

Volumen 5, Número 17 – Octubre – Diciembre – 2018

ISSN 2410-356X

Revista de Ciencias
Naturales y Agropecuarias

ECORFAN®

ECORFAN-Bolivia

Editora en Jefe

RAMOS-ESCAMILLA, María. PhD

Redactor Principal

SERRUDO-GONZALES, Javier. BsC

Asistente Editorial

ROSALES-BORBOR, Eleana. BsC

SORIANO-VELASCO, Jesús. BsC

Director Editorial

PERALTA-CASTRO, Enrique. MsC

Editor Ejecutivo

IGLESIAS-SUAREZ, Fernando. MsC

Editores de Producción

ESCAMILLA-BOUCHAN, Imelda. PhD

LUNA-SOTO, Vladimir. PhD

Administración Empresarial

REYES-VILLO, Angélica. BsC

Control de Producción

RAMOS-ARANCIBIA Alejandra. BsC

DÍAZ-OCAMPO Javier. BsC

Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias, Volumen 5, Número 17, de Octubre a Diciembre 2018, es una revista editada trimestralmente por ECORFAN-Bolivia. Loa 1179, Cd. Sucre. Chuquisaca, Bolivia. WEB: www.ecorfan.org, revista@ecorfan.org. Editora en Jefe: RAMOS-ESCAMILLA, María. PhD. Co-Editor: IGLESIAS-SUAREZ, Fernando. PhD. ISSN: 2410-356X. Responsables de la última actualización de éste número de la Unidad de Informática ECORFAN. ESCAMILLA-BOUCHÁN, Imelda, LUNA-SOTO, Vladimir, actualizado al 31 de Diciembre 2018.

Las opiniones expresadas por los autores no reflejan necesariamente las opiniones del editor de la publicación.

Queda terminantemente prohibida la reproducción total o parcial de los contenidos e imágenes de la publicación sin permiso del Instituto Nacional del Derecho de Autor.

Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias

Definición del Research Journal

Objetivos Científicos

Apoyar a la Comunidad Científica Internacional en su producción escrita de Ciencia, Tecnología en Innovación en el Área de Ciencias Agropecuarias y Biotecnología, en las Subdisciplinas Agronomía, Bosques y maderas, Ciencia forestal, Ciencia veterinaria, Fitopatología, Peces y fauna, zootecnia, Tecnología de alimentos, Agroquímica, Horticultura, Producción animal, Ingeniería agrícola, Biotecnología agrícola.

ECORFAN-México S.C es una Empresa Científica y Tecnológica en aporte a la formación del Recurso Humano enfocado a la continuidad en el análisis crítico de Investigación Internacional y está adscrita al RENIECYT de CONACYT con número 1702902, su compromiso es difundir las investigaciones y aportaciones de la Comunidad Científica Internacional, de instituciones académicas, organismos y entidades de los sectores público y privado y contribuir a la vinculación de los investigadores que realizan actividades científicas, desarrollos tecnológicos y de formación de recursos humanos especializados con los gobiernos, empresas y organizaciones sociales.

Alentar la interlocución de la Comunidad Científica Internacional con otros centros de estudio de México y del exterior y promover una amplia incorporación de académicos, especialistas e investigadores a la publicación Seriada en Nichos de Ciencia de Universidades Autónomas - Universidades Públicas Estatales - IES Federales - Universidades Politécnicas - Universidades Tecnológicas - Institutos Tecnológicos Federales - Escuelas Normales - Institutos Tecnológicos Descentralizados - Universidades Interculturales - Consejos de CyT - Centros de Investigación CONACYT.

Alcances, Cobertura y Audiencia

Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias es un Research Journal editado por ECORFAN-Mexico S.C en su Holding con repositorio en Bolivia, es una publicación científica arbitrada e indizada con periodicidad trimestral. Admite una amplia gama de contenidos que son evaluados por pares académicos por el método de Doble-Ciego, en torno a temas relacionados con la teoría y práctica de la Agronomía, Bosques y maderas, Ciencia forestal, Ciencia veterinaria, Fitopatología, Peces y fauna, zootecnia, Tecnología de alimentos, Agroquímica, Horticultura, Producción animal, Ingeniería agrícola, Biotecnología agrícola con enfoques y perspectivas diversos, que contribuyan a la difusión del desarrollo de la Ciencia la Tecnología e Innovación que permitan las argumentaciones relacionadas con la toma de decisiones e incidir en la formulación de las políticas internacionales en el Campo de las Ciencias Agropecuarias y Biotecnología. El horizonte editorial de ECORFAN-Mexico® se extiende más allá de la academia e integra otros segmentos de investigación y análisis ajenos a ese ámbito, siempre y cuando cumplan con los requisitos de rigor argumentativo y científico, además de abordar temas de interés general y actual de la Sociedad Científica Internacional.

Consejo Editorial

FLORES - PACHECO, Juan Asdrúbal. PhD
Universidad de Valladolid

HERNÁNDEZ - CASTRO, Rigoberto. PhD
Universidad de Cantabria

CAUICH - KUMUL, Roger Gaspar. PhD
University of Kentucky

ORTIZ - LAUREL, Hipólito. PhD
University of California

SANDOVAL – SALAS, Fabiola. PhD
Universidad de Castilla

ESCOBEDO - BONILLA, Cesar Marcial. PhD
Universidad de Gante

GONZALEZ - TORRIVILLA, Cesar Castor. PhD
Universidad Central de Venezuela

GONZALEZ, ALVARADO, Juan Manuel. PhD
Universidad Politécnica de Madrid

MEDAL, Julio C. PhD
University of Arkansas

PERALTA - FERRIZ, Cecilia. PhD
University of Washington

HERNÁNDEZ - MARTINEZ, Rufina. PhD
University of California

ARAUJO - BURGOS, Tania. PhD
Universita Degli Studi di Napoli Federico II

GARCÍA - DE SOTERO, Dora Enith. PhD
Universidad de Sao Paulo

TAPIA - VARGAS, Luis Mario. PhD
Consejo Superior de Investigaciones Científicas

ROMERO - PÉREZ, Diego. PhD
University of California

LIZARDI - MENDOZA, Jaime. PhD
Queen's University of Belfast

BARRIENTOS - PRIEGO, Alejandro F. PhD
Colegio de Postgraduados

PÉREZ - PÉREZ, Jefferson Uvaldo. PhD
Universidad Autónoma Chapingo

LUNA - PALOMERA, Carlos. PhD
Universidad Juárez Autónoma de Tabasco

PARTIDA - RUVALCABA, Leopoldo. PhD
Colegio de Postgraduados

REYES - MONTES, María del Rocío. PhD
Universidad Nacional Autónoma de México

LEYVA - MIR, Santos Gerardo. PhD
Colegio de Postgraduados

Comité Arbitral

CORTES - SANCHEZ, Alejandro de Jesús. PhD
Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey

ÁNGEL - CUAPIO, Rafael Alejandro. PhD
Universidad Autónoma Metropolitana

SÁNCHEZ - OROZCO, Raymundo. PhD
Tecnológico de Estudios Superiores de Jocotitlán

DEL ÁNGEL - CORONEL, Oscar Andrés. PhD
Instituto Tecnológico de Veracruz

MEDINA - SAAVEDRA, Tarsicio. PhD
Universidad Nacional Autónoma de México

MORALES - VALENZUELA, Guadalupe. PhD
Colegio de Postgraduados

AVENDAÑO - ARRAZATE, Carlos Hugo. PhD
Colegio de Postgraduados

BELTRAN - MIRANDA, Claudia Patricia. PhD
Universidad de Guadalajara

CANTEROS, Cristina Elena. PhD
Universidad Nacional Autónoma de México

RUIZ - AGUILAR, Graciela M.L. PhD
Instituto Politécnico Nacional

MENA - VIOLANTE, Hortencia Gabriela. PhD
Instituto Politécnico Nacional

SAHAZA - CARDONA, Jorge Humberto. PhD
Universidad Nacional Autónoma de México

JOVEL, Juan. PhD
University of Alberta

LIÑAN - CABELLO, Marco Agustín. PhD
Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada

ROVIROSA - HERNANDEZ, Ma. de Jesús. PhD
Universidad Autónoma de Tamaulipas

ACOSTA - NAVARRETE, María Susana. PhD
Instituto Tecnológico de Celaya

MÉNDEZ - MEDINA, Rubén Danilo. PhD
Universidad Nacional Autónoma de México

MORÁN - SILVA, Ángel. PhD
Universidad Veracruzana

GALINDO - CORTES, Gabriela. PhD
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste

TERREROS - MECALCO, Jesús. PhD
Instituto Tecnológico de Toluca

MARTINEZ - SCOTT, Marcia Maribel. PhD
Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

CHAVEZ - SANTOSCOY, Rocío Alejandra. PhD
Universidad Autónoma de Baja California

Cesión de Derechos

El envío de un Artículo a Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias emana el compromiso del autor de no someterlo de manera simultánea a la consideración de otras publicaciones seriadas para ello deberá complementar el Formato de Originalidad para su Artículo.

Los autores firman el Formato de Autorización para que su Artículo se difunda por los medios que ECORFAN-México, S.C. en su Holding Bolivia considere pertinentes para divulgación y difusión de su Artículo cediendo sus Derechos de Obra.

Declaración de Autoría

Indicar el Nombre de 1 Autor y 3 Coautores como máximo en la participación del Artículo y señalar en extenso la Afiliación Institucional indicando la Dependencia. Identificar el Nombre de 1 Autor y 3 Coautores como máximo con el Número de CVU Becario-PNPC o SNI-CONACYT- Indicando el Nivel de Investigador y su Perfil de Google Scholar para verificar su nivel de Citación e índice H.

Identificar el Nombre de 1 Autor y 3 Coautores como máximo en los Perfiles de Ciencia y Tecnología ampliamente aceptados por la Comunidad Científica Internacional ORC ID - Researcher ID Thomson - arXiv Author ID - PubMed Author ID - Open ID respectivamente

Indicar el contacto para correspondencia al Autor (Correo y Teléfono) e indicar al Investigador que contribuye como primer Autor del Artículo.

Detección de Plagio

Todos los Artículos serán testeados por el software de plagio PLAGSCAN si se detecta un nivel de plagio Positivo no se mandara a arbitraje y se rescindirá de la recepción del Artículo notificando a los Autores responsables, reivindicando que el plagio académico está tipificado como delito en el Código Penal.

Proceso de Arbitraje

Todos los Artículos se evaluarán por pares académicos por el método de Doble Ciego, el arbitraje Aprobatorio es un requisito para que el Consejo Editorial tome una decisión final que será inapelable en todos los casos. MARVID® es una Marca de derivada de ECORFAN® especializada en proveer a los expertos evaluadores todos ellos con grado de Doctorado y distinción de Investigadores Internacionales en los respectivos Consejos de Ciencia y Tecnología el homólogo de CONACYT para los capítulos de America-Europa-Asia-Africa y Oceanía. La identificación de la autoría deberá aparecer únicamente en una primera página eliminable, con el objeto de asegurar que el proceso de Arbitraje sea anónimo y cubra las siguientes etapas: Identificación del Research Journal con su tasa de ocupamiento autoral - Identificación del Autores y Coautores- Detección de Plagio PLAGSCAN - Revisión de Formatos de Autorización y Originalidad-Asignación al Consejo Editorial- Asignación del par de Árbitros Expertos-Notificación de Dictamen-Declaratoria de Observaciones al Autor-Cotejo de Artículo Modificado para Edición-Publicación.

Instrucciones para Publicación Científica, Tecnológica y de Innovación

Área del Conocimiento

Los trabajos deberán ser inéditos y referirse a temas de Agronomía, Bosques y maderas, Ciencia forestal, Ciencia veterinaria, Fitopatología, Peces y fauna, zootecnia, Tecnología de alimentos, Agroquímica, Horticultura, Producción animal, Ingeniería agrícola, Biotecnología agrícola y a otros temas vinculados a las Ciencias Agropecuarias y Biotecnología.

Presentación del Contenido

Como primer artículo presentamos, *Evaluación preliminar de la calidad de astilla de madera como base para una estandarización de biocombustibles sólidos en México*, por CARRILLO-ÁVILA, Noel, FUENTES-LÓPEZ, Martha Elena, SUÁREZ-PATLÁN, Edna Elena y DURÁN-SÁNCHEZ, Ezequiel, con adscripción en el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias, como siguiente artículo presentamos, *Producción de Stevia (Stevia rebaudiana Bertoni) mediante microorganismos en la Península de Yucatán*, por JIMÉNEZ-CHI, José Antonio, EK-UC, Azael Oseas y CANUL-MARTÍNEZ, Juan Pablo, con adscripción en la Universidad Tecnológica del Mayab, como siguiente artículo presentamos, *Aislamiento y cuantificación de esclerocios de Sclerotium cepivorum en suelo contaminado: Mejoramiento de técnicas de determinación*, por VALDÉS-SANTIAGO, Laura, ORDAZ-ARIAS, Ayabeth, HERRERA-PÉREZ, Gabriel y VARGAS-BERNAL, Rafael, con adscripción en el Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, como siguiente artículo presentamos, *Estudio preliminar de la repelencia de los ovinos a las garrapatas*, por MARTINEZ-GONZALEZ, Sergio, ESCALERA-VALENTE, Francisco, CARMONA-GASCA, Carlos y AVILA-RAMOS, Fidel, con adscripción en la Universidad Autónoma de Nayarit y la Universidad de Guanajuato, como último artículo presentamos, *Conservación a largo plazo de Gmelina arborea por el método de criopreservación con crio-placas de Aluminio*, por CRUZ-GUTIÉRREZ, Esmeralda Judith, ARADILLAS-TOVAR, Luis Ángel, BRAVO-AVILA, Francisco Miguel y ARADILLAS-TOVAR, Adonái Jonas, con adscripción en el Centro nacional de Recursos Genéticos.

Contenido

Artículo	Página
Evaluación preliminar de la calidad de astilla de madera como base para una estandarización de biocombustibles sólidos en México CARRILLO-ÁVILA, Noel, FUENTES-LÓPEZ, Martha Elena, SUÁREZ-PATLÁN, Edna Elena y DURÁN-SÁNCHEZ, Ezequiel <i>Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias</i>	1-7
Producción de Estevia (<i>Stevia rebaudiana Bertoni</i>) mediante microorganismos en la Península de Yucatán JIMÉNEZ-CHI, José Antonio, EK-UC, Azael Oseas y CANUL-MARTÍNEZ, Juan Pablo <i>Universidad Tecnológica del Mayab</i>	8-12
Aislamiento y cuantificación de esclerocios de <i>Sclerotium cepivorum</i> en suelo contaminado: Mejoramiento de técnicas de determinación VALDÉS-SANTIAGO, Laura, ORDAZ-ARIAS, Ayabeth, HERRERA-PÉREZ, Gabriel y VARGAS-BERNAL, Rafael <i>Instituto Tecnológico Superior de Irapuato</i>	13-17
Estudio preliminar de la repelencia de los ovinos a las garrapatas MARTINEZ-GONZALEZ, Sergio, ESCALERA-VALENTE, Francisco, CARMONA-GASCA, Carlos y AVILA-RAMOS, Fidel <i>Universidad Autónoma de Nayarit</i> <i>Universidad de Guanajuato</i>	18-22
Conservación a largo plazo de <i>Gmelina arborea</i> por el método de crioconservación con crio-placas de Aluminio CRUZ-GUTIÉRREZ, Esmeralda Judith, ARADILLAS-TOVAR, Luis Ángel, BRAVO-AVILA, Francisco Miguel y ARADILLAS-TOVAR, Adonái Jonas <i>Centro nacional de Recursos Genéticos</i>	23-26

Evaluación preliminar de la calidad de astilla de madera como base para una estandarización de biocombustibles sólidos en México

Preliminary assessment of the quality wood chips as a basis for a standardization of solid biofuels in Mexico

CARRILLO-ÁVILA, Noel†*, FUENTES-LÓPEZ, Martha Elena, SUÁREZ-PATLÁN, Edna Elena y DURÁN-SÁNCHEZ, Ezequiel

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias, México

ID 1^{er} Autor: Noel, Carrillo-Ávila / ORC ID: 0000-0001-7084-8101, CVU CONACYT ID: 215835

ID 1^{er} Coautor: Martha Elena, Fuentes-López / ORC ID: 0000-0002-2818-365X, CVU CONACYT ID: 35252

ID 2^{do} Coautor: Edna Elena, Suárez-Patlán / ORC ID: 000-0002-7883-625X, CVU CONACYT CVU ID: 237694

ID 3^{er} Coautor: Ezequiel, Durán-Sánchez / ORC ID: 0000-0002-5071-8737, CVU CONACYT ID: 874439

Recibido 18 de Agosto, 2018; Aceptado 8 de Septiembre, 2018

Resumen

México no cuenta con estándares de caracterización ni de clasificación de los biocombustibles sólidos, su calidad y comercialización se hacen bajo medidas coloquiales o tradicionales según la zona donde son producidos. En el presente trabajo se evaluaron tres características de calidad para diagnosticar las clases de astilla que actualmente se producen en el país. Se colectaron 10 procedencias de madera particulada y se evaluaron en cuanto a el tamaño y la distribución de las partículas, también se midió el poder calorífico de cada muestra así como el contenido porcentual de cenizas. Se colectaron siete tipos de astilla de madera sólida, dos de carteza y un tipo de madera residual de chapa; todas las procedencias fueron preparadas según normas europeas de caracterización y clasificación. Se encontró que sólo una procedencia clasificó como dentro de la clase P45S, la cual es tipificada como la última de tres calidades manejada en el estándar. El poder calorífico promedio fue de 18.73 MJ kg⁻¹, típico para pináceas según la mayoría de las referencias. En cuanto al parámetro de contenido de ceniza, éste calificó como primera o A1, ya que para todas las muestras el valor fue menor de 1.0 %.

