

Ultrasonido y Radiadores Direccionales en el Pre-Acondicionamiento de Semillas

Solano Cruz Octavio, Hernández Aguilar Claudia, Domínguez Pacheco Flavio Arturo, Sánchez Sánchez Marcial Margarito. Programa de posgrado de Ingeniería de Sistemas – Sistemas Biofísicos – ESIME Zacatenco
Instituto Politécnico Nacional
osolanoc1300@alumno.ipn.mx

Resumen— El estudio analiza los efectos del sonido de altavoces direccionales en la germinación de *Lens culinaris*, evaluando cómo la exposición acústica influye en el desarrollo de las semillas. Esta investigación aborda un área poco explorada de la acústica aplicada a la biología vegetal.

Se utilizó un diseño de bloques completos al azar (DBCA) para minimizar la variabilidad provocada por la temperatura y humedad, las cuales no fueron controladas de manera directa. Se empleó un contenedor de poliestireno expandido y las condiciones ambientales fueron monitoreadas con un sensor BME280. Se registró un promedio de 30 grados, con mínimos de 27 y máximos de 35 grados, mientras que la humedad relativa mostró un promedio de 55%, con caídas drásticas de hasta el 24% al abrir el contenedor para el seguimiento fotográfico.

Las semillas fueron expuestas a señales de 1 kHz a 90 dB y ondas ultrasónicas de 40 kHz durante 5, 10, 15 y 20 minutos, además de un tratamiento con exposición permanente y un grupo control. Siguiendo la norma ISTA, cada muestra consistió en 20 semillas en placas Petri, con riego controlado, almacenadas en oscuridad total y aisladas acústicamente. Se realizaron registros fotográficos cada 12 horas.

El tratamiento de exposición permanente afectó negativamente la longitud de la raíz, mientras que las exposiciones de 5 a 20 minutos favorecieron la germinación. Se observaron fracturas en algunas semillas tras exposiciones prolongadas.

Los resultados sugieren que la exposición acústica influye en la germinación. Se recomienda investigar un rango más amplio de frecuencias y evaluar su potencial en agricultura.

Palabras Clave — Acústica no lineal, altavoz direccional, germinación, *Lens culinaris*, ultrasonido.

Abstract- The study analyzes the effects of directional speaker sound on the germination of *Lens culinaris*, evaluating how acoustic exposure influences seed development. This research addresses a little-explored area of acoustics applied to plant biology.

A completely randomized block design (CRBD) was used to minimize variability caused by temperature and humidity, which were not directly controlled. To reduce their impact, a polystyrene foam container was employed, and environmental conditions were monitored with a BME280 sensor. An average of 30°C was recorded, with minimums of 27°C and maximums of 35°C, while

relative humidity averaged 55%, with drastic drops of up to 24% when the container was opened.

The seeds were exposed to 1 kHz signals at 90 dB and 40 kHz ultrasonic waves for 5, 10, 15, and 20 minutes, in addition to a permanent exposure treatment and a control group. Following ISTA standards, each sample consisted of 20 seeds in Petri dishes, with controlled watering, stored in total darkness, and acoustically isolated. Photographic records were taken every 12 hours.

The permanent exposure treatment negatively affected root length, while exposures of 5 to 20 minutes favored germination. Fractures were observed in some seeds after prolonged exposures.

The results suggest that acoustic exposure influences germination. Further research is recommended to explore a broader range of frequencies and assess its potential in agriculture.

I. INTRODUCCIÓN

Los tratamientos en los procesos de germinación es una de las áreas que en las últimas décadas ha comenzado a tener una expansión y profundización en su investigación [1].

El sonido es energía acústica que se transmite a través de un medio que puede interactuar con los tejidos biológicos mediante procesos térmicos y mecánicos [2]. El rango de frecuencias audibles esta aproximado entre los 20 Hz y los 20kHz, a frecuencias superiores se le denomina ultrasonido.

Se han realizado diversos y muy variados estudios empleando tecnología de generación de ondas en rango audible como ultrasónicas, en varias etapas de crecimiento de las plantas, como en el proceso de germinación de las semillas. Se ha concluido que la estimulación con ondas sonoras podría mejorar la resistencia a enfermedades y ayudar en que los requerimientos de fertilizantes disminuyan [3], con implicaciones a nivel microscópico como el cambiar su ciclo celular [4] o acelerar el movimiento protoplasmático en las células [5].

Algunas líneas de investigación se centran en generar estímulos con diferentes musicales como estimulación, aunque se han obtenido diferentes resultados. Mientras que otras investigaciones se centran en usar únicamente frecuencias sonoras y niveles de presión sonora para tratar las plantas [6] siendo esta la línea de investigación de nuestro interés.

