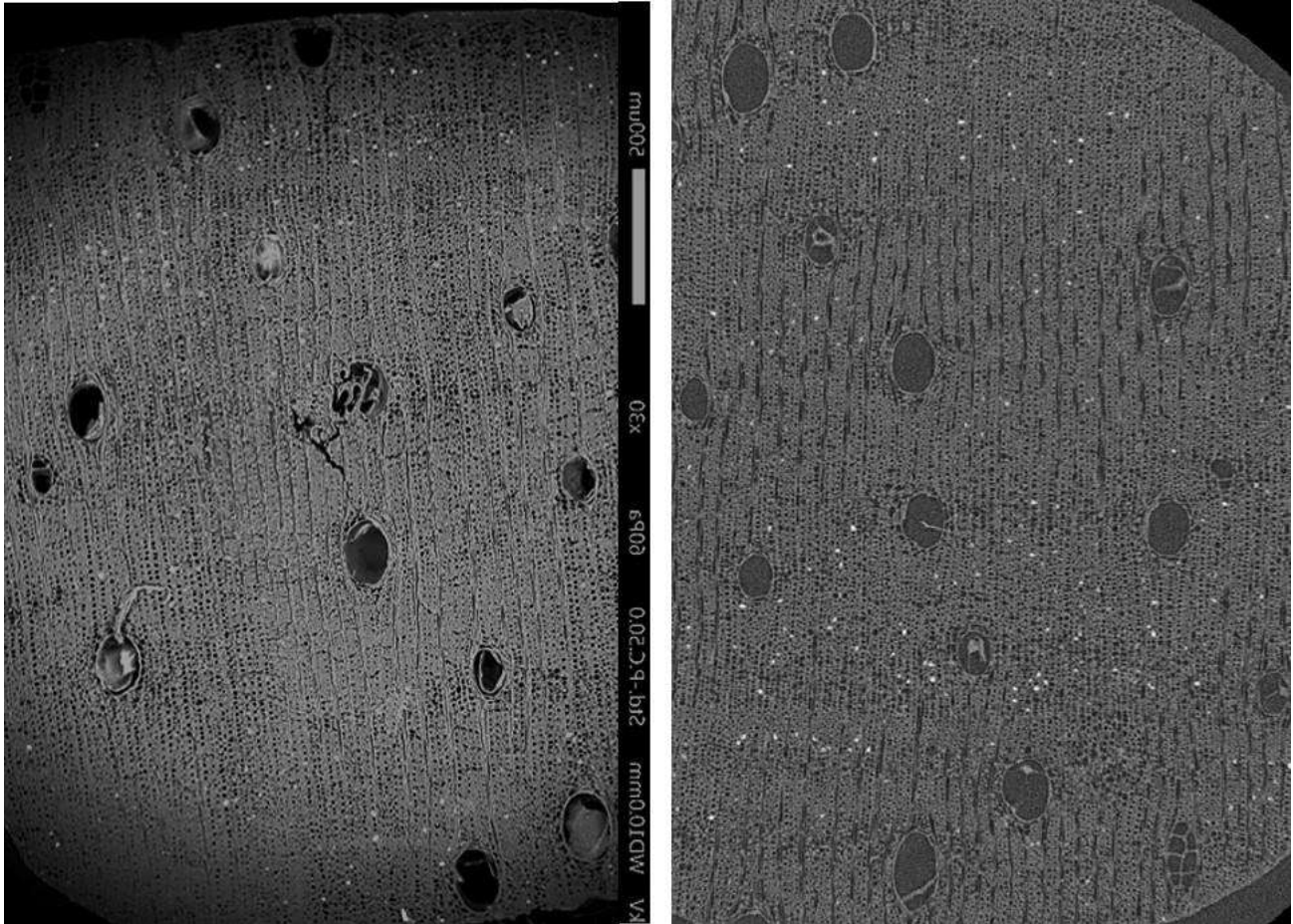
- Hsieh, J. (2009). *Computed tomography: principles, design, artifacts, and recent advances* (2nd Edition), SPIE Press, Bellingham.
- INEGI. (2010). *Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos* (Tumbalá, Chiapas). Recuperado de http://www3.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/07/07100.pdf
- Ipohorski, M. y Patricia, B. B. (2013). Microscopía electronica de barrido en la caracterización de materiales. *Ciencia e Investigación*, 63 (3), 43-53.
- LINAN, (Laboratorio nacional de investigaciones en nanociencias y nanotecnología). (2004). *linan-ipicyt*. Obtenido de *linan-ipicyt*: http://www.linan-ipicyt.mx/Microscopio_de_Barrido.html
- Landisa, E., Keane D. (2010). X-ray microtomography. *Materials Characterization* 61. 1305 – 1316.
- Linares, J. y Sousa M. (2007). Nuevas especies de *Dalbergia* (Fabaceae; Papilionoidea; Dalbergieae) en México y Centroamérica. *CEIBA*, 61-68.
- Lincoln W. A. (1986). *World Woods in Color*. Fresno, CA.: Linden Publishing.
- Locquin, M. y Langeron, M. (1985). *Manual de Microscopía*. Editorial Labor, S.A., Barcelona.
- Maire, E., Buffiere, J. Y., Salvo, L., Blandin, J. J., Ludwig, W., & Letang, J. M. (2001). On the application of X-ray microtomography in the field of materials science. *Advanced Engineering Materials*, 3(8), 539-546.
- Mayo, S. C., Chen, F., y Evans, R. (2010). Micron-scale 3D imaging of wood and plant microstructure using high-resolution X-ray phase-contrast microtomography. *Journal of structural biology*, 171(2), 182-188.
- Mizuno, S., Torizu, R., Sugiyama, J. (2010). Wood identification of a wooden mask using synchrotron X-ray microtomography. *Journal of Archaeological Science*, (37), 2842-2845.
- Munsell, 1975. *Munsell Soil color charts*. Macbeth division of Kollmorgen Corporation. Baltimore, Maryland.
- Myburg, A. y Lev-Yadun, S. (2001). *Xylem Structure and Function*. Recuperado de <https://www.semanticscholar.org/paper/Xylem-Structure-and-Function-Myburg-Lev-Yadun/6e74b49c6c3f6c37ed93575f7f9e48878d30b391>. 18 de Julio 2020.