Astillas, Biocombustibles sólidos

Abstract

Mexico does not have standards for characterization or classification to its solid biofuels, the quality and marketing are made under traditional measures according to the area where they are produced. In the present work three quality characteristics were evaluated to diagnose the kinds of wood chips that are currently produced in the country. Ten provenances of particulate wood were collected and evaluated in terms of the size and distribution of the particles, the calorific value besides and the percentage content of ashes were also measured. Seven types of solid wood chips were collected, two of bark and one of waste wood from board industrie. All provenances were prepared according to european characterization and classification standards. It was found that only one provenance was classified within the P45S class, which is typified as the last of three qualities in the standard used. The average heat value was 18.73 MJ kg⁻¹, typical for pineapples according to most of the references. As for the parameter of ash content, it was classified as first or A1, since for all samples the value was less than 1.0 %.

Chip wood, Solid biofuels

Citacion: CARRILLO-ÁVILA, Noel, FUENTES-LÓPEZ, Martha Elena, SUÁREZ-PATLÁN, Edna Elena y DURÁN-SÁNCHEZ, Ezequiel. Evaluación preliminar de la calidad de astilla de madera como base para una estandarización de biocombustibles sólidos en México. Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias. 2018, 5-17: 1-7.

*Correspondencia del Autor (Correo electrónico: carrillo.noel@inifap.gob.mx)

†Investigador contribuyendo como primer Autor.

Introducción

Cada año se incrementa en 0.7 EJ la cantidad de fibras vegetales para generar energía en todo el mundo. Las astillas de madera jugarán un papel muy importante y será necesario trabajar en estándares de calidad para mejorar su comercialización y uso sobre los procesos que requieren energía térmica. En México aún se procesan a fuego directo más de 18 millones de metros cúbicos de madera (0.26 EJ), como tradicionalmente lo hacen muchos países de Asia (22.5 EJ) y África (12.5 EJ), quienes son los continentes con mayor proporción de usuarios de biomasa a fuego directo (Bharadwaj, 2014). Para el año 2020, la Comunidad Europea pretende cubrir más del 35% de la energía y biocombustibles con biomasa (Salehi et al., 2019).

La transición a usos con tecnologías mejoradas para la generación de calor en estufas y calefacción domiciliar tendrá que ir a la par de productos bioenergéticos estandarizados, además de cumplir con las calidades que demanda la competencia internacional. El incremento en el uso de biomasa para generación eléctrica en países como India y China es 15 veces mayor a lo producido cuando inició el presente siglo. Las tasas de uso de biomasa son exponenciales (WBA, 2016).

Con el avance tecnológico y procesos más eficientes para conversiones de materia a energía, es factible proyectar la utilización de la biomasa fresca en procesos económicamente competitivos ante los energéticos derivados de recursos fosilizados, hecho con repercusiones ecológicas mucho menos alterantes en la química del ambiente. En el mundo, los recursos forestales participan con 47.4 EJ al año, aportando 87 % de la bioenergía y que en conjunto representa 14.3 % de la demanda energética del hombre civilizado (Bharadwaj, 2014).

El aporte de los bosques y selvas es equivalente a poco más de cinco veces los recursos de energía primaria de México, mostrando la potencialidad que tiene la biomasa forestal sólida como una gran fuente de energía limpia (Maser et al., 2010).

Una modalidad de dendrocombustible es la astilla, producida de residuos forestales y que se usa con fines energéticos o bien como un producto intermedio en la fabricación de tableros o pellets. Como referencia mundial, se sabe que la generación de calor representa 92 % de los usos actuales de la biomasa, los combustibles empleados para el transporte y la generación eléctrica cubren el porcentaje restante (WBA, 2016).

El manejo debe considerar ciertos protocolos para poder garantizar que aumente su valía como combustible al acondicionar la madera en cierta humedad, así como evitar la pérdida de masa por degradación y el aumento en la concentración de cenizas. Hay que cuidar la actividad microbiana dado que hay un alto contenido de humedad inicial de la madera, además de la temperatura derivada de las reacciones químicas; si no hay manejo de estos factores puede que las temperaturas alcancen niveles superiores a los 100 °C, corriendo riesgo de auto-ignición. Humedad alta, cierta temperatura y la gran superficie de contacto de las astillas almacenadas, propician condiciones ideales para la generación de hongos y bacterias que deterioran la química original de las fibras (Hofmann et al., 2017).

En México, no hay entidades que den referentes de astilla normada como uso bioenergético, así como tampoco puntos de partida hacia la normalización de metodologías para el proceso de producción de astilla. Lo anterior hace necesario desarrollar estudios para generar soporte ante productores forestales e industriales consumidores de biomasa forestal astillada, quienes también necesitarán vincularse con empresas o consorcios especializados en investigación o desarrollo e innovación (I+D+I), de tal forma que la industria se apegue a normatividades y pueda ofrecer productos en mercados certificados.

Históricamente, la Asociación Americana de Ensayos y Materiales (ASTM) ha generado normas para estandarizar la calidad de muchos productos y materiales. En Europa se han generado normas en varios países como en Alemania a través del Instituto Alemán de Normalización (DIN), así como en España se han generado las normas UNE por la Asociación Española de Normalización y Certificación.

Regionalmente también en Europa se ha generado el Comité Europeo de Normalización (CEN), el cual bajo consenso de más de treinta miembros genera los estándares europeos (EN). Es común que haya adopciones de países de europeos para las normas CEN, aunque es más común referir las EN como genéricas.

Para el caso de la caracterización de astillas, existen típicamente normas para evaluar las propiedades intrínsecas de la madera, y otras para evaluar las propiedades que el producto presenta en función al procesamiento y manejo de este biocombustible. Para el caso de las primeras, se detecta la evaluación de las fracciones minerales o cenizas en la madera, las fracciones volátiles, la distribución y presencia de componentes elementales. Para el caso de las segundas, se evalúa al humead, la distribución en cuanto al tamaño de la partícula, la humedad distribuida y la densidad aparente del biocombustible sólido. Para el caso de la característica de contenido energético de la madera, ésta está en función tanto al tipo de madera y al contenido de humedad que depende del manejo en planta de la astilla, por lo que dicha prueba es resultado mixto del material como de su procesamiento.

En cuanto al contenido de cenizas, los elementos formadores de este material son Al, Ca, Cl, Fe, K, Mg, P, Na, S, Mn, Si y Ti; en cierta fase de la combustión estos elementos puede causar formación y volatilización de sustancias tóxicas, generación de emisiones particuladas, bajas temperaturas de fusión de ceniza, alta cantidad de mezclas activas de baja viscosidad y temperatura, formación de depósitos, sinterización, taponamientos, corrosión, abrasión y deterioro de los materiales en contacto; todo con impactos potenciales en la operación técnica de los equipos de combustión, en impactos medioambientales y aspectos de salud humana (Vassilev et al., 2017). De la producción bioenergética mundial, 95-97 % es combustión de biomasa y genera aproximadamente 480 millones de toneladas de cenizas, valor comparado con la cantidad de cenizas provenientes de la combustión de carbón mineral (Pavlíková et al., 2018). Se ha demostrado que la corteza presenta considerablemente mayores proporciones de elementos afectantes para los quemadores, como el potasio, cloro, azufre, sodio, calcio y magnesio (Rezaei, 2018).

Los beneficiarios directos de una estandarización de las astillas serían productores forestales, especialmente aquellos con materias primas potenciales para procesar residuos maderables y producir astilla de calidad normalizada; industriales que producen astilla y buscan calificar para ofrecer un producto de mayor valor. Los consumidores nacionales que actualmente consumen astilla para generación de calor serán también usuarios permanentes de los resultados de propuestas normadas bajo protocolos técnicamente factibles, debido a que pueden tratar con productores basándose en una norma referente y asegurar un trabajo estable en calderas o dispositivos de combustión.

Metodología

Se colectó astilla de pino en diez industrias forestales de México para realizar estudios de caracterización. Se llevaron a cabo mediciones para determinar tres características: distribución en el tamaño de las partículas, poder calorífico y contenido de cenizas, parámetros importantes para calificar un biocombustible. Para determinar el tamaño de las astillas, se midieron de 120 partículas y fue registrado el peso o masa de cada pieza, así como sus tres dimensiones espaciales: espesor, amplitud y longitud.

Una vez teniendo estas referencias, se hizo una categorización según la norma europea UNE-EN ISO 17225-4 Clases de astilla de madera Versión corregida 2015. Se realizó un modelo de clasificación totalmente aleatorizado entre las diez procedencias para comparar medias en cuanto a la longitud de cada grupo, con el objeto de evaluar su clasificación según las especificaciones de la norma citada.

Para poder determinar la cantidad de energía por unidad de masa, se utilizó un Calorímetro Parr modelo 6100. El principio se basa en obtener las unidades de energía (MJ kg^{-1}), partiendo de que el equipo utilizado cuenta con un calor específico definido y el cual se utiliza para determinar el valor energético según la variación de energía térmica registrada por la combustión de la biomasa (1.0 g aproximadamente), que fue calcinada en un volumen constante. Se utilizó la norma UNE-EN 14918 Determinación del poder calorífico 2011.

Para la determinación de los valores para el contenido de cenizas se utilizó la metodología mostrada en los estándares UNE-EN ISO 18122 Determinación del contenido de ceniza Versión 2016.

El procedimiento consisten en conseguir las fracciones de humedad y cenizas en función al cambio gravimétrico después de aplicar energía térmica por tiempos y condiciones especificadas. Tanto para valores de calorimetría como para cenizas, se evaluaron diseños totalmente aleatorizados en el programa SAS® con una confiabilidad del 95%.

Resultados

En el análisis de varianza bajo un modelo de clasificación totalmente aleatorizado, donde la variable fue la longitud de las partículas de biomasa astillada para las diez procedencias, resultó que los extremos máximos y mínimos fueron de 61.64 y 44.74 mm, respectivamente.

Los ocho grupos restante se encuentran dentro de dichos valores y de los cuales seis procedencias se encuentran dentro de los 40 y 50 mm. La norma española UNE-EN ISO 17225-4 Clases de astilla de madera, determina tres clases según la longitud predominante y la proporción de su masa correspondiente, las nominaciones son P16S, P31S y P45S.

La mejor clase es P16S y ninguno de las procedencias evaluadas cayó dentro de esa categoría. La peor clase es P45S, donde hubo sólo un caso que entró en dicho grupo; esta clase indica que 60% de la masa de astilla deberá medir en longitud más de 3.15 y menos de 45 mm, soporta hasta 10% de finos, menos de 20% en longitudes entre 46 y 63 mm, menos de 10% en longitudes entre 63 y 200 y ninguna partícula mayor a 200 mm. La astilla mejor calificada en el presente estudio cae como clase P45S, como se muestra en el gráfico 1.

Clasificación de mejor muestra según UNE EN ISO 17225-4 Clase P45S

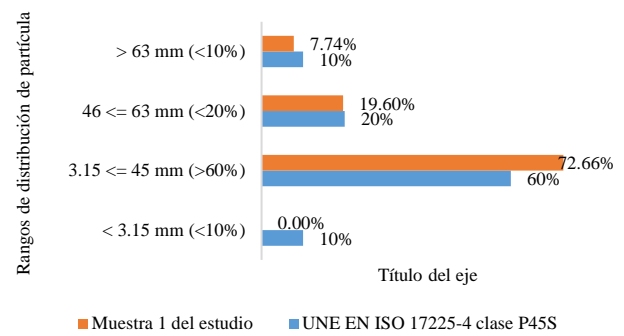


Gráfico 1 Clasificación de astilla mejor calificada del estudio y ajustado a la Norma española UNE-EN ISO 17225 Clase P45S

Fuente: Datos derivados de la muestra experimental

De las 10 procedencias de astilla evaluadas, sólo una con la especificación P45S, las demás no entran en ninguna clasificación por tamaño según la norma de referencia. En cuanto a los resultados para poder calorífico, éstos fueron muy homogéneos. Después de desarrollar un modelo de clasificación totalmente al azar, se encuentra que el mayor valor para poder calorífico fue de 19.56 y el menor de 18.02 MJ kg⁻¹. En la Tabla 1 se muestran los resultados para todas las procedencias estudiadas, incluyendo algunas referencias de calorimetría para el género *Pinus*, todas están dentro de los parámetros delimitados por las especies aquí mostradas. En el caso de las cortezas, éstas no mostraron comportamientos diferentes en cuanto a su energía contenida, una mostó 19.16 y la otra 18.42 MJ kg⁻¹.

Muestra de astilla	Material origen	Poder calorífico (MJ kg ⁻¹)
1	Madera de pino	19.56
2	Corteza de pino	19.16
3	Chapa de pino	18.94
4	Madera de pino	18.90
5	Madera de pino	18.82
6	Madera de pino	18.71
7	Madera de pino	18.53
8	Corteza de pino	18.42
9	Madera de pino	18.27
10	Madera de pino	18.02
Referencia		
(Baker et al., 2012)	<i>Pinus tadea</i>	19.30
(Baker et al., 2012)	<i>Pinus elliotti</i>	19.50
(Tooyserkani et al., 2013)	<i>Pinus spp.</i>	18.80
(García et al., 2014)	<i>Pinus pinea</i>	19.43
(Saldarriaga et al., 2015)	<i>Pinus insignis</i>	18.84
(Yildiz et al., 2015)	<i>Pinus spp.</i>	18.29

Tabla 1 Valores de poder calorífico superior derivado de evaluar 10 procedencias de astilla en México. Las fuentes son mostradas en la misma tabla

En cuanto a los resultados para la evaluación del contenido de cenizas, se encontró que las astillas que provienen de corteza contienen mayor cantidad de elementos minerales, los valores máximo y mínimo para esta variable fueron de 0.56 y 0.22%.

La norma UNE-EN ISO 17225-4 Clase de astillas de madera, establece que se dan tres rangos para calidad para este tipo de biocombustible según el origen del mismo: establece una terminología A1 y A2 para madera virgen y no tratada químicamente. Para estos dos casos tiene límites máximos de contenido de ceniza de 1.0 y 1.5% respectivamente. En cuanto a los materiales B1 y B2 que corresponden a leñas, troncos, materiales de jardinería, residuos industriales y madera químicamente tratada, establece un límite permisible en cuanto al contenido de cenizas 3.0 o menor.

Los resultados de este trabajo se encuentran coincidentes con los de la literatura mostrada en la Tabla 2, donde se muestran los rangos obtenidos para esta variable evaluada. Es importante mencionar que la cantidad de ceniza es determinante cuando el biocombustible se destina para uso en calderas de combustión, ya que un alto contenido de cenizas y la presencia de algunos elementos pueden generar condiciones de fusión mineral a baja temperatura y con ello, problemas de taponamiento de ductos y elementos de los dispositivos de combustión. Cuando una caldera es utilizada a mayores temperaturas de fusión respecto a sus cenizas, puede llegar a limitar paulatimamente su operación o bien convertirla en inoperable.