Vicient Carlos [7], empleo frecuencias entre los 300 Hz y los 12 kHz, observando un incremento en la tasa de germinación del maíz favorecida por el tratamiento en baja frecuencia. Destacando un decaimiento al aumentar la frecuencia empleada y registrar evidencia sobre como este aumento induce daños físicos en el pericarpio.

Trabajos de experimentación como la realizada por un nutrido grupo de investigadores [8] en China, observaron los efectos del ultrasonido como tratamiento, esto mediante un procesador de túnel de producción de cultivos por ultrasonido se registró un impacto positivo en la germinación y crecimiento del arroz debido a los cambios morfológicos y fisiológicos en la semilla. También se encontraron aumentos en la proteína soluble de las hojas, lo que mejoro la eficiencia fotosintética y que se traduce en mejora de la biomasa y crecimiento del grano de arroz.

El empleo de limpiadores de alta frecuencia ha sido un sustituto al procesador de túnel de producción de cultivos. En el 2023 la investigación [9] enfocada en estudiar los efectos de ondas de ultrasonido en semillas envejecidas de pinus tabuliformis, evidencio los efectos en lípidos, así como un retraso en etapa temprana de las plántulas.

En la industria alimentaria, décadas atrás se inició la investigación sobre la inactivación microbiana mediante ultrasonido, como la realizada por López. [10] donde se estudió la inactivación de *S. cerevisiae* mediante ultrasonido a 20 kHz en combinación con tratamientos térmicos. Se observó que, incluso dentro del rango audible, la aplicación de ultrasonido redujo drásticamente el tiempo de tratamiento térmico de 739 min a solo 22.3 min. Estos hallazgos sugieren que la combinación de ultrasonido y calor es una estrategia prometedora para la inactivación microbiana, lo que abre la posibilidad de explorar su aplicación en rangos de frecuencia menos estudiados.

Otro uso recurrente en la búsqueda de métodos eficientes para la homogeneización de hongos se ha desarrollado un sistema automatizado basado en ultrasonido, capaz de procesar muestras sin intervención manual [11]. Este sistema, construido integra un arreglo de transductores y un sistema de visión por computadora para monitorear la homogeneidad de las muestras en tiempo real. Los resultados muestran que la homogeneización ocurre rápidamente en las primeras etapas del tratamiento ultrasónico, seguido de una desaceleración progresiva. Además, encontraron que la potencia del ultrasonido y la temperatura influyen significativamente en el proceso, mientras que el tiempo de cultivo no tiene efecto. Este avance demuestra el potencial del ultrasonido como herramienta para el procesamiento eficiente de muestras biológicas, lo que podría extrapolarse a otras aplicaciones en microbiología y biotecnología.

En la acústica no lineal y su enfoque en los arreglos paramétricos se centran en la generación de altavoces direccionales [12] con un énfasis en reducir la distorsión natural e inevitable resultado de la naturaleza de la deformación de onda al ser sometida a los efectos no lineales del aire que presentan

este tipo de altavoces y que desde la generación del primer prototipo y patente de altavoz direccional surgido de una tesis doctoral [13] ha sido objeto de estudio para su mejora. Razón por la cual existe poca información sobre el empleo de altavoces direccionales como un medio para generar un tratamiento de sonido en rango audible, pero con características de alta frecuencia, a pesar de las bondades que tendría en la reducción de efectos sonoros para el entorno de experimentación.

Basándonos en trabajos previos de los autores, hemos desarrollado prototipos de altavoces direccionales con un arreglo paramétrico de transductores (Figura 1), logrando un sonido altamente direccional de 15 grados y un rendimiento casi lineal dentro del rango de 180 Hz a 40 kHz.

Este trabajo tiene como objetivo investigar el impacto del sonido direccional en la germinación de semillas y desarrollar un tratamiento eficaz para optimizar sus procesos.