- Olmos, N.L.R.; Espinoza, H.R.; Cruz-de-León, J. & Hernández, V.A. (2016). Caracterización microestructural 3D de la madera de *Pithecellobium pallens* mediante microtomografía de rayos X. Memorias del XXII Congreso de la SOMIM del 28 al 30 de septiembre. Yucatán, México.
- Ramos, C. y Díaz, V. 1981. Instrucciones para recolectar muestras de maderas para estudios tecnológicos. Boletín divulgativo No.54. Instituto nacional de investigaciones forestales. México, DF.
- Richter, H.G., Gembruch, K.y Koch, G. (2014 onwards). CITESwoodID: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval. In English, French, German, and Spanish. Version: 20th August 2019. delta-intkey.com’.
- Richter, H. G., Krause, V. J., & Muche, C. (1996). *Dalbergia congestiflora* Standl.: wood structure and physico-chemical properties compared with other Central American species of *Dalbergia*. *Iawa Journal*, 17(3), 327-341.
- Ricker, M., H. M. Hernández, M. Sousa S. & H. Ochoterena. 2013. Tree and tree-like species of Mexico: Asteraceae, Leguminosae, and Rubiaceae. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, (84), 439-470.
- Rivera Ramos, J. G., Espinoza Herrera, R., Arteaga, D., Cruz de León, J. y Olmos, L. (2020): Microstructural analysis of *Eucalyptus nitens* wood through computed microtomography, *Wood Material Science & Engineering*, DOI: 10.1080/17480272.2020.1774926
- Rowell, R.M. (2005). Handbook of wood chemistry and wood composites. Washington, D.C.: CRC Press
- SCAI, (Servicios Centrales De Apoyo a la Investigación). (2016). Microscopia electrónica de barrido. Recuperado de: <http://www.scai.uma.es/areas/micr/sem/sem.html>
- Shearer T., Bradley R. S., Hidalgo-Bastida L.A., Sherratt M.J., Cartmell S.H. (2016). Three-dimensional visualisation of soft biological structures by X-ray computed microtomography. *Journal of Cell Science*, 129, 2483-2492. doi: 10.1242/jcs.179077
- Steppe, K., Cnudde, V., Girard, C., Lemeur, R., Cnudde, J. P., y Jacobs, P. (2004). Use of X-ray computed microtomography for non-invasive determination of wood anatomical characteristics. *Journal of structural biology*, 148(1), 11-20.