En términos generales, las coníferas y específicamente el género *Pinus* reporta contenidos de cenizas alrededor de la unidad porcentual, lo que coloca a este tipo de biomasa como una de las más apropiadas para la utilización de astilla en la generación de calor. Considerando las astillas de madera sólida que fueron colectadas, ninguna de ellas sobrepasa la media unidad porcentual en cuanto al contenido de cenizas totales.

Muestra de astilla	Tipo de material	Contenido de ceniza (%)
2	Corteza de pino	0.58
8	Corteza de pino	0.46
5	Madera de pino	0.45
4	Madera de pino	0.40
10	Madera de pino	0.36
9	Madera de pino	0.35
6	Madera de pino	0.34
7	Madera de pino	0.27
1	Madera de pino	0.25
3	Chapa de pino	0.22
Referencia		
(Baker et al., 2012)	<i>Pinus tadea</i>	0.57
(Baker et al., 2012)	<i>Pinus elliotti</i>	0.49
(Tooyserkani et al., 2013)	<i>Pinus spp.</i>	0.34
(García et al., 2014)	<i>Pinus pinea</i>	0.60
(Saldarriaga et al., 2015)	<i>Pinus insignis</i>	1.31
(Yildiz et al., 2015)	<i>Pinus spp.</i>	0.33

Tabla 2 Resultados para el contenido de ceniza en las 10 procedencias de astilla Mexicana

Las fuentes son mostradas en la misma tabla

Es de notar que los pinos mexicanos presentan mejores valores en cuanto a la presencia de cenizas, lo que indica buenos materiales biocombustibles para el uso en calderas de combustión.

Agradecimiento

Las erogaciones para toma de datos en campo así como los equipos para llevar a cabo los experimentos de laboratorio, fueron financiados por el Fondo de Sustentabilidad Energética de la Secretaría de Energía y el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, a través del Proyecto Clúster de biocombustibles sólidos para la generación térmica y eléctrica, con número de referencia 2014-246911.

Conclusiones

El presente trabajo concluye sobre tres aspectos generales. La astilla nacional aún no se apega a las especificaciones de estandarización por tamaño, es necesario establecer una operación de molienda y tamizado tal que pueda lograr mayor homogeneidad en cuanto a la distribución de sus dimensiones, sobre todo para bajar el promedio de las longitudes de la madera particulada. Los dispositivos modernos que queman astilla, requieren de micro astilla gruesa o micro astilla fina que logra altas eficiencias bajo combustión y pueden competir con los pellets, los cuales requieren mucha más infraestructura para su fabricación.

Sólo un aporcedencia de astilla logró la clase más baja que propone la norma europea y es denominada P45S, dado que, en términos generales, no se logran tamaños finos de partícula y no se manejan cribados para concentrar más proporción de la masa en una sólo categoría de longitud.

El poder calorífico obtendio para los grupos de astilla colectados, coincide con los que se reportan para el género *Pinus*. Estos valores representan tangiblemente el potencial energético de los residuos biomásicos como fuentes energéticas limías y distirbuidamente disponibles para el sector rural de México.

El contenido de cenizas para todos lo especímenes colectados resultó de primera calidad. Se considera clase primera a los biocombustibles que contienen menos de uno por ciento de cenizas en su matriz fibrosa, referencia que coincide con todas las procedencias evaluadas. La astilla que se genera a partir de las especies del gener *Pinus* en México tiene la ventaja de que este parámetro es cubierto sin mayor dificultad. La naturaleza biológica de los components minerales de las astillas de pino le imprimen buena proyección hacia la producción de biocombustibles de alta calidad.

Referencias

Baker, A., Greene, D. & Wilson A. (2012, enero 13). Fuels characteristics of woods-run whole tree southern pine chips. *Biomass and Bioenergy*, 37, pp.67-72.

Kummamuru, B. (2015). WBA Global Bioenergy Statistics 2015. Suecia: World Bioenergy Association..

García, R.,Pizarro, C.,Lavín, A., & Bueno, J. (2014, enero 1). Spanish biofuels heating value estimation. Part II: Proximate analysis data. *Fuel*, 117, pp.1139-1147.

Hofmann, N., Mendel, T., Schulmeyer, F., Kupts, D., Borchert, H., & Hartmann, H. (2018, enero 1). Drying effects and dry matter losses during seasonal storage of spruce wood chips under practical conditions. *Biomass and Bioenergy*, 111, pp.196-205.

Masera, O., Arias, T., Ghilardi, A., Guerrero, G., & Patiño, P. (2010, enero 10). Estimación de los consumos nacionales de leña y carbón vegetal para el periodo 2009-2024. Morelia, México: UNAM.

Pavlíková, M., Zemanová, L., Pokorny, J., Záleská, M., Jankovsky, O., Lojka, M., Sedmidubsky, & D., Pavlík, Z. (2018, septiembre 7). Valorization of wood chips ash as an eco-friendly mineral admixture in mortar mix design. *Waste Management*, 80, pp.89-100.

Rezaei, H., & Sokhansanj, S. (2018, junio 14). Physical and thermal characterization of ground bark and ground wood particles. *Renewable Energy*, 129, pp.583-590.

Salehi, H., Poletto, M., Barletta, D., & Larsson, S. (2019, enero 1). Predicting the silo discharge behavior of wood chips - A choice of method. *Biomass and bioenergy*, 120, pp.211-218.

Saldarriaga, J., Aguado, R., Pablos, A., Amutio, M., Olazar, M., & Bilbao, J. (2015, enero 1). Fast characterization of biomass fuels by thermogravimetric analysis (TGA). *Fuel*, 140, pp.744-751.

Tooyserkani, Z., Sokhansanj, S., Bi,X., Lim, J., Lau, A., Saddler, J., Kumar, L., Sui, P., & Melin, S. (2013, enero 1). Steam treatment of four softwood species and bark to produce torrefied wood. *Applied Energy*, 103, pp.514-521.

UNE-EN ISO 14918. (2011, marzo 1). Biocombustibles sólidos. Determinación del poder calorífico, p.61.

UNE-EN ISO 17225-4. (2015, marzo 1). Biocombustibles sólidos. Especificaciones y clases de combustibles. Parte 4: Clases de astillas de madera, p.14.

UNE-EN ISO 18122. (2016, abril 1). Biocombustibles sólidos. Determinación del contenido de ceniza, p.14.

Vassilev, S., Vassileva, C., Song, Y., Li, W., & Feng, J. (2017, julio 18). Ash contents and ash-forming elements of biomass and their significance for solid biofuel combustion. *Fuel*, 208, pp.377-409.

World Bioenergy Association. (2014, enero 1). The role of bioenergy in the global energy mix. Stockholm, Sweden, p.39.

Yildiz, G., Ronsse, F., Venderbosch, R., Duren, R., Kersten, S., & Prins, W. (2015, enero 1). Effect of biomass ash in catalytic fast pyrolysis of pine wood. *Applied Catalysis B: Environmental*, 168-169, pp.203-211. Utilizar sistema APA. No deben estar numerados, tampoco con viñetas, sin embargo en caso necesario de numerar será porque se hace referencia o mención en alguna parte del Artículo.

Producción de Estevia (*Stevia rebaudiana Bertoni*) mediante microorganismos en la Península de Yucatán

Production of Stevia (*Stevia rebaudiana Bertoni*) by microorganisms in the Yucatan Peninsula

JIMÉNEZ-CHI, José Antonio*†, EK-UC, Azael Oseas y CANUL-MARTÍNEZ, Juan Pablo

Universidad Tecnológica del Mayab, Carretera Federal Peto-Santa Rosa, km 5. Peto, Yucatán. CP: 97930

ID 1^{er} Autor: José Antonio, Jiménez-Chi / ORC ID: 0000-0002-5492-9291, CVU CONACYT ID: 171779

ID 1^{er} Coautor: Azael Oseas, Ek-Uc / ORC ID: 0000-0003-1963-7741, CVU CONACYT ID: 939309

ID 2^{do} Coautor: Juan Pablo, Canul-Martínez

Recibido 15 de Julio, 2018; Aceptado 30 de Octubre 2018

Resumen

La producción de Estevia (*Stevia rebaudiana Bertoni*) mediante microorganismos en la Península de Yucatán tiene como objetivo el uso de micorrizas y bacterias durante el proceso de producción orgánica de la planta. El uso de hongos y bacterias benéficas para la producción orgánica de estevia es significativo debido a que las hojas y sus glucósidos recientemente se han comenzado a utilizar de manera importante como edulcorantes, por lo que la producción orgánica se considera como estrategias para la prevención de la salud y mejora de la misma, en especial para las personas con diabetes y con altos grados de obesidad. El experimento se llevó a cabo en la Universidad Tecnológica del Mayab. El proyecto consistió en la producción orgánica de Estevia utilizando micorriza (*Glomus intraradices*) y bacterias Bactocrop® (*Bacillus* y *Azospirillum*); se utilizaron 2 variedades de Estevia (Morita 2 y selección INIFAP) con tres tratamientos cada uno (Micorriza, Bactocrop y testigo). Se evaluó altura de la planta, diámetro de copa, peso fresco, peso seco y rendimiento. El tratamiento sobresaliente fue la selección INIFAP asociado con micorriza.

Estevia, Orgánico, Hongo, Bacteria

Abstract

The production of Stevia (*Stevia rebaudiana Bertoni*) with microorganisms in the Yucatan Peninsula is aimed at the use and mycorrhizal bacteria during the process of organic production of the plant. The use of fungi and beneficial bacteria for the Organic Production of Stevia is significant due to a tail of the leaves and their glycosides have recently begun to be used as an important way as sweeteners, so organic production is considered as strategies for Prevention of health and improvement of it, especially for people with diabetes and with high degrees of obesity. The experiment was developed at the Universidad Tecnológica del Mayab. The Project Consists of Stevia Organic Production using mycorrhiza (*Glomus intraradices*) Bactocrop® bacteria (*Bacillus* and *Azospirillum*), 2 Stevia varieties (Morita 2 and Selection INIFAP) were used with three treatments each (Mycorrhiza, Bactocrop and control). The height of the plant is evaluated, yield in fresh and dry. The outstanding treatment was the INIFAP selection associated with mycorrhiza.

Stevia, Organic, Fungus, Bacteria

Citacion: JIMÉNEZ-CHI, José Antonio, EK-UC, Azael Oseas y CANUL-MARTÍNEZ, Juan Pablo. Producción de Estevia (*Stevia rebaudiana Bertoni*) mediante microorganismos en la Península de Yucatán. Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias. 2018, 5-17: 8-12.

*Correspondencia del Autor (Correo electrónico: jsejimenez@hotmail.com)

†Investigador contribuyendo como primer Autor.

Introducción

La planta de Estevia es nativa de Sudamérica y Centroamérica, característico por su potencial edulcorante (glucósidos diterpenos derivados de esteviol). El mercado de edulcorantes, no escapa a la tendencia y en los últimos años se ha dado un boom en torno a productos más dulces y con menos calorías; sin embargo, muchos de ellos a pesar de su gran acogida en los mercados de suplementos dietéticos, son punto de una fuerte controversia sobre los efectos que su consumo pueda traer a la salud humana, ya sea por su uso intenso o frecuente (Soriguer et al., 2012).

La demanda por edulcorantes naturales va en aumento en el mundo debido principalmente a los efectos secundarios que producen los edulcorantes sintéticos. Por ejemplo, Japón ya ha substituido la mitad del consumo de azúcar de caña por azúcar de Estevia y en este país están prohibidos los edulcorantes sintéticos desde los años 70. Otros países, sobre todo del primer mundo, van por el mismo camino.

La Estevia, es por lo tanto, un cultivo innovador y muy rentable, cuya producción debe ser meramente orgánica para que sea considerado como producto saludable, ya que la producción con agroquímicos puede traer repercusiones al consumidor con el paso del tiempo (Curi et al., 1986). La población de Yucatán se caracteriza por ser gran consumidor de edulcorantes sintéticos que con el tiempo les afecta la salud, por lo tanto el lograr sustituir los edulcorantes sintéticos como el Aspartame, Sacarinas, Ciclamatos, etc, productos que cada vez son más cuestionados por presentar efectos tóxicos e incluso alguno de ellos cancerígenos, con Estevia, disminuiríamos la incidencia de enfermedades ocasionadas por exceso de edulcorantes sintéticos en la sangre a los usuarios que son, en su mayor parte, diabéticos, obesos o simplemente personas dispuestas a mantenerse o bajar de peso (Ulbricht et al., 2010).

La producción de Estevia mediante el uso de microorganismos incrementará la producción orgánica en la Península de Yucatán y contribuirá a mejorar la salud de sus habitantes evitando el uso de productos químicos nocivos para la salud

Metodología a desarrollar

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en la Universidad Tecnológica del Mayab que se encuentra en el municipio de Peto, ubicada a 180 km de la ciudad de Mérida, capital del estado, al sur de Yucatán; comprendido entre los paralelos 19° 47' y 20° 19' de latitud norte y los meridianos 88° 35' y 88° 59' de longitud oeste; posee una altura promedio de 35 msnm. Limita al norte con Yaxcabá – Tahdziú; al sur con el estado de Quintana Roo; al este con Chikindzonot y al oeste con Tzucacab.

El terreno donde se implementó el cultivo de Estevia fue de 900 m². Primero se realizó una limpieza y nivelación del terreno con machetes, azadones, rastrillos y carretillas.

Se prepararon surcos de 20 cm de ancho por 30 m de largo con la ayuda de azadones y motocultor. La profundidad de remoción del suelo (surcos) para la siembra fue de 20 cm

Se adquirieron 1,800 plántulas de Estevia (900 de la variada morita II y 900 de Selección INIFAP) provenientes del campo experimental del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) de Mococho, Yucatán para siembra en el campo experimental de la Universidad Tecnológica del Mayab ubicada en el municipio de Peto, Yucatán. Se instaló sistema de riego por goteo que consistió en tuberías de plástico de 1 pulgada y cinta calibre 6000 con distanciamiento entre goteros de 20 cm alimentado por una bomba de 2 Hp

La inoculación con bacterias de los géneros *Bacillus spp* y *Azospirillum spp* (Bactocrop®) y Micorrizas (*Glomus intraradices*) se efectuó el 30 de junio de 2016 mediante inmersión en una solución preparada a razón de 10 g X litro de agua respectivamente. Antes del trasplante se sumergió todo el cepellón en la solución, posteriormente se procedió a enterrar la plántula en el suelo cuidando enterrar todo el cepellón. Posteriormente se realizaron aplicaciones de compensación a razón de 3 g X litro de agua aplicada vía drench. Los insectos plaga que se presentaron en la plantación de Estevia fue: mosquita blanca (*Bemisia tabaci*), minador de la hoja (*Liriomyza munda*), grillo (*Tettigonia viridissima*), gusano (*Spodoptera spp*) y araña roja (*Tetranychus urticae*).

Para el control de estas plagas se realizaron aplicaciones de productos orgánicos a base de canela, ajo y neem (Biocanela y Neem All). El control de malezas se realizó mediante deshierbes manuales antes y durante el proceso de producción de Estevia, por lo que las plantas no tuvieron competencia con arvenses y se desarrollaron adecuadamente.

Las podas se realizaron cada 30 días a partir de los 45 días después del trasplante, se efectuó con una tijera podadora en las primeras horas de la mañana, evitando horas de alta radiación solar, de tal manera de evitar deshidratación y necrosis en hojas, lo que disminuiría su calidad.

Primer corte: Primeramente se efectuó una poda de uniformización o de limpieza. Ésta práctica se realizó para uniformizar el cultivo permitiendo de esa forma una brotación homogénea para el éxito de los posteriores cortes, esta poda consistió en cortar el ápice de las plantas con la finalidad de generar nuevos brotes. También se realizó un corte intermedio en el cual se eliminó toda la floración al cultivo, esta labor se realizó debido a que no es recomendable que la planta floree porque disminuye el tamaño de la hoja, afectando la calidad de la misma.

El primer corte cosecha se efectuó a las 45 días después del trasplante fue el más productivo, ya que representó el 45% de la cosecha total. Para la obtención del rendimiento se realizaron 4 cortes en lapsos de 30 días X corte.