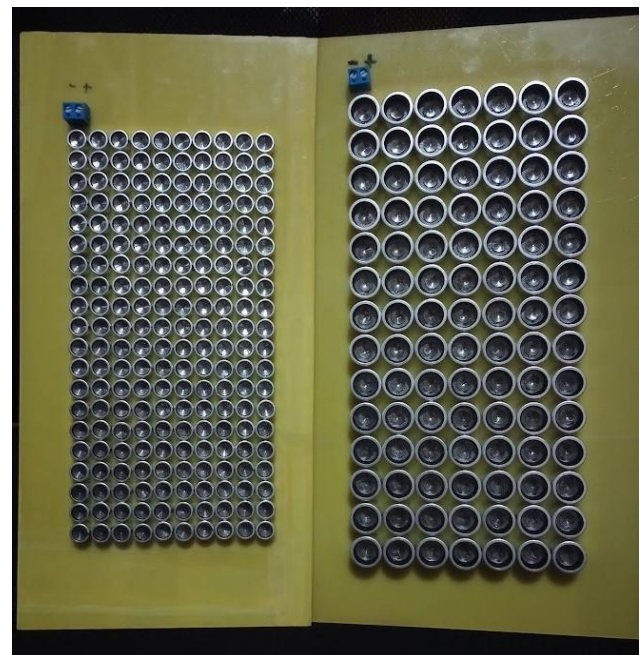


Figura 1.- Arreglos de transductores de alta frecuencia generado para la emisión de sonido direccional.

II. METODOLOGÍA

Material biológico.

Se emplearon semillas de lenteja, adquiridas en un comercio local, bajo ningún tipo de presentación o marca en específico (ciclo productivo, marca, mismo material biológico para replicación). El proceso de homogeneización se determinó después de evaluar la media del tamaño de una muestra de 100 semillas, con lo que únicamente fueron seleccionadas aquellas que estuvieran por encima de 0.7 mm de diámetro. Las características generales quedan descritas en la **Tabla 1**.

Tabla 1.- Características generales de la semilla empleada.

Característica	Unidad /Escala	Promedio + Desviación Estándar
Color	Lab	L* 19.13 ± 3.64 a* 2.44 ± 1.18 b* 9.86 ± 3.84
Longitud	cm	0.74 ± 0.03
Ancho	cm	0.24 ± 0.03
Peso (por 20 unidades)	g	1.56

Diseño experimental y análisis estadístico.

Mediante un diseño experimental de bloques completos al azar y 4 repeticiones, se determinó el número de muestra y su correspondiente tiempo de exposición, tal como lo describe la **Tabla 2.** El orden se generó mediante un arreglo matricial aleatorio en MATLAB R2021a.

Tabla 2.- Diseño experimental propuesto para la realización del experimento.

No.	Diseño experimental por bloques completamente aleatorizado					
	Tratamiento	R1	R2	R3	R4	Tiempo
1	Control	2	7	13	20	0 min
2	T1	1	9	15	19	20 min
3	T2	3	8	14	23	40 min
4	T3	5	12	16	21	80 min
5	T4	4	11	18	24	160 min
6	T5	6	10	17	22	Permanente

Para evaluar la normalidad de los residuos de las longitudes finales, se utilizó la prueba de Kolmogórov-Smirnov. El objetivo de esta prueba es determinar si los residuos siguen una distribución normal, lo cual es un supuesto fundamental para realizar un análisis estadístico clásico adecuado.

La prueba de hipótesis para esta evaluación se planteó de la siguiente manera:

- **Hipótesis nula (H₀):** Los residuos siguen una distribución normal.
- **Hipótesis alternativa (H₁):** Los residuos no siguen una distribución normal.

La prueba de bondad de ajuste, así como el análisis de varianza para el peso y el porcentaje de germinación, el análisis post hoc y las gráficas de medias, se realizaron utilizando StatGraphics 16. Las gráficas del registro diario del porcentaje de germinación, junto con los datos de temperatura y humedad, fueron generadas en MATLAB, versión R2021a.

Para calcular la diferencia en porcentajes entre cada tratamiento con referencia a la media de cada uno, se empleó la ecuación (1):

$$D.P. = \left(\frac{MP - MTR}{MTR} \right) \times 100 \quad (1)$$

Donde D.P: Diferencia Porcentual, MT. Media del tratamiento, MTR: Media tratamiento de referencia (control).

Tratamiento de la semilla.

Las semillas de lenteja fueron distribuidas en un Petri de 5 cm con papel filtro que servirá para retener el agua durante el experimento. Se distribuyeron homogéneamente 20 semillas por cada muestra. Se empleo agua obtenida del grifo sin ningún tipo de tratamiento y se dio un periodo de 60 minutos para absorción de líquido, una vez iniciado el riego inicial con 2 mL de agua.

Se emplearon dos recipientes de poliestireno expandido con tratamiento acústico para minimizar vibraciones por ondas estacionarias, sin aislamiento para evitar insonorización hacia el exterior.

Las muestras de cada tratamiento se distribuyeron uniformemente en el centro de los contenedores de exposición. Se generó una onda sonora de 1 kHz y 90 dB con un ángulo de cobertura de 15 grados. Debido a la naturaleza del dispositivo, también estuvieron expuestas a ondas de 40 kHz, registradas con un receptor de alta frecuencia.