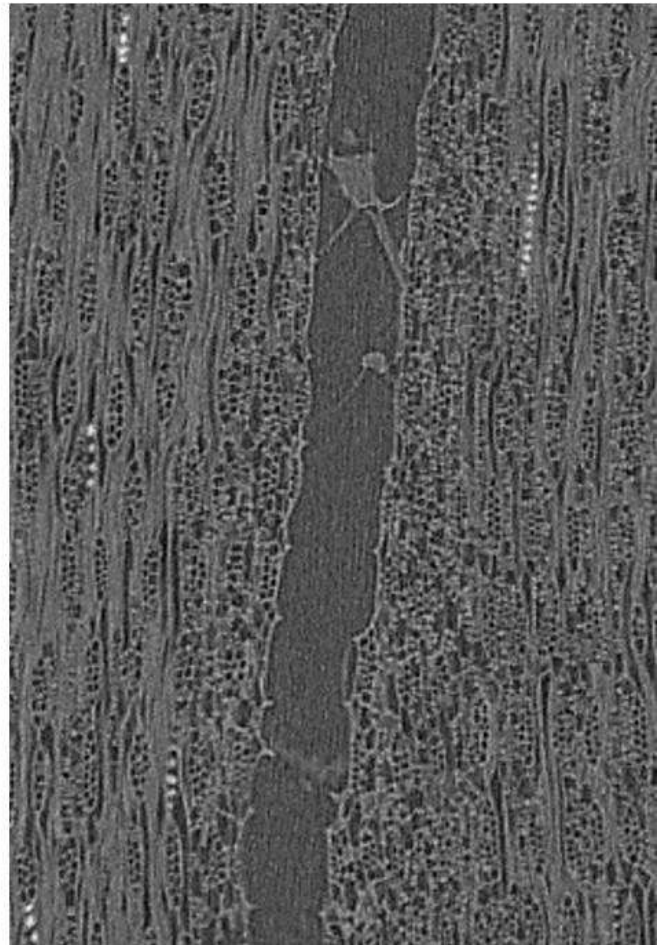
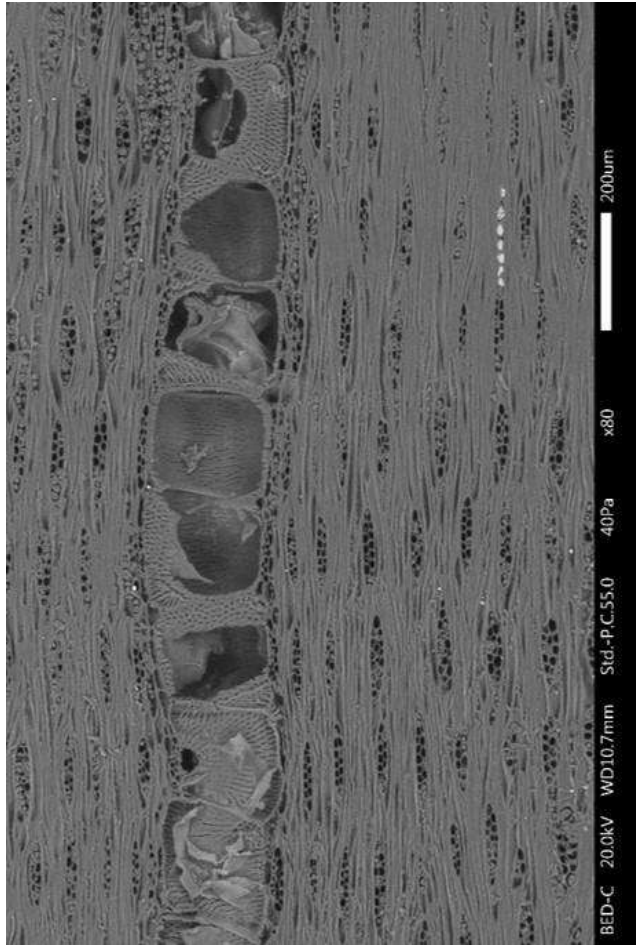
- Trtik, P., Dual, J., Keunecke, D., Mannes, D., Niemz, P., Stähli, P. y Stampanoni, M. (2007). 3D imaging of microstructure of spruce wood. *Journal of structural biology*, 159(1), 46-55.
- Ubero P.N. (2020). Fundamentos Técnicos de la Microscopía Óptica. Recuperado de <https://www.pardell.es/microscopia-optica.html>. 7 de junio 2020
- Yin, X., Huang, A., Zhang, S., Liu, R., & Ma, F. (2018). Identification of three *Dalbergia* species based on differences in extractive components. *Molecules*, 23(9), 2163.
- Wheeler, E.; Baas, P.; Gasson, P. (1989). IAWA list of microscopic features for hardwood Identification. *IAWA Bulletin n.s.*, 10(3), 219–332.
- Wiemann, M. C.; Ruffinatto, F. (2012). Separation of *Dalbergia stevensonii* from *Dalbergia tucurensis*. USDA Forest Service, Forest Products Laboratory, Research Paper, FPL-RP-665.

12 Apéndices

1. Microfotografía transversal de *Dalbergia ruddae* donde se aprecia la misma zona de análisis mediante MEB y TCR-X



2. Microfotografía tangencial de *Dalbergia ruddae* donde se aprecia la misma zona de análisis mediante MEB y TCR-X



3. Análisis químico elemental de goma de duramen de *Dalbergia ruddae*