Se utilizó el diseño de bloques completos al azar con 3 repeticiones en los que se evaluaron los tratamientos Variedad Morita II, Variedad Morita II asociado con micorriza, Variedad Morita II asociado con bacteria, Variedad Selección INIFAP, Variedad Selección INIFAP asociado con Micorriza y Variedad Selección INIFAP asociado con bacterias. Se consideró 10 plantas para cada muestra ubicadas en el centro de cada parcela de cada repetición. A partir de los 30 días inicio la toma de datos hasta el día 120 que fue cuando inició el análisis de datos; se tomaron las siguientes variables: Altura de la planta, se midió la altura máxima de la planta con un flexómetro graduada en centímetros; diámetro de copa.

Se realizaron las mediciones tomando en cuenta el diámetro del dosel antes de cada corte; peso fresco por planta, después de la cosecha del material vegetativo se pesó en fresco con una báscula digital con precisión a 0.01 g; Peso seco por planta, una vez cosechado se colocó en contenedores de plástico para posteriormente separa las hojas y las ramas y ambas se pesaron en báscula digital; rendimiento de hoja seca en ton ha^{-1} , se consideró el peso seco de la hoja.

Los datos tomados en campo se capturaron y ordenaron en el programa Excel para proceder al análisis estadístico con el procedimiento GLM. El análisis de comparación de medias de los bloques completos al azar se realizó con el método de Tukey Studentized range (HSD) ($p = 0.05$).

Resultados

Altura de la planta: de acuerdo al resultado del análisis estadístico y la comparación de medias, el tratamiento con mayor altura fue Morita II más bacteria con 40.2 cm y el menor Morita testigo con 36.95 cm.

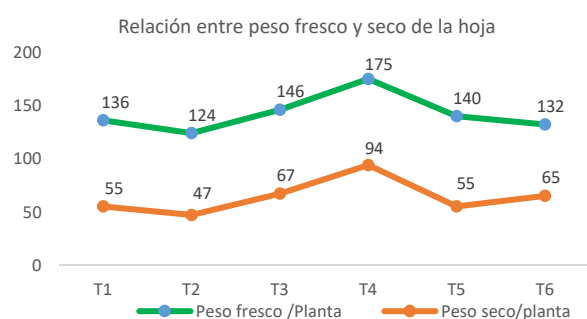
Cabe mencionar que esta variable no tuvo relación positiva con rendimiento debido a que los tratamientos con mayor altura no tuvieron mayor producción; los tratamientos con mayor altura tuvieron diámetros de tallos menores lo que se reflejó en el decremento de la producción. El incremento en altura pudo deberse a la aplicación de bacterias *Bacillus spp* y *Azospirillum spp* que contribuyó a mayor generación de raíz en la planta. Ramírez (2011) obtuvo alturas de 46.2 y 48.4 cm empleando tratamiento con dosificación de nitrógeno y potasio (5 meq. L-1).

La altura obtenida no se consideró un efecto de la temperatura, más bien fue debido a la aplicación de microorganismos y el buen manejo de la planta; la mayor altura beneficio a la planta en otras variables, pero no las relacionadas a producción.

Diámetro de copa: Villa y Chif (2008) mencionan que el desarrollo de la copa de la planta es entre 40 a 46 centímetros, para el caso de Yucatán si bien no alcanza su mayor altura, si presenta un buen número de brotes en ambos casos, siendo mejor en la localidad de Tizimín. La media general del diámetro de copa fue de 41.78 cm, el tratamiento con mayor diámetro fue selección INIFAB más micorriza con 48.25 cm, el menor diámetro lo obtuvo Morita 2 más micorriza con 38.2 cm. La variable diámetro de copa si tuvo relación con rendimiento debido a que el tratamiento selección INIFAB más micorriza que obtuvo mayor diámetro de copa también tuvo mayor rendimiento.

Peso fresco y seco de la planta: la relación entre peso fresco y seco de la planta fue correlativa, la media para fresco fue de 142.16 gramos y peso seco 63.83 gramos, los tratamientos con mayor peso fresco fueron selección INIFAB más micorriza y selección INIFAB más bacteria con 175 y 146 gramos/planta con un peso seco de 94 y 67 gramos por planta respectivamente. López (2013) obtuvo una media de 68.8 gramos por planta y menciona que el rendimiento de hoja seca de la variedad Morita II está en función de la fertilización de la misma, ya que el incremento de K sin la presencia de N y P afecta negativamente el crecimiento y desarrollo de la planta reflejándose en la producción de hoja fresca y por ende hoja seca.

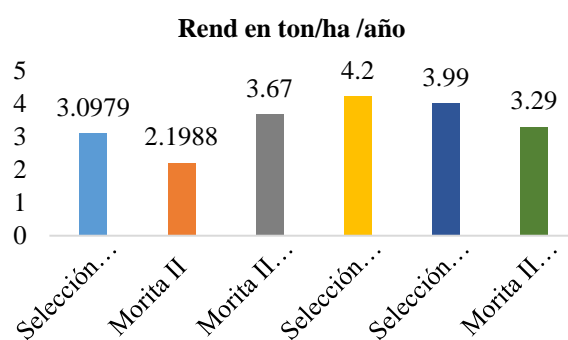
El uso de hongos micorrizicos *Glomus intraradices* influyó la resistencia a enfermedades fúngicas que se presentaron en la mayoría de las plantas y afectaron la producción de hojas en los tratamiento sin inocular, lo cual se reflejó en el rendimiento de hoja seca.



Gráfica 1 Relación entre peso fresco y seco de la hoja por planta

Rendimiento de hoja seca: la media general de los tratamientos fue de 3.40 ton/ha, siendo los mejores selección INIFAB más micorriza y selección INIFAB más bacteria con 4.2 y 3.99 ton/ha respectivamente. Los resultados indicaron que existen diferencias significativas ($P < 0.05$) en el rendimiento de hoja seca de los dos genotipos (Var. selección INIFAB y Morita II) utilizados. Cabe mencionar que todos los tratamientos no obtuvieron los rendimientos estimados debido a que se presentó problemas de hongos (*Fusarium sp*) mismo que afectó la producción de hoja seca. López (2013) en el sitio Balancán, obtuvo con la variedad Morita II un rendimiento promedio de 5.8 t ha⁻¹ por año y con la variedad criolla un rendimiento promedio de 4.6 t ha⁻¹ de hoja seca.

En el sitio Jalapa, la variedad Morita II obtuvo un rendimiento promedio de 6 t ha⁻¹. Los rendimientos obtenidos por López no fueron superados por los tratamientos de este proyecto, esto se pudo haber sido a que López aplicó fertilizantes en base a la fórmula 160-180-40 y controló *Fusarium sp* aplicando fungicidas basados en oxiclورو de cobre y mancozeb para la prevención y Propiconazole, Metalaxil, Carbendazim o el Benomyl de acción sistémica para el control. Sánchez et al., (2012) menciona que en Yucatán, las enfermedades de origen fungoso asociados al follaje causan merma en la producción, lo cual reflejó en el proyecto disminuyendo significativamente la producción.



Gráfica 2 Rendimiento de hoja seca de Estevia en ton/ha/año

Agradecimiento

Al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) y la Universidad Tecnológica del Mayab por hacer posible este proyecto.

Conclusiones

En base a las variables de rendimiento evaluadas se concluye que la variedad Selección INIFAB asociado a la aplicación de micorrizas (*Glomus intraradices*) y bacterias *Bacillus spp* y *Azospirillum spp* incrementan un 35.57 y 28.8 % respectivamente la producción de Estevia

Referencias

Curi, R., Alvarez, M., Bazotte, R. B., Botion, L. M., Godoy, J. L., & Bracht, A. (1986). Effect of Stevia rebaudiana on glucose tolerance in normal adult humans. Braz J Med Biol Res, 19(6), 771-774.

López L. R., Ramírez J. G., Nava P. R., Ramírez S. J. 2013. Producción de Estevia (*Stevia rebaudiana Bertoni*) en suelos luvisoles de Tabasco, México. Memorias del VII simposio internacional de stevia, Mérida, Yucatán, México. 160-174 pag.

Ramírez Jaramillo G., W. Avilés Baeza., Y. Moguel Ordóñez. y S. Góngora González. y C. May Lara. 2011. Estevia (*Stevia rebaudiana, Bertoni*), Un cultivo con potencial productivo en México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional Sureste. Mérida, Yucatán, México. 88p.

Sánchez B. M.A., Lara M. C., García A. A.J., 2012. Incidencia de enfermedades fungosas en Stevia y el uso de fungicidas para su control. In: Memoria de I Simposium Internacional en Producción Agroalimentaria y XXIV Reunión Científica y Tecnológica Forestal y Agropecuaria de Tabasco'2 12. 18 y 19 de Octubre de 2012. Universidad Popular de la Chontalpa. Cárdenas, Tabasco, México p: 101-105.

Soriguer F, Goday A, Bosch-Comas A, Bordiú E, Calle-Pascual A, Carmena R et al. Prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose regulation in Spain: the Di@bet.es Study. Diabetologia. 2012; 55(1):88-93.

Ulbricht C, Isaac R, Milkin T, Poole EA, Rusie E, Grimes Serrano JM, Weissner W, Windsor RC, Woods J. An evidencebased systematic review of Stevia by the Natural Standard Research Collaboration. Cardiovasc Hematol Agents Med Chem. 2010; 8(2):113-27.

Villa M. P., Chifa C. 2. Contribución al comportamiento de la “yerba dulce” *Stevia rebaudiana* (Bertoni), Asteraceae en el Chaco argentino, en: Revista Comunicaciones Científicas y Tecnológicas 2008. Universidad Nacional del Nordeste. Chaco, Argentina.

Aislamiento y cuantificación de esclerocios de *Sclerotium cepivorum* en suelo contaminado: Mejoramiento de técnicas de determinación

Isolation and quantification of sclerotia of *Sclerotium cepivorum* from contaminated soil: Improvement of determination protocol

VALDÉS-SANTIAGO, Laura^{1†}, ORDAZ-ARIAS, Ayabeth¹, HERRERA-PÉREZ, Gabriel² y VARGAS-BERNAL, Rafael²

¹Departamento de Ingeniería Bioquímica, Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Carretera Irapuato Silao Km 12.5; 36821 Irapuato, Guanajuato, México.

²Departamento de Ingeniería en Materiales, Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Carretera Irapuato Silao Km 12.5; 36821 Irapuato, Guanajuato, México.

ID 1^{er} Autor: Laura, Valdés-Santiago / ORC ID: 0000-0002-2943-7754, CVU CONACYT ID: 172549

ID 1^{er} Coautor: Ayabeth, Ordaz-Arias / ORC ID: 0000-0002-8145-659X, Researcher ID Thomson: U-4604-2018

ID 2^{do} Coautor: Gabriel, Herrera-Pérez / ORC ID: 0000-0001-9770-5952, CVU CONACYT ID: 30765

ID 3^{er} Coautor: Rafael, Vargas-Bernal / ORC ID: 0000-0003-4865-4575, CVU CONACYT ID: 70273

Recibido 10 de Agosto, 2018; Aceptado 30 de Noviembre, 2018

Resumen

Objetivos: Proponer una técnica mejorada para la detección y determinación de la concentración de esclerocios presentes en parcelas contaminadas con *Sclerotium cepivorum*. **Metodología:** Se revisaron diferentes metodologías reportadas y se propuso una metodología combinada, para el gradiente de sacarosa; se probó sacarosa grado técnico y grado comercial, así mismo para recuperar con mayor facilidad los esclerocios se añadió un paso de filtración al vacío. Se recuperaron esclerocios de suelo contaminado, y se produjeron esclerocios *in vitro* para control, añadiendo concentraciones conocidas de los mismos para determinar el grado de eficiencia de recuperación. **Contribución:** Se logró una técnica mejorada de determinación de esclerocios en suelo, donde se disminuyen costos y tiempo de ejecución, con una eficiencia de recuperación del 80-90%. *Sclerotium cepivorum* es el causante de la pudrición blanca, la peligrosidad de este hongo radica en sus estructuras de resistencia llamadas esclerocios, los cuales pueden estar latentes durante décadas. En suelo contaminado la presencia de entre 10 a 20 esclerocios/Kg puede terminar con el 100% del cultivo, la determinación del grado de contaminación ayuda a proponer un tratamiento adecuado previo a la siembra.

Pudrición blanca en ajo, *Sclerotium cepivorum*, Esclerocios

Abstract

Objectives: To propose an improvement protocol to the detection and determination of the quantity of sclerotia presented in *Sclerotium cepivorum* contaminated field. **Methodology:** A bibliographical revision was made to propose a combined protocol to the isolation and quantification of sclerotia in soil. We compared the recovery efficiency of commercial saccharose versus ultrapure saccharose. Furthermore, a final step was added, the supernatant recovered at the end of the reported protocol was subjected to a vacuum or pressure filtration. Sterilized soil with known number of sclerotia was used as a control. **Contribution:** It was possible to standardize an improvement protocol for the determination of sclerotia in soil, the cost was reduced and the time of implementation with a recovering efficiency of 80%. *Sclerotium cepivorum* is the causal agent of white rot of onion and garlic; their resistance structures called sclerotia are latent for decades. The presence of 10-20 sclerotia/Kg of soil is able to cause the loss of the complete crop, the determination of sclerotia contamination is the first step to adequate treatment before sowing.

White rot of garlic, *Sclerotium cepivorum*, Sclerotia

Citacion: VALDÉS-SANTIAGO, Laura, ORDAZ-ARIAS, Ayabeth, HERRERA-PÉREZ, Gabriel y VARGAS-BERNAL, Rafael. Aislamiento y cuantificación de esclerocios de *Sclerotium cepivorum* en suelo contaminado: Mejoramiento de técnicas de determinación. Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias. 2018, 5-17: 13-17.

*Correspondencia del Autor (Correo electrónico: laura.valdes@itesi.edu.mx)

†Investigador contribuyendo como primer Autor.

Introducción

El cultivo de ajo y cebolla son dos cultivos de gran importancia en México en el entorno socioeconómico debido a la superficie plantada y por la mano de obra que genera durante el desarrollo, cosecha, almacén y distribución de estas hortalizas, por lo que estos cultivos se encuentran dentro de los primeros lugares de siembra en el país.

La cebolla (*Allium cepa* L.) y el ajo (*Allium sativum* L.) figuran dentro de las 5 hortalizas más cultivadas en el territorio Mexicano; siendo los estados de Guanajuato, Baja California, Tamaulipas, Michoacán y Chihuahua los principales productores en el país (Pulido *et al.*, 2012).

Una de las enfermedades que más impacta a estos cultivos es la pudrición blanca causada por *Sclerotium cepivorum*. Esta enfermedad es más severa en suelo frío y ligeramente húmedo. Ataca principalmente a los bulbos, las raíces de plantas adultas al igual que el follaje, pero en menor porcentaje, aunque puede afectar desde el estado de plántula (Del Milagros, 2005).

Uno de los principales problemas en el control de la pudrición blanca, es la detección del fitopatógeno. El agricultor no se percata de la infección hasta que se logra observar la pudrición completa de los especímenes al momento de cosechar, provocando así grandes pérdidas de hasta el 100% del cultivo. Los protocolos reportados para detección y determinación de esclerocios son tardados y poco eficientes, en este estudio se realizaron modificaciones a los protocolos reportados, con lo que se logró mejorar la eficiencia de recuperación de esclerocios y abaratar los costos de ejecución.

Actualmente las estrategias utilizadas para combatir este tipo de enfermedades son poco efectivas; por un lado está la rotación de cultivos que sigue siendo ineficaz y hasta el momento no se cuenta con variedades resistentes y por otra parte, el combate químico la cual no es una técnica económicamente factible debido, principalmente, al riesgo de degradación de los productos en el suelo y a las altas dosis utilizadas (Granados y Wang, 2005), además, no es posible una adecuada cobertura de los sitios de infección, lo que provoca la presencia de residuos sobre las parcelas contaminadas.

En este contexto, la detección y cuantificación del grado de contaminación de esclerocios en parcelas es el principio para un tratamiento adecuado y así evitar pérdidas económicas.

Material biológico

Se utilizaron dos clases de esclerocios provenientes de *S. cepivorum*; la primera corresponde a esclerocios aislados directamente del suelo contaminado y la segunda a esclerocios recuperados de un cultivo *in vitro* de Agar Dextrosa Papa (PDA por sus siglas en inglés) utilizando la cepa Sc-LPM (Pérez-Moreno, 1999), con número de acceso MG660496.

Metodología

Esterilización del suelo. La esterilización del suelo se realizó por calor húmedo según lo descrito por Acosta *et al.*, 2012. Se llenaron bolsas de plástico con suelo recolectado de un terreno agrícola localizado en la comunidad de Arandas, Irapuato, Gto. (20°43'28.5"N, 101°22'09.0"W). Posteriormente, el suelo se esterilizó en una olla de presión Taurus a 121°C, 15 lb/in² durante 1 hora. Al finalizar el periodo de esterilización, el suelo se sometió a un secado en horno a 25°C durante 24 horas, esto se repitió hasta completar 3 ciclos de esterilización.

Muestreo del suelo contaminado. El suelo problema se obtuvo del Rancho San Aparicio localizado en Abasolo, Gto. Se tomaron muestras representativas 20 cm de profundidad con un gramaje aproximado de 3.0 Kg de la parcela contaminada y se almacenaron a 4 °C hasta su posterior análisis.

Preparación de las muestras. Se realizó un submuestreo por el método de cuarteo de acuerdo con la norma mexicana NMX-AA-15-1985. La aplicación del método consistió en vaciar el contenido de las muestras sobre una superficie plana, lisa y limpia, donde no pueda haber pérdida del material ni contaminación con materias extrañas. Para homogeneizar el material, se traspaleo toda la muestra de abajo hacia arriba, depositando cada pala sobre la anterior de tal manera que al finalizar esto, quedará una pila cónica. Por medio de la pala, se ejerció presión sobre el vértice, aplanando con cuidado la pila hasta obtener un espesor y un diámetro uniformes.

Seguidamente, se dividió la pila aplanada en cuatro partes iguales con la pala. Se identificaron las partes como A, B, C y D para eliminar así dos partes diagonalmente opuestas, se mezcló y se homogeneizó el material restante y se repitió el mismo procedimiento hasta reducir las muestras al tamaño requerido para las pruebas.

Recuperación de esclerocios in vitro. Bajo condiciones de completa esterilidad, de una placa de PDA inoculada con *S. cepivorum* y en la cual se observaban los esclerocios, se le agregó 10 mL de Tritón al 0.01 %, con un asa acodada de vidrio previamente estéril, se raspó la superficie del agar hasta que los esclerocios se desprendieron. Se recuperaron las estructuras y se depositaron en un tubo falcón estéril de 50 mL. Los esclerocios recuperados se resuspendieron en 10 mL de agua destilada estéril.

Posteriormente se sometieron a una agitación vigorosa mediante un Vortex Supermixer (Lab line instruments Inc., U.S.A) durante 1 min, se dejó sedimentar y se decantó, se realizaron 10 lavados para retirar la mayor cantidad de agar y micelio. Al finalizar el último lavado se almacenaron a 4 °C.

Recuperación de esclerocios en campos contaminados. El procedimiento seguido para el aislamiento de los esclerocios se realizó de acuerdo con el método descrito por Vidmard *et al.*, (1986) con algunas modificaciones. Una vez preparadas las muestras, estas se pasaron por un tamiz de 4 mm (malla 10) unido a uno más de 2 mm (malla 20), otros más de 765 µm (malla 25), 425 µm (malla 40) y 106 µm (malla 140) respectivamente. Todas las partículas que lograron pasar fueron pesadas obteniendo de 23.5 a 25 g de suelo y se resuspendió en 50 mL de una solución de sacarosa al 2 M y 2 mg/mL de sulfato ferroso y otra solución de azúcar de mesa al 2 M y 2 mg/mL de sulfato ferroso. Se dejó en agitación por 30 minutos a temperatura ambiente y 150 rpm. Posteriormente se sometieron a centrifugación en una centrifuga a 5000 rpm durante 5 minutos Finalizando ese periodo, el sobrenadante fue filtrado al vacío, las partículas retenidas en el papel filtro, fueron observadas bajo un estereoscopio y con la ayuda de unas pinzas se buscaron los esclerocios, finalmente se almacenaron en agua destilada estéril a 4 °C.

El aislamiento de los esclerocios se realizó por quintuplicado utilizando muestras de 50 g de suelo contaminado; además, se utilizaron controles en igual medida que las muestras analizadas, estos consistieron en 50 g de suelo estéril adicionado con una concentración conocida de esclerocios de *S. cepivorum* recuperados de una placa de PDA.

Resultados y discusión

Se revisaron cinco técnicas para el aislamiento de esclerocios de *S. cepivorum* de suelo, se realizaron modificaciones de acuerdo a las condiciones de la muestra y problemas técnicos que se iban presentando (Tabla 1).

La homogeneización se realizó en seco, después de secar a 40 °C por 48 h. Se colocaron en tándem los filtros con diferentes tamaño de tamiz en orden descendente, lo que permitía evitar pérdidas de muestras; al final del protocolo se observó que la filtración al vacío permitía observar con mayor facilidad los esclerocios recuperados (Tabla 1).

Como se puede ver en la tabla 1, todas las técnicas revisadas utilizaban agua para homogeneizar la muestra de suelo, en nuestro caso, la muestra estaba tan compactada que el agregar agua no era suficiente para mezclar adecuadamente, notamos que era más sencillo secar la muestra en el horno y a las 48 horas los grumos se rompían, lo que permitió homogeneizar. El uso de varios tamices colocados en tandem, facilitó revisar cuidadosamente el suelo y evitar la pérdida de esclerocios.

Pasos del protocolo de aislamiento de esclerocios.	Adams y Papavizas, 1971	Utkhede y Rahe, 1979	Crowe et al., 1980	Vimard et al., 1985	Crowe y Debons, 2018 en impresión.	Método propuesto en este trabajo.
Homogeneización de la muestra en agua	Si	Si	Si	Si	Si	No (se seca al horno 48 h a 40 °C)
Abertura de tamices utilizados	Malla No. 80	Malla No. 28 (0.595 mm) Malla No. 65 (0.210 mm)	0.850 mm 0.250 mm	0.6 mm 0.212 mm 0.177 mm	Malla No. 60 Malla No. 20 Malla 0.5 mm	Malla No. 10 (4 mm). Malla 20 (2 mm) Malla 25 (710 µm) Malla 40 (425 µm) Mallas 140 (106 µm)
Gradiente de sacarosa	No	Si (2.5 M)	Si (50% p/v)	Si (2.5 M)	Si (no reportado)	2.5 M
Centrifugación o sedimentación	No	Si Sedimentación	No	Si Centrifugación	No	Centrifugación
Tiempo y velocidad	No aplica	2 h	No aplica	2151 G/ 5 min	No aplica	5000 rpm/5 min
Recuperación de esclerocios	Homogeneización de la muestra y vaciar en el tamiz	Decanta sobrenadante sobre el tamiz No 65	Decanta sobrenadante sobre el tamiz de 0.250 mm	Decanta sobrenadante sobre el tamiz de 0.177 mm	Recuperación de partículas flotantes	Recuperar el sobrenadante para filtración al vacío
Observación en estereoscopio	No	Si	Si	Si	Si	Si y conteo.
Objetivo utilizado			15X	12X		12X

El gradiente de sacarosa, es un paso clave para separar los esclerocios de las partículas del suelo. Aunque por su peso, los esclerocios precipitan con relativa facilidad, lo que permite recuperarlos por sedimentación- la centrifugación permite una rápida separación de los mismos.

Para probar el efecto de la sacarosa en la recuperación de los esclerocios se decidió probar el efecto de la sacarosa ultrapura (Sigma-Aldrich) como grupo control, agua destilada y azúcar comercial refinada (Fig. 1).



Figura 1 Recuperación de esclerocios de suelo contaminado artificialmente, comparación entre gradiente de sacarosa llevado a cabo con sacarosa grado técnico y sacarosa refinada comercial, en la muestra control se agregó agua destilada. El ensayo se llevó a cabo 3 veces con quintuplicados

Como puede observarse, el uso del gradiente de sacarosa favorece la recuperación de los esclerocios, de 10 esclerocios que se adicionaron a suelo estéril, la sacarosa y el azúcar comercial permiten recuperar el 80% de las estructuras mientras que con el uso del agua destilada sólo se recupera el 20% de dichas estructuras. A partir de los resultados anteriores, se modificó el protocolo reportado y se decidió hacer uso del azúcar comercial al 2 M, obteniendo así un porcentaje de recuperación del 75% en el grupo control, lo que corresponde a 8 esclerocios recuperados de 10 estructuras colocadas en el suelo estéril. Esta modificación permite un ahorro a nivel económico, ya que el azúcar refinada comercial puede presentar un costo cinco veces menor que la sacarosa cuya calidad es nivel técnico.

Por otro lado, para facilitar la recuperación de esclerocios se decidió filtrar el sobrenadante al vacío y se observó que permitía identificarlos con mayor rapidez. Para determinar el grado de contaminación del suelo contaminado se aplicó la técnica modificada, es decir utilizando sacarosa comercial y en el paso final de protocolo, filtración al vacío. Se recuperaron 17 esclerocios, lo que corresponde al doble de las estructuras obtenidas en el grupo control donde se agregaron 10 esclerocios a suelo estéril (Fig. 2).

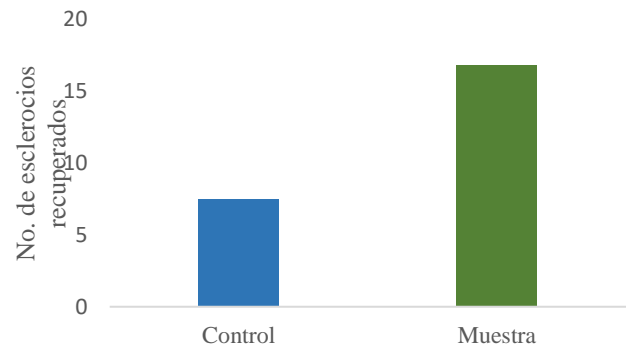


Figura 2 Recuperación de esclerocios de *S. cepivorum* de suelo contaminado naturalmente obtenido del Rancho San Aparicio, Abasolo Gto. como control se utilizó suelo estéril con 10 esclerocios agregados

Heredia y Delgadillo en el año 2000, encontraron que la cantidad de esclerocios presentes por kilogramo de suelo es determinante para el desarrollo de la enfermedad siendo 20 esclerocios/Kg de suelo el límite máximo permisible para poder sembrar, por lo que si la cantidad de esclerocios en el suelo es mayor se recomienda no sembrar debido a que se generarían pérdidas mayores al 80 %.

Un segundo estudio realizado por Delgadillo et al. en el 2002, mostraron resultados concluyentes respecto a que la densidad del inculo es proporcional a la incidencia de la enfermedad, es decir que a mayor cantidad de esclerocios/Kg de suelo, más alta será la probabilidad de desarrollarse la enfermedad. 50 esclerocios/Kg es suficiente para que el agricultor sufra alrededor del 90% de pérdidas.

Aunado a lo anterior, Ponce *et al.* 2008, demostraron que tan sólo 44 esclerocios/Kg de suelo suficiente para que la enfermedad tenga un 82.9% de incidencia. De acuerdo con los reportes anteriores, la cantidad recuperada de esclerocios que es aproximadamente 32 esclerocios/Kg de suelo podría acabar con más del 80% de los cultivos sembrados de ajo y cebolla en la parcela del Rancho San Aparicio localizado en Abasolo, Gto.

Agradecimiento

Se agradece al ITESI por el apoyo recibido del Programa de Fortalecimiento a los Cuerpos Académicos (PIFOCA) 2017.

Conclusiones

Se realizaron dos modificaciones al protocolo utilizado para el aislamiento de esclerocios de suelo contaminado: se secó al horno para homogeneizar y se reemplazó la sacarosa ultrapura por azúcar comercial lo que da un ahorro económico importante, además se propone una filtración al vacío en el paso final del protocolo, lo que permite ver con mayor facilidad los esclerocios obtenidos de las muestras. Con esta técnica el porcentaje de eficiencia fue del 80%.

Referencias

Acosta Peñaloza G.S., Palacios Rincón D.J. y Carvajal Restrepo L.G., 2012. Evaluación de la esterilización húmeda y la esterilización por microondas de dos tipos de suelo. *Revista Científica* No. 17, Bogotá, D.C. p 88-93

Del Milagros Granados M. 2005. Pudrición blanca de la cebolla: Una enfermedad difícil de combatir. *Agronomía Costarricense*. 29 (2). 143-156.

Delgadillo Sánchez F., Zavaleta Mejía E., Osada Kawasoe S., Arévalo Valenzuela A., González Hernández V.A., Nieto Ángel D. y Torres Pacheco I., 2002. Densidad de inóculo de *Sclerotium cepivorum* Berk. y su control mediante Tebuconazole en ajo (*Allium sativum* L.). *Revista Fitotecnia Mexicana*, vol. 25, núm. 4. pp. 349-354

Diario Oficial de la Federación., 1992. Norma Mexicana NMX-AA-15-1985, *Protección al medio Ambiente, Contaminación del suelo, Residuos sólidos municipales, muestreo y método de cuarteo*. Consultado el 15 de febrero de 2018. <http://legismex.mty.itesm.mx/normas/aa/aa015.pdf>

Granados M.M. y Wang A., 2005. Aislamiento e identificación de hongos asociados a esclerocios de *Sclerotium cepivorum* causante de la pudrición blanca de la cebolla, en la zona alta de Carago, Costa Rica. *Agronomía Costarricense*. 29 (1). 57-66

Ponce Herrera, V., García Espinoza, R., Rodríguez Guzmán, M. y Zavaleta Mejía, E. 2008. Análisis temporal de la pudrición blanca (*Sclerotium cepivorum* Berk.) de la cebolla (*Allium cepa* L.) bajo tres niveles de inóculo del patógeno. *Agrociencia*, 42. 71-83

Pulido Herrera, A., Zavaleta Mejía, E., Cervantes Díaz, L. y Grimaldo Juárez, O. 2012. Alternativas de control en la pudrición radical de cebolla para el Valle de Trinidad, Baja California. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 3(1). 97-112.

Vidmard B., Leggett E., y Rahe J.E., 1986. Rapid isolation of Sclerotia of *Sclerotium cepivorum* from muck soil by sucrose centrifugation. *Phytopathology*., No. 76. p 465-467.

Estudio preliminar de la repelencia de los ovinos a las garrapatas

Preliminary study of the repellence of the sheep to the ticks

MARTINEZ-GONZALEZ, Sergio^{1†}, ESCALERA-VALENTE, Francisco¹, CARMONA-GASCA, Carlos¹ y AVILA-RAMOS, Fidel²

¹Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Nayarit, México.

²División de Ciencias de la Vida, Medicina Veterinaria y Zootecnia, División de Ciencias de la Vida. Universidad de Guanajuato. Campus Irapuato-Salamanca. Ex Hacienda El Copal km 9, C. P. 36500, Carretera Irapuato-Silao, A. P. 311, Irapuato, Guanajuato, México.

ID 1^{er} Autor: Sergio, Martinez-Gonzalez / ORC ID: 0000-0002-4916-0967, Researcher ID Thomson: O-5769-2018, CVU CONACYT ID: 120948

ID 1^{er} Coautor: Francisco, Escalera-Valente / ORC ID: 0000-0002-3792-2733, Researcher ID Thomson: J-5145-2016, CVU CONACYT ID: 442368

ID 2^{do} Coautor: Carlos, Carmona-Gasca / ORC ID: 0000-0002-7587-0946, CVU CONACYT ID: 165530

ID 3^{er} Coautor: Fidel, Avila-Ramos / ORC ID: 0000-0002-7766-6682, CVU CONACYT ID: 41499

Recibido 20 de Septiembre, 2018; Aceptado 15 de Diciembre, 2018

Resumen

Objetivo: Realizar un estudio preliminar sobre la repelencia de los ovinos a las garrapatas. Para controlar esta parasitosis se usan depredadores, medios físicos, químicos, vacunas, selección de animales resistentes y plantas. Sin embargo, la presencia de las garrapatas en ovinos de forma natural es baja. Por lo tanto, se realizó un muestreo en el estado de Nayarit sobre 933 ovinos, 207 semiestabulados y 726 estabulados y encontramos que los ovinos estabulados no presentaron garrapatas ($P \leq 0.05$) comparados con los ovinos semiestabulados. Con los datos preliminares de la investigación pensamos que las feromonas de los ovinos pueden interferir la comunicación entre las garrapatas *Amblyomma maculatum* y *Boophilus microplus*.

Abstract

Objective: A preliminary study was carried out on the repellency of sheep to ticks. To control this parasite, predators, physical means, chemicals, vaccines, selection of resistant animals and plants are used. However, the presence of ticks in sheep naturally is low. Therefore, a sampling was carried out in the state of Nayarit on 933 sheep, 207 semi-hinged and 726 stabled and we found that the stabled sheep did not present ticks ($P \leq 0.05$) compared with the semi-inflamed sheep. With preliminary research data, we believe that pheromones from sheep can interfere with communication between *Amblyomma maculatum* and *Boophilus microplus* ticks.

Sheep, Tick, Health

Borregos, Garrapata, Salud

Citacion: MARTINEZ-GONZALEZ, Sergio, ESCALERA-VALENTE, Francisco, CARMONA-GASCA, Carlos y AVILA-RAMOS, Fidel. Estudio preliminar de la repelencia de los ovinos a las garrapatas. Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias. 2018, 5-17: 18-22.

*Correspondencia del Autor (Correo electrónico: ledifar@hotmail.com)

†Investigador contribuyendo como primer Autor.

Introducción

Las garrapatas *Amblyomma maculatum* y *Boophilus microplus* son ectoparásitos que viven sobre vacas, perros aves domésticas, mascotas y animales silvestres. Clínicamente se diagnostican por su presencia sobre la piel en diferentes partes del cuerpo (Quiroz, 2000).

Las garrapatas son vectores, pueden transmitir enfermedades causadas por virus, bacterias, protozoarios, rickettsias y parásitos. Sus estadios son huevo, larva, ninfa y adulto, su desarrollo puede ocurrir en varios hospedadores (Urquhart, 2001).

En México se han identificado 77 especies de garrapatas; de ellas, las que representan mayor relevancia para el ganado bovino son los géneros *Boophilus* y *Amblyomma*. Aunque también podemos encontrar *Dermacentor*, *Rhipicephalus*, *Ixodes*, *Ornithodoros*, entre otros. Todos los géneros parasitan a los bovinos, en ovinos sólo se han reportado los géneros *Dermacentor*, *Rhipicephalus*, *Ixodes* y *Ornithodoros*. En México, además del ganado bovino, *Boophilus spp.* parasita a otros mamíferos como caprinos, equinos, porcinos, perros y venados, pero rara vez al ovino (González-Cerón *et al.*, 2009; Quiroz, 2000).

Para controlar ésta enfermedad se usan parásitos y sus depredadores, modificando su ambiente natural de vida. Además, existen medios físicos, productos químicos, vacunas y selección de animales resistentes a las garrapatas (Quiroz, 2000).

En países tropicales la garrapata causa problema económicos y de salud elevados al ganado. Por lo tanto, se han implementado diferentes medidas de control, una de ellas es plantar pastos con actividad repelente a éste parásito.

Los repelentes son sustancias químicas de origen natural o sintético que ahuyentan o evitan que un insecto o ácaro se acerque al hospedador. Los insectos son atraídos porque van a encontrar su alimento, un lugar donde puede depositar sus huevos o a sus parejas sexuales.

Algunas plantas tienen propiedades antigarrapatas como son: *Melinis minutiflora* (gordura), *Brachiara brizantha* (pasto insurgente) y *Andropogon gayanus* (llanero). Las cuales repelen, atrapan u obstaculizan a las garrapatas que buscan hospedero; este tipo de plantas se cultivan en algunos potreros para reducir el riesgo del encuentro de la garrapata con su hospedero y contribuyen a disminuir el uso de pesticidas. Además, existen pastos (*Melinis minutiflora*, *Stylosanthes humilis*, *S. hamata*, *Gynandropsis ginandra*, *Leucaena leucocephala*, *Macropodium artropurpureum*), con actividad similar o repelente (Fernández *et al.*, 2012).

Hay literatura sobre el efecto repelente de algunas plantas forrajeras a la garrapata, donde reportan: 1) Los solventes para la extracción de aceites esenciales, 2) La técnica y la identificación de los componentes de los aceites esenciales, 3) Algunas plantas forrajeras con propiedades contra las garrapatas. Así también se identificaron 12 diferentes compuestos químicos del pasto gordura (*Melinis minutiflora*), demostrándose que todos los extractos evaluados mostraron efecto de repelencia contra larvas de *Boophilus microplus*, la mayor abundancia relativa correspondió al eicosano (18.53%), ácido linolenico metil ester (16.08%) y ácido hexadecanoico (14.20%), siendo posible que la acción aditiva de todos los compuestos influya en el efecto de repelencia (Iriarte *et al.*, 2012).

El aceite de *Gynandropsis gynadra* mostro un efecto repelente contra la garrapata *Rhipicephalus appendiculatus*, identificándose 28 compuestos, encontrándose carvacol en mayor cantidad 29.2%, seguido de trans-fitol con 24%, linalol con 13.3%, Trans-2-methylcyclopentanol 7.2% y β -ionona, transgeranylacetone y nerolidol, fueron los componentes más repelentes contra *R. Appendiculatus*.

Lo último publicado por el grupo fue identificar los compuestos químicos de los extractos de tallo, hojas y tallo/hojas de *Melinis minutiflora*. Los resultados muestran que el extracto de tallo/hojas de *M. minutiflora* tienen un elevado efecto repelente e ixodicida sobre larvas *Amblyomma cajennense*.

La composición del extracto de *M. minutiflora* fue ácido 1,2-bencenodicarboxílico, mono (2-etilhexil) éster, ácido hexadecanoico heneicosano, ácido octadecanoico y ácido eicosanoico los cuales se encontraron en diferentes concentraciones (Iriarte-Del Hoyo *et al.*, 2018).

Por otro lado, una observación sobre perros que habitan junto a los ovinos estabulados no se infestan de garrapatas, contrario a perros de la misma zona que muestran garrapatas. Entonces existe la pregunta, ¿Que tienen los ovinos que repelen a las garrapatas?. Por lo tanto, el objetivo de la primera etapa del proyecto fue cuantificar e identificar las garrapatas en ovinos estabulados y semi estabulados.

Material y Métodos

Se muestrearon ovinos de pelo, de cualquier edad o sexo, de algunas granjas en la zona norte, centro y sur de Nayarit de octubre a noviembre; fueron 726 animales estabulados y 207 animales semi-estabulados. La región tiene un clima cálido subhúmedo con lluvias en verano con una temperatura media anual de 21.3 °C, con una precipitación promedio de 1152.3 mm, con una altitud de 915 metros sobre el nivel del mar (INEGI, 2006).

Los animales muestreados fueron revisados minuciosamente todo el cuerpo y nunca habían recibido tratamiento contra las garrapatas. Las garrapatas fueron retiradas de los animales a contrapelo y enviadas al Laboratorio CENAPA-SENASICA-MÉXICO en tubos de ensayo de plástico, en alcohol al 70%, y la identificación taxonómica de las garrapatas fue por microscopía por el método CENAPA-PD-401. Los datos obtenidos entre ovinos semi estabulados y estabulados se compararon con estadística no paramétrica con el procedimiento NPAR1WAY del programa estadístico SAS.

Resultados y Discusión

Los ovinos estabulados no presentaron garrapatas comparados con los animales semi estabulados 16% ($P \leq 0.05$), se encontró de un a cuatro garrapatas por avino de *Amblyomma maculatum* y *Boophilus microplus* en diferentes estadios (larva, ninfa y adulta) en el pabellón auricular.

En ovinos de pelo la garrapata coincide con una de las dos especies encontradas en este trabajo. En un estudio Glenny *et al.*, (2004) en Perú encontraron que los ovinos no presentaron garrapatas adultas ni estadios inmaduros, lo que coincide con los resultados encontrados. Los equinos fueron los animales más infestados por garrapatas (60.9 %), seguido por vacunos (50 %), perros (37.4 %), cerdos (25 %) y gatos (6.6 %). En Tabasco, México durante la temporada de lluvias (agosto-noviembre) y en sistema semi estabulado se encontró del total de 751 observaciones se obtuvo una frecuencia de 27 % positivos a garrapatas (Ojeda-Robertos *et al.*, 2014, sin identificar que especie. Mientras que en Iriarte-Del hoyo *et al.* (2012) y Mosharevinia *et al.* (2012), reporta que, de un total de 330 borregos examinados, encontró un 40 % de infestación con garrapatas de la familia Ixodidae. Por su parte Rinaldi *et al.* (2004), en un trabajo que realizo en el sureste de Italia obtuvo una prevalencia de 33 %.

En los ya publicados se registraron como positivos los borregos con al menos una garrapata, que a diferencia de otras especies animales se les encuentran con decenas o centenas de especímenes de garrapata. La literatura ovina no reporta a las garrapatas como un problema frecuente, ya que su presencia es muy baja. Sin embargo, si es frecuente la falsa garrapata (*Melophagus ovinus*) que parásita la piel y la lana (Duran *et al.*, 2008). En los ovinos positivos puede encontrarse de 1 a 4 especímenes de garrapata por animal. Sin embargo, no sabemos en qué condiciones de salud se encuentren las garrapatas, ya que está de por medio el efecto repelente de los ovinos, como se demuestra con la diferencia entre ovinos estabulados y semi estabulados. Es posible que en ovinos estabulados se concentre en el ambiente la sustancia química que tiene el efecto repelente, ésta podría ser la sustancia que emite el olor característico de los borregos.

Los ovinos tienen glándulas sudoríparas apocrinas y sebáceas holocrinas que se abren en los folículos pilosos de la dermis, estas últimas secretan lípidos. Se llama suarda o grasa de la lana o pelo al producto de secreción de las glándulas sebáceas y sudoríparas de la piel del ovino y que impregna los filamentos pilosos; su principal componente de la suarda es la lanolina, y una mezcla de sales de potasio y de sodio y varios ácidos orgánicos (Duran *et al.*, 2008).

Pudiera ser que alguno de estos compuestos químicos el que tenga efecto repelente a las garrapatas. Existen reportes donde se recomienda utilizar ovinos para el control de garrapatas, debido a que contienen en la piel una sustancia llamada lanolina repelente natural de las garrapatas (Rinaldi *et al.*, 2004).

Algunos repelentes se han utilizado en el control de garrapatas tales como el Dimetil talato y el Dibutil talato, que imparten alta protección. Estos productos han sido utilizados para proteger al hombre de los ataques de las garrapatas. Otros compuestos con 95 a 100% de efectividad son el N-butilacetanilida; 2-butil-1,3 propaneídol; N-butil-4-ciclohexano-1,2 dicarbaximida; ácido uldecilénico, 1-butiril-2,3,4-tetrahidroquinolina; indalone; dietiltolumida y el dimetiltalato (Quiroz, 2000).

De acuerdo a lo anterior, es importante realizar un estudio científico para demostrar el efecto repelente de la secreción de los ovinos a las garrapatas y su identificación del compuesto químico.

Conclusión

Los ovinos estabulados no presentan garrapatas comparados con ovinos semi estabulados. Sin embargo, es necesario identificar la sustancia que causa el efecto repelente en los ovinos.

Referencias

Durán, R.F., Hernández, G.H.A., Latorre N.D.F. (2008). Manual de explotación y reproducción en ovejas y borregas. Colombia: Grupo Latino Editores.

Fernández Ruvalcaba, M., Preciado De la Torre, J., García Vázquez, Z., Cruz Vazquez, C., & Saltijeral Oaxaca, J. (2012). Evaluación estacional de la recuperación de larvas de *Boophilus microplus* en cuatro leguminosas forrajeras en parcelas experimentalmente infestadas. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 42(1), 97-104.

Glenny A, Martha, Mendoza U, Leonardo, & Falconí R, Eduardo. (2004). Detección de anticuerpos contra *Borrelia burgdorferi* e identificación de garrapatas ixodidas en Piura Y Amazonas, Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 21(1), 23-27.

González-Cerón, Fernando, Becerril-Pérez, Carlos M., Torres-Hernández, Glafiro, & Díaz-Rivera, Pablo. (2009). Garrapatas que infestan regiones corporales del bovino criollo lechero tropical en Veracruz, México. *Agrociencia*, 43(1), 11-19.

INEGI. (2006). Anuario estadístico del estado de Nayarit. En Estadística Geografía e Informática Gobierno del Estado de Nayarit(1-31). México, D.F.: INEGI.

Iriarte-Del Hoyo, Primitivo, Loya-Olguín, Lenin, Gómez-Danés, Alejandro, Valdes-García, Yissel, Velázquez-Fernández, Bernardino, & Martínez-González, Sergio (2018). Chemical composition of melinis minutiflora extract and its repellent and ixodicide effect on *amblyomma cajennense* larvae. *Revista científica Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad del Zulia*. 28(2), 112-120.

Iriarte-Del Hoyo, Primitivo, Martínez-González Sergio, Aguirre-Ortega, Jorge, Barajas-Cruz, Rubén, Romo-Rubio, Javier, R., Loya-Olguín, Lenin, & Molina-Torres, Jorge. (2012). Repelencia de algunas plantas forrajeras a la garrapata. *Abanico Veterinario*. 2(3), 47-57.

Mosharevinia A, Dini M, Azizzadeh M. (2012). Prevalence of ixodid tick infestation of sheep in the Arasbaran region of Iran. *Journal Parasitology Disease*. 36: 230-233.

Ojeda-Robertos, NF, Medina-Pérez P, Aguirre-Serrano M, Coronel Benedett KC, Sanchez-Olan E, Arroyo-Santiago A, Aguilar-Caballero AJ, Alegria-Lopez MA, González-Garduño R. (2014). Parasitismo mixto por garrapatas y nematodos en ovinos de pelo. *XLI Reunión de la Asociación Mexicana para la Producción Animal y Seguridad Alimentaria A.C y VII Reunión Nacional de Sistemas Agro y Silvopastoriles. Mérida, Yucatán, México*.

Quiroz, R.H. (2000). Parasitología y enfermedades parasitarias de animales domésticos, editorial LIMUSA, México, DF.

Rinaldi, L, Otranto D, Veneziano V, Milillo P, Buono V, Iori A, Di Giuglio, Cringoli G. (2004). Cross-sectional survey of ticks (Acari: Ixodidae) in sheep from an area of the southern Italian Apennines. *Experimental and Applied Acarology*. 33: 145-151.

Urquhart, G.M, Armour, J, Duncan, J.L, Dunn, A.M, & Jennings FW. (2001). Parasitología veterinaria, Ed. Acribia. Zaragoza, España.

Conservación a largo plazo de *Gmelina arborea* por el método de crioconservación con crio-placas de Aluminio

Long-term preservation of *Gmelina arborea* by the cryopreservation method with Aluminum cryo-plates

CRUZ-GUTIÉRREZ, Esmeralda Judith*†, ARADILLAS-TOVAR, Luis Ángel, BRAVO-AVILA, Francisco Miguel y ARADILLAS-TOVAR, Adonái Jonas

Centro nacional de Recursos Genéticos. Boulevard de la Biodiversidad no. 400. Rancho Las Cruces, Tepatitlán de Morelos, Jalisco.

ID 1^{er} Autor: Esmeralda Judith, Cruz-Gutiérrez

ID 1^{er} Coautor: Luis Ángel, Aradillas-Tovar

ID 2^{do} Coautor: Francisco Miguel, Bravo-Avila

ID 3^{er} Coautor: Adonái Jonas, Aradillas-Tovar

Recibido 20 de Septiembre, 2018; Aceptado 15 de Diciembre, 2018

Resumen

La *Gmelina arborea* es una especie de origen asiático, sin embargo, es apreciada por su madera por su rápido crecimiento. Además, se utiliza en sistema agroforestales y como cerco vivo. El objetivo de este trabajo es desarrollar un método de conservación a largo plazo de *Gmelina arborea* por el método de crioconservación. En este trabajo se utilizó la técnica de vitrificación utilizada por Yamamoto *et al.* (2015) para realizar el protocolo de crioconservación de *Gmelina arborea*. Se utilizó la solución vitrificante para plantas PVS3 (Plant Vitrification Solution 3: 50 % de glicerol + 50 % de sacarosa), la cual es utilizada para la conservación en condiciones de baja temperatura, nitrógeno líquido (NL) (-196°C). Con el desarrollo de este protocolo se pretende que en los bancos de germoplasma se almacenen a largo plazo material genético de especies forestales, en este caso de *Gmelina arborea*.

Forestales, Conservación, Nitrógeno Líquido

Abstract

The *Gmelina arborea* is a species of Asian origin, however, is appreciated for its wood for its rapid growth. In addition, it is used in agroforestry systems and as a living fence. The objective of this work is to develop a method of long-term conservation of *Gmelina arborea* by the method of cryopreservation. In this work, the vitrification technique used by Yamamoto *et al.* (2015) to carry out the cryopreservation protocol of *Gmelina arborea*. The vitrifying solution was used for PVS3 plants (Plant Vitrification Solution 3: 50% glycerol + 50% sucrose), which is used for conservation under low temperature conditions, liquid nitrogen (NL) (-196 ° C). With the development of this protocol, it is intended that genetic material of forest species, in this case of *Gmelina arborea*, be stored in germplasm banks in the long term.

Forestry, Conservation, Liquid Nitrogen

Citacion: CRUZ-GUTIÉRREZ, Esmeralda Judith, ARADILLAS-TOVAR, Luis Ángel, BRAVO-AVILA, Francisco Miguel y ARADILLAS-TOVAR, Adonái Jonas. Conservación a largo plazo de *Gmelina arborea* por el método de crioconservación con crio-placas de Aluminio. Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias. 2018, 5-17: 23-26.

*Correspondencia del Autor (Correo electrónico: cruz.esmeralda@inifap.gob.mx)

†Investigador contribuyendo como primer Autor.

Introducción

La *Gmelina arborea* Roxb. es un árbol introducido en México, es una planta forestal exótica nativa del sureste asiático, pertenece a la familia Verbenaceae y se caracteriza por ser una especie de corta vida cuya edad no supera los 30 años (Obregón Sánchez, 2005).

Es un árbol muypreciado, se utiliza en sistema agroforestales y como cerco vivo, además se utiliza por la madera para leña y carbón, en la fabricación de muebles y gabinetes, instrumentos musicales, tableros de partículas, triplay, cabos para cerillos, cubiertas de barcos y botes.

El árbol alcanza hasta 30 metros de altura y entre 60 - 100 centímetros de diámetro. Su principal cualidad es su acelerado crecimiento hasta los 5 o 6 años de haber sido plantada. Cuando alcanza la altura de los ejemplares adultos, su crecimiento se vuelve lento (Obregón Sánchez, 2005).

Por otro lado, el germoplasma forestal es un recurso valioso y limitado, que incluye al polen, semillas, partes vegetativas, así como al cultivo de tejidos. El almacenamiento *ex situ* del germoplasma puede ser considerado como una medida viable para la conservación de los recursos, aunque este puede solamente ser usado como una estrategia complementaria a la conservación *in situ* y a otras medidas de conservación *ex situ* de semillas de árboles, debido a sus prolongados periodos de regeneración (FAO *et al.*, 2007).

Para la conservación de germoplasma se utilizan diferentes métodos, en el caso de especies recalcitrantes, las opciones para su conservación a largo plazo es la crioconservación. La crioconservación presenta numerosas ventajas con respecto a otras técnicas que se utilizan para la conservación de germoplasma. Algunas de estas ventajas son los bajos costos de labor durante el mantenimiento de las colecciones y la conservación de la estabilidad genética por tiempo indefinido (Abdelnour-Esquivel *et al.*, 2007).

La utilización de la crioconservación puede realizarse para la conservación de semillas, embriones cigóticos, muestras de tejidos, yemas apicales, meristemos, etc. (Engelmann 2003, Reed 2008).

Este trabajo pretende realizara el protocolo para la conservación a largo plazo de *Gmelina arborea* a través de la técnica de crioconservación.

Materiales y métodos

Material vegetal

Las plantas de *Gmelina arborea* utilizadas en este estudio fueron obtenidas de las accesiones de la Colección Nacional Forestal, que se encuentra en el Laboratorio Agrícola-Forestal sección *in vitro* y crioconservación de tejido vegetal que se encuentra dentro del Centro Nacional de Recursos Genéticos del INIFAP (CNRG-INIFAP), Jalisco, México. El experimento que se realizó fue con el protocolo de deshidratación por Vitrificación (V crio-placa) para los meristemos de *Gmelina arborea*. Los experimentos se realizaron en el Laboratorio Agrícola-Forestal sección *in vitro* y crioconservación de tejido vegetal del CNRG-INIFAP. Las plantas *in vitro* de *Gmelina arborea* se encontraban en medio Murashige y Skoog (MS) (Murashige and Skoog 1962) con sacarosa 30 g L⁻¹, con un pH de 5.7 a una temperatura de 24°C± 2 en donde se multiplicaron para obtener suficientes meristemos para el experimento.

Una vez que se cortaron los meristemos se colocaron en medio MS al 100% con 0.3M de sacarosa. 8 g L⁻¹ de agar con un pH de 5.8 durante 24 horas (Precultivo). Posteriormente, se realiza el protocolo de V crio-placa.

Protocolo de V crio-placa

Las crio-placas de aluminio que se utilizaron en este experimento tienen una medida de 3.6 x 0.7 cm conteniendo 10 pozos de 0.5 mm de profundidad (Figura 1). El protocolo de V crio-placa es el utilizado por Yamamoto *et al.*, (2015)

1. En cada pozo de D-Cryo-Plate se colocó una gota (aproximadamente 2 µl) de solución 2% de alginato de sodio con M de sacarosa en medio MS como base, posteriormente, se colocaron los meristemos en cada pozo.
2. Se aplicó una gota de solución de alginato de sodio y se aplicó sobre el alginato de sodio 0.1 M de CaCl₂ con 0.4 M de sacarosa y medio MS cubriendo a los meristemos.

3. Se dejó durante 15 minutos y después fue retirado el exceso de la solución de CaCl_2 y se colocaron en la solución LS (Loading solution (LS) 0.8 M de sacarosa con 2 M de glicerol con MS basal) por 30 min
4. Se colocó en la solución vitrificante PVS3 (Plant Vitrification Solution 3: 50 % de glicerol + 50 % de sacarosa) el tiempo depende de cada tratamiento (Tabla 1).
5. Posteriormente se colocaron en los criobiales y se sumergen en nitrógeno líquido (NL) por 30 minutos.
6. Después, se sacaron del NL y se dejaron por 15 minutos en una solución de 1 M de sacarosa (Recalentamiento).
7. Se sembró en cajas de Petri con medio de recuperación (MS al 100% y 0.1 M de BA).



Figura 1 Crio-placa de aluminio utilizado para la crioconservación

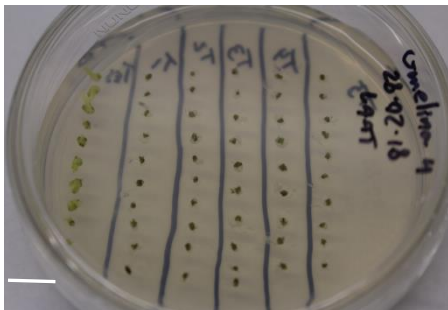


Figura 2 Meristemos en medio de recuperación después de la inmersión en nitrógeno líquido.

Los tratamientos realizados en este experimento son:

Tratamientos	PVS3
1	30 min
2	35 min
3	40 min
4	45 min
5	50 min
6 Testigo	-

Tabla 1 Tratamientos de crioconservación de *Gmelina arborea*.

En cada experimento se utilizaron 10 meristemos. Los datos se sometieron a un análisis de varianza y prueba de comparación de medias Tukey ($\alpha=0.05$) utilizando el paquete estadístico SAS (SAS ver 9.3 Institute Inc., 2014).

Una vez que los meristemos se colocaron en el medio de recuperación, se colocaron en oscuridad durante 5 días, posteriormente, se colocaron en una cámara de crecimiento con luz a 24° C.

La variable que se midió, fue tiempo de rebrote (presencia de hojas). Se observaron las cajas cada 5 días. Los resultados que se analizaron fue cuando se presentó el rebrote. El primero fue a los 13 y 20 días después del establecimiento en el medio de recuperación.

Resultados

Los resultados se observan en el siguiente Tabla:

Tratamiento	Brotación	
	13 días	20 días
1	1.6000ab	1.6000ab
2	1.2000bc	1.4000b
3	1.0000c	1.2000b
4	1.3000bc	1.2000b
5	1.4000bc	1.4000b
6	2.0000a	2.0000a
Tratamiento	<.0001	0.0012
Tiempo	<.0001	0.0012

Letras distintas en la misma columna son estadísticamente diferentes (Tukey, $\alpha=0.05$); n = 5, NS = no significativo. Simbología de tratamientos: (T1= vitrificación con PVS3 por 30 min.), (T2= vitrificación con PVS3 por 35 min.), (T3= vitrificación con PVS3 por 40 min.), (T4= vitrificación con PVS3 por 45 min.), (T5= vitrificación con PVS3 por 50 min.), (T6= Testigo, sin vitrificación).

Tabla 2 Comparación de medias de la Brotación de *Gmelina arborea*

Según el análisis estadístico, se observa que el mejor tratamiento fue el de la vitrificación por 30 min. Estadísticamente, no hay diferencia significativa con el testigo.

La crioconservación de especies forestales como de *Cedrela odorata* L. se ha utilizado la PVS2 por 5 min. y la PVS3 por 10 min. (García y Abdelnour, 2013) en donde se reporta que las dos soluciones de vitrificación resultaron exitosas obteniendo mayor porcentaje de sobrevivencia más del 80%. Por otra parte, se ha realizado crioconservación de semillas de *Gmelina arborea*, sin embargo, no reportan la utilización de vitrificación o deshidratación.

Martínez *et al.* (2003) menciona en su trabajo con embriones somáticos de *Quercus robur*, que un precultivo de 3 días y la PVS2 durante 60 a 90 minutos tuvo resultados significativamente teniendo mejores resultados más del 50% de sobrevivencia. Aunque en este caso el material crioconservado son embriones somáticos, se observa que la utilización de PVS en una buena vía para la crioconservación de especies forestales.

Agradecimiento

A la Comisión Nacional Forestal (CONAFOR) por el financiamiento de esta investigación a través del proyecto No. 11385232709.

Conclusiones

En conclusión, los meristemos de *Gmelina arborea* responden mejor después del congelamiento al tratamiento con PVS3 durante 30 minutos, sin embargo, hay que seguir estudiando otras vías tanto de la vitrificación, como medios de recuperación después del NL.

Referencias

Abdelnour-Esquivel, A., Rojas, G., Alfaro, U. 2007. Estudios preliminares para la crioconservación de especies forestales arbóreas Tecnología en Marcha. Vol. 20-1.

Engelmann F. 2003. Plant cryopreservation: current status, prospects and limitations. In Mandal, BB; Chaudhury, F; Engelmann, F; Bahag Mal Tao, KL; Dhillon, BS. eds. Conservation biotechnology of plant germplasm. Nueva Delhi, IN, NBPGR; Roma, IT, IPGRI; Roma, IT; FAO. p. 223-228.

FAO, FLD, Bioersivity International. 2007. Conservación y manejo de recursos genéticos forestales. Vol. 1: visión general, conceptos y algunos métodos sistemáticos. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos, Roma, Italia.

García Rojas, T. y Abdelnour Esquivel, A. 2013. Crioconservación de ápices y semillas de cedro (*Cedrela odorata* L.) mediante las técnicas de vitrificación y deshidratación. Agronomía Costarricense 37(1): 113-126.

Martínez M.T., Ballester A., and Vieitez A.M. 2003. Cryopreservation of embryogenic cultures of *Quercus robur* using desiccation and vitrification procedures. Cryobiology 46: 182–189.

Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15: 473–487.

Obregón Sánchez, Carolina. 2005. *Gmelina arborea*. Versatilidad, renovación y productividad sostenible para el futuro. Revista MM Edición 50: 14-20.

Reed, BM. ed. 2008. Plant cryopreservation: a practical guide. Springer Science. 513 p

Yamamoto, S., Wunna, T. Rafique, M. Valle Arizaga, K. Fukui, E. Cruz Gutierrez, C. Castillo Martinez, K. Watanabe and T. Niino. 2015. The aluminum cryo-plate increases efficiency of cryopreservation protocols for potato shoot tips. Am. J. Potato Res. 92: 250–257.

Instrucciones para la Publicación Científica, Tecnológica y de Innovación

[Título en Times New Roman y Negritas No. 14 en Español e Inglés]

Apellidos (EN MAYUSCULAS), Nombre del 1^{er} Autor†*, Apellidos (EN MAYUSCULAS), Nombre del 1^{er} Coautor, Apellidos (EN MAYUSCULAS), Nombre del 2^{do} Coautor y Apellidos (EN MAYUSCULAS), Nombre del 3^{er} Coautor

Institución de Afiliación del Autor incluyendo dependencia (en Times New Roman No.10 y Cursiva)

International Identification of Science - Technology and Innovation

ID 1^{er} Autor: (ORC ID - Researcher ID Thomson, arXiv Author ID - PubMed Autor ID - Open ID) y CVU 1^{er} Autor: (Becario-PNPC o SNI-CONACYT) (No.10 Times New Roman)

ID 1^{er} Coautor: (ORC ID - Researcher ID Thomson, arXiv Author ID - PubMed Autor ID - Open ID) y CVU 1^{er} Coautor: (Becario-PNPC o SNI-CONACYT) (No.10 Times New Roman)

ID 2^{do} Coautor: (ORC ID - Researcher ID Thomson, arXiv Author ID - PubMed Autor ID - Open ID) y CVU 2^{do} Coautor: (Becario-PNPC o SNI-CONACYT) (No.10 Times New Roman)

ID 3^{er} Coautor: (ORC ID - Researcher ID Thomson, arXiv Author ID - PubMed Autor ID - Open ID) y CVU 3^{er} Coautor: (Becario-PNPC o SNI-CONACYT) (No.10 Times New Roman)

(Indicar Fecha de Envío: Mes, Día, Año); Aceptado (Indicar Fecha de Aceptación: Uso Exclusivo de ECORFAN)

Resumen (En Español, 150-200 palabras)

Objetivos
Metodología
Contribución

Indicar 3 palabras clave en Times New Roman y Negritas No. 10 (En Español)

Resumen (En Inglés, 150-200 palabras)

Objetivos
Metodología
Contribución

Indicar 3 palabras clave en Times New Roman y Negritas No. 10 (En Inglés)

Citación: Apellidos (EN MAYUSCULAS), Nombre del 1er Autor†*, Apellidos (EN MAYUSCULAS), Nombre del 1er Coautor, Apellidos (EN MAYUSCULAS), Nombre del 2do Coautor y Apellidos (EN MAYUSCULAS), Nombre del 3er Coautor. Título del Artículo. Revista de Administración y Finanzas. Año 1-1: 1-11 (Times New Roman No. 10)

* Correspondencia del Autor (ejemplo@ejemplo.org)

† Investigador contribuyendo como primer autor.

Introducción

Texto redactado en Times New Roman No.12, espacio sencillo.

Explicación del tema en general y explicar porque es importante.

¿Cuál es su valor agregado respecto de las demás técnicas?

Enfocar claramente cada una de sus características

Explicar con claridad el problema a solucionar y la hipótesis central.

Explicación de las secciones del Artículo

Desarrollo de Secciones y Apartados del Artículo con numeración subsecuente

[Título en Times New Roman No.12, espacio sencillo y Negrita]

Desarrollo de Artículos en Times New Roman No.12, espacio sencillo.

Inclusión de Gráficos, Figuras y Tablas-Editables

En el *contenido del Artículo* todo gráfico, tabla y figura debe ser editable en formatos que permitan modificar tamaño, tipo y número de letra, a efectos de edición, estas deberán estar en alta calidad, no pixeladas y deben ser notables aun reduciendo la imagen a escala.

[Indicando el título en la parte inferior con Times New Roman No. 10 y Negrita]

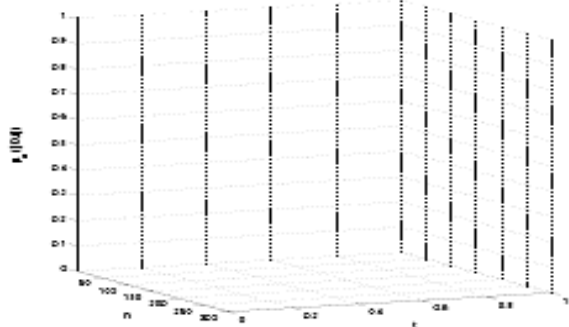


Gráfico 1 Titulo y Fuente (*en cursiva*)

No deberán ser imágenes, todo debe ser editable.

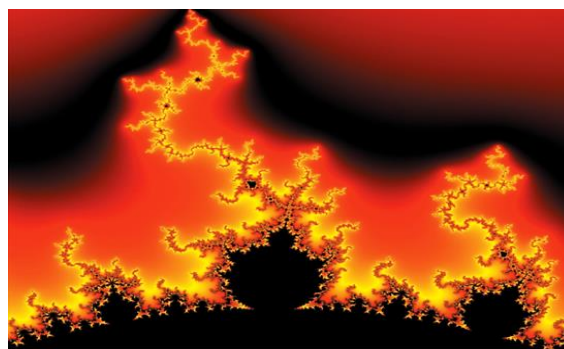


Figura 1 Titulo y Fuente (*en cursiva*)

No deberán ser imágenes, todo debe ser editable.

Tabla 1 Titulo y Fuente (*en cursiva*)

No deberán ser imágenes, todo debe ser editable.

Cada Artículo deberá presentar de manera separada en **3 Carpetas**: a) Figuras, b) Gráficos y c) Tablas en formato .JPG, indicando el número en Negrita y el Título secuencial.

Para el uso de Ecuaciones, señalar de la siguiente forma:

$$Y_{ij} = \alpha + \sum_{h=1}^r \beta_h X_{hij} + u_j + e_{ij} \quad (1)$$

Deberán ser editables y con numeración alineada en el extremo derecho.

Metodología a desarrollar

Dar el significado de las variables en redacción lineal y es importante la comparación de los criterios usados

Resultados

Los resultados deberán ser por sección del Artículo.

Anexos

Tablas y fuentes adecuadas.

Agradecimiento

Indicar si fueron financiados por alguna Institución, Universidad o Empresa.

Conclusiones

Explicar con claridad los resultados obtenidos y las posibilidades de mejora.

Referencias

Utilizar sistema APA. No deben estar numerados, tampoco con viñetas, sin embargo en caso necesario de numerar será porque se hace referencia o mención en alguna parte del Artículo.

Utilizar Alfabeto Romano, todas las referencias que ha utilizado deben estar en el Alfabeto romano, incluso si usted ha citado un Artículo, libro en cualquiera de los idiomas oficiales de la Organización de las Naciones Unidas (Inglés, Francés, Alemán, Chino, Ruso, Portugués, Italiano, Español, Árabe), debe escribir la referencia en escritura romana y no en cualquiera de los idiomas oficiales.

Ficha Técnica

Cada Artículo deberá presentar un documento Word (.docx):

Nombre de la Revista

Título del Artículo

Abstract

Keywords

Secciones del Artículo, por ejemplo:

1. *Introducción*
2. *Descripción del método*
3. *Análisis a partir de la regresión por curva de demanda*
4. *Resultados*
5. *Agradecimiento*
6. *Conclusiones*
7. *Referencias*

Nombre de Autor (es)

Correo Electrónico de Correspondencia al Autor

Referencias

Requerimientos de Propiedad Intelectual para su edición:

-Firma Autógrafa en Color Azul del Formato de Originalidad del Autor y Coautores

-Firma Autógrafa en Color Azul del Formato de Aceptación del Autor y Coautores

Reserva a la Política Editorial

Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias se reserva el derecho de hacer los cambios editoriales requeridos para adecuar los Artículos a la Política Editorial del Research Journal. Una vez aceptado el Artículo en su versión final, el Research Journal enviará al autor las pruebas para su revisión. ECORFAN® únicamente aceptará la corrección de erratas y errores u omisiones provenientes del proceso de edición de la revista reservándose en su totalidad los derechos de autor y difusión de contenido. No se aceptarán supresiones, sustituciones o añadidos que alteren la formación del Artículo.

Código de Ética – Buenas Prácticas y Declaratoria de Solución a Conflictos Editoriales

Declaración de Originalidad y carácter inédito del Artículo, de Autoría, sobre la obtención de datos e interpretación de resultados, Agradecimientos, Conflicto de intereses, Cesión de derechos y distribución

La Dirección de ECORFAN-México, S.C reivindica a los Autores de Artículos que su contenido debe ser original, inédito y de contenido Científico, Tecnológico y de Innovación para someterlo a evaluación.

Los Autores firmantes del Artículo deben ser los mismos que han contribuido a su concepción, realización y desarrollo, así como a la obtención de los datos, la interpretación de los resultados, su redacción y revisión. El Autor de correspondencia del Artículo propuesto requisitara el formulario que sigue a continuación.

Título del Artículo:

- El envío de un Artículo a Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias emana el compromiso del autor de no someterlo de manera simultánea a la consideración de otras publicaciones seriadas para ello deberá complementar el Formato de Originalidad para su Artículo, salvo que sea rechazado por el Comité de Arbitraje, podrá ser retirado.
- Ninguno de los datos presentados en este Artículo ha sido plagiado ó inventado. Los datos originales se distinguen claramente de los ya publicados. Y se tiene conocimiento del testeo en PLAGSCAN si se detecta un nivel de plagio Positivo no se procederá a arbitrar.
- Se citan las referencias en las que se basa la información contenida en el Artículo, así como las teorías y los datos procedentes de otros Artículos previamente publicados.
- Los autores firman el Formato de Autorización para que su Artículo se difunda por los medios que ECORFAN-México, S.C. en su Holding Bolivia considere pertinentes para divulgación y difusión de su Artículo cediendo sus Derechos de Obra.
- Se ha obtenido el consentimiento de quienes han aportado datos no publicados obtenidos mediante comunicación verbal o escrita, y se identifican adecuadamente dicha comunicación y autoría.
- El Autor y Co-Autores que firman este trabajo han participado en su planificación, diseño y ejecución, así como en la interpretación de los resultados. Asimismo, revisaron críticamente el trabajo, aprobaron su versión final y están de acuerdo con su publicación.
- No se ha omitido ninguna firma responsable del trabajo y se satisfacen los criterios de Autoría Científica.
- Los resultados de este Artículo se han interpretado objetivamente. Cualquier resultado contrario al punto de vista de quienes firman se expone y discute en el Artículo.

Copyright y Acceso

La publicación de este Artículo supone la cesión del copyright a ECORFAN-Mexico, S.C en su Holding Bolivia para su Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias, que se reserva el derecho a distribuir en la Web la versión publicada del Artículo y la puesta a disposición del Artículo en este formato supone para sus Autores el cumplimiento de lo establecido en la Ley de Ciencia y Tecnología de los Estados Unidos Mexicanos, en lo relativo a la obligatoriedad de permitir el acceso a los resultados de Investigaciones Científicas.

Título del Artículo:

Nombre y apellidos del Autor de contacto y de los Coautores	Firma
1.	
2.	
3.	
4.	

Principios de Ética y Declaratoria de Solución a Conflictos Editoriales

Responsabilidades del Editor

El Editor se compromete a garantizar la confidencialidad del proceso de evaluación, no podrá revelar a los Árbitros la identidad de los Autores, tampoco podrá revelar la identidad de los Árbitros en ningún momento.

El Editor asume la responsabilidad de informar debidamente al Autor la fase del proceso editorial en que se encuentra el texto enviado, así como de las resoluciones del arbitraje a Doble Ciego.

El Editor debe evaluar los manuscritos y su contenido intelectual sin distinción de raza, género, orientación sexual, creencias religiosas, origen étnico, nacionalidad, o la filosofía política de los Autores.

El Editor y su equipo de edición de los Holdings de ECORFAN® no divulgarán ninguna información sobre Artículos enviado a cualquier persona que no sea el Autor correspondiente.

El Editor debe tomar decisiones justas e imparciales y garantizar un proceso de arbitraje por pares justa.

Responsabilidades del Consejo Editorial

La descripción de los procesos de revisión por pares es dado a conocer por el Consejo Editorial con el fin de que los Autores conozcan cuáles son los criterios de evaluación y estará siempre dispuesto a justificar cualquier controversia en el proceso de evaluación. En caso de Detección de Plagio al Artículo el Comité notifica a los Autores por Violación al Derecho de Autoría Científica, Tecnológica y de Innovación.

Responsabilidades del Comité Arbitral

Los Árbitros se comprometen a notificar sobre cualquier conducta no ética por parte de los Autores y señalar toda la información que pueda ser motivo para rechazar la publicación de los Artículos. Además, deben comprometerse a mantener de manera confidencial la información relacionada con los Artículos que evalúan.

Cualquier manuscrito recibido para su arbitraje debe ser tratado como documento confidencial, no se debe mostrar o discutir con otros expertos, excepto con autorización del Editor.

Los Árbitros se deben conducir de manera objetiva, toda crítica personal al Autor es inapropiada.

Los Árbitros deben expresar sus puntos de vista con claridad y con argumentos válidos que contribuyan al que hacer Científico, Tecnológica y de Innovación del Autor.

Los Árbitros no deben evaluar los manuscritos en los que tienen conflictos de intereses y que se hayan notificado al Editor antes de someter el Artículo a evaluación.

Responsabilidades de los Autores

Los Autores deben garantizar que sus Artículos son producto de su trabajo original y que los datos han sido obtenidos de manera ética.

Los Autores deben garantizar no han sido previamente publicados o que no estén siendo considerados en otra publicación seriada.

Los Autores deben seguir estrictamente las normas para la publicación de Artículos definidas por el Consejo Editorial.

Los Autores deben considerar que el plagio en todas sus formas constituye una conducta no ética editorial y es inaceptable, en consecuencia, cualquier manuscrito que incurra en plagio será eliminado y no considerado para su publicación.

Los Autores deben citar las publicaciones que han sido influyentes en la naturaleza del Artículo presentado a arbitraje.

Servicios de Información

Indización - Bases y Repositorios

LATINDEX (Revistas Científicas de América Latina, España y Portugal)

RESEARCH GATE (Alemania)

GOOGLE SCHOLAR (Índices de citas-Google)

REDIB (Red Iberoamericana de Innovación y Conocimiento Científico- CSIC)

MENDELEY (Gestor de Referencias bibliográficas)

Servicios Editoriales:

Identificación de Citación e Índice H.

Administración del Formato de Originalidad y Autorización.

Testeo de Artículo con PLAGSCAN.

Evaluación de Artículo.

Emisión de Certificado de Arbitraje.

Edición de Artículo.

Maquetación Web.

Indización y Repositorio

Traducción.

Publicación de Obra.

Certificado de Obra.

Facturación por Servicio de Edición.

Política Editorial y Administración

244 - 2 Itzopan Calle. La Florida, Ecatepec Municipio México Estado, 55120 Código postal, MX. Tel: +52 1 55 2024 3918, +52 1 55 6159 2296, +52 1 55 4640 1298; Correo electrónico: contact@ecorfan.org
www.ecorfan.org

ECORFAN®

Editora en Jefe

RAMOS-ESCAMILLA, María. PhD

Redactor Principal

SERRUDO-GONZALES, Javier. BsC

Asistente Editorial

ROSALES-BORBOR, Eleana. BsC

SORIANO-VELASCO, Jesús. BsC

Director Editorial

PERALTA-CASTRO, Enrique. MsC

Editor Ejecutivo

IGLESIAS-SUAREZ, Fernando. MsC

Editores de Producción

ESCAMILLA-BOUCHAN, Imelda. PhD

LUNA-SOTO, Vladimir. PhD

Administración Empresarial

REYES-VILLAO, Angélica. BsC

Control de Producción

RAMOS-ARANCIBIA Alejandra. BsC

DÍAZ-OCAMPO Javier. BsC

Editores Asociados

OLIVES-MALDONADO, Carlos. MsC

MIRANDA-GARCIA, Marta. PhD

CHIATCHOUA, Cesaire. PhD

SUYO-CRUZ, Gabriel. PhD

CENTENO-ROA, Ramona. MsC

ZAPATA-MONTES, Nery Javier. PhD

ALAS-SOLA, Gilberto Américo. PhD

MARTÍNEZ-HERRERA, Erick Obed. MsC

ILUNGA-MBUYAMBA, Elisée. MsC

IGLESIAS-SUAREZ, Fernando. MsC

VARGAS-DELGADO, Oscar. PhD

Publicidad y Patrocinio

(ECORFAN®- Mexico- Bolivia- Spain- Ecuador- Cameroon- Colombia- El Salvador- Guatemala- Nicaragua- Peru- Paraguay- Democratic Republic of The Congo- Taiwan),sponsorships@ecorfan.org

Licencias del Sitio

03-2010-032610094200-01-Para material impreso, 03-2010-031613323600-01-Para material electrónico, 03-2010-032610105200-01-Para material fotográfico, 03-2010-032610115700-14-Para Compilación de Datos, 04 -2010-031613323600-01-Para su página Web, 19502-Para la Indización Iberoamericana y del Caribe, 20-281 HB9-Para la Indización en América Latina en Ciencias Sociales y Humanidades, 671-Para la Indización en Revistas Científicas Electrónicas España y América Latina, 7045008-Para su divulgación y edición en el Ministerio de Educación y Cultura-España, 25409-Para su repositorio en la Biblioteca Universitaria-Madrid, 16258-Para su indexación en Dialnet, 20589-Para Indización en el Directorio en los países de Iberoamérica y el Caribe, 15048-Para el registro internacional de Congresos y Coloquios. financingprograms@ecorfan.org

Oficinas de Gestión

244 Itzopan, Ecatepec de Morelos–México.

21 Santa Lucía, CP-5220. Libertadores -Sucre–Bolivia.

38 Matacerquillas, CP-28411. Moralarzal –Madrid-España.

18 Marcial Romero, CP-241550. Avenue, Salinas I - Santa Elena-Ecuador.

1047 La Raza Avenue -Santa Ana, Cusco-Peru.

Boulevard de la Liberté, Immeuble Kassap, CP-5963.Akwa- Douala-Cameroon.

Southwest Avenue, San Sebastian – León-Nicaragua.

6593 Kinshasa 31 – Republique Démocratique du Congo.

San Quentin Avenue, R 1-17 Miralvalle - San Salvador-El Salvador.

16 Kilometro, American Highway, House Terra Alta, D7 Mixco Zona 1-Guatemala.

105 Alberdi Rivarola Captain, CP-2060. Luque City- Paraguay.

Distrito YongHe, Zhongxin, calle 69. Taipei-Taiwán.

Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias

“Evaluación preliminar de la calidad de astilla de madera como base para una estandarización de biocombustibles sólidos en México”

CARRILLO-ÁVILA, Noel, FUENTES-LÓPEZ, Martha Elena, SUÁREZ-PATLÁN, Edna Elena y DURÁN-SÁNCHEZ, Ezequiel

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias

“Producción de Estevia (*Stevia rebaudiana Bertoni*) mediante microorganismos en la Península de Yucatán”

JIMÉNEZ-CHI, José Antonio, EK-UC, Azael Oseas y CANUL-MARTÍNEZ, Juan Pablo

Universidad Tecnológica del Mayab

“Aislamiento y cuantificación de esclerocios de *Sclerotium cepivorum* en suelo contaminado: Mejoramiento de técnicas de determinación”

VALDÉS-SANTIAGO, Laura, ORDAZ-ARIAS, Ayabeth, HERRERA-PÉREZ, Gabriel y VARGAS-BERNAL, Rafael

Instituto Tecnológico Superior de Irapuato

“Estudio preliminar de la repelencia de los ovinos a las garrapatas”

MARTINEZ-GONZALEZ, Sergio, ESCALERA-VALENTE, Francisco, CARMONA-GASCA, Carlos y AVILA-RAMOS, Fidel

Universidad Autónoma de Nayarit

Universidad de Guanajuato

“Conservación a largo plazo de *Gmelina arborea* por el método de crioconservación con crio-placas de Aluminio”

CRUZ-GUTIÉRREZ, Esmeralda Judith, ARADILLAS-TOVAR, Luis Ángel, BRAVO-AVILA, Francisco Miguel y ARADILLAS-TOVAR, Adonái Jonas

Centro nacional de Recursos Genéticos