Tras la exposición, los tratamientos t1, t2, t3 y t4 se almacenaron en contenedores con tratamiento acústico: repeticiones 1 y 2 en el contenedor 1, y repeticiones 3 y 4 en el contenedor 2. Bajo condiciones de oscuridad.

Los contenedores no tenían refrigeración, por lo que la temperatura no fue controlada durante ni después del tratamiento. Se monitorearon temperatura y humedad dentro de los contenedores y en la habitación con un sensor BME280.

Obtención de datos.

Se realizó un periodo de observación de 6 días con evidencia fotográfica cada 12 horas. Se registró el porcentaje de germinación y la longitud de la raíz de la primera semilla germinada.

Mediante el microcontrolador ESP32 y el sensor BME280 se recolectaron datos cada 24 horas de temperatura y humedad.

Las mediciones de peso se realizaron 12 horas después del periodo de observación para evitar el peso del agua residual en las muestras.

Se obtuvo un registro previo y posterior a la exposición mediante un microscopio digital de la marca Etools.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La prueba de Kolmogórov-Smirnov para la normalidad de los residuos de las longitudes finales arrojó un valor de $p = 0.9664$, lo que indica que no se rechaza la hipótesis nula y que los residuos siguen una distribución normal. Este resultado sugiere que se cumple uno de los supuestos fundamentales para aplicar análisis estadísticos clásicos, como el análisis de varianza.

El análisis de varianza (ANOVA), mostrado en la **Tabla 3**, revela que la exposición sonora tiene un efecto significativo en las longitudes finales de las raíces ($p = 0.0008$), lo que indica que existen diferencias estadísticas entre los diferentes niveles de exposición.

Tabla 3.- Análisis de Varianza para longitud raíces - Suma de Cuadrados

Fuente	Gl	CM	RP
Exposición	5	1.47	0.00

Donde Gl: Grados de libertad, CM: Cuadrado medio, RP: Razón de Probabilidad.

La **Tabla 4** presenta los resultados del análisis post hoc LSD, que permite observar cómo las exposiciones afectan las longitudes de las raíces finales. Este análisis genera grupos homogéneos que facilitan la identificación de las ventanas de tiempo donde los efectos de la exposición sonora son más notables. El tratamiento con exposición permanente resultó ser un factor de estrés, ya que condujo a que la media de las longitudes al final del sexto día de observación fuera la más baja de todo el experimento.

Al comparar los tratamientos con el grupo control (3.5), se observan las siguientes diferencias en términos porcentuales: el tratamiento con exposición permanente muestra una disminución del 27.14%, mientras que el tratamiento con 15 minutos de exposición presenta una disminución del 9.29%. Por otro lado, el tratamiento de 10 minutos apenas muestra un aumento del 0.71%, mientras que los tratamientos con 5 minutos y 20 minutos de exposición aumentan en un 17.14% y 18.57%, respectivamente, en comparación con el control.

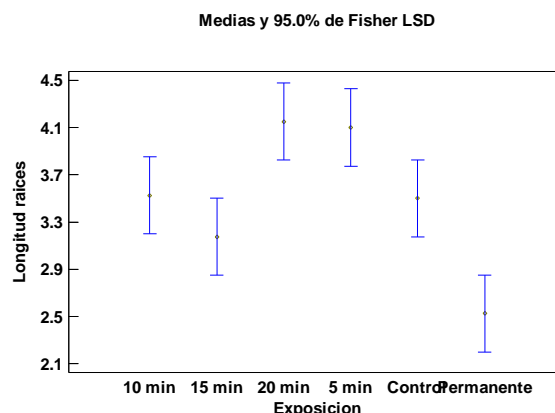
Tabla 4.- Análisis de Medias para longitudes finales por mínimos cuadrados con un intervalo de confianza del 95%. Prueba LSD

Exposición	Casos	Media LS	Error Est.	Grupos Homogéneos
Permanente	4	2.525	0.216587	a
15 min	4	3.175	0.216587	ab
Control	4	3.5	0.216587	bc
10 min	4	3.525	0.216587	bc
5 min	4	4.1	0.216587	c
20 min	4	4.15	0.216587	c

En la **Figura 2** se observa cómo se generan y diferencian los grupos, destacando la exposición permanente, que muestra una diferencia significativa con respecto al resto de los tratamientos. Esto es relevante ya que sugiere que la exposición continua al sonido podría tener efectos adversos sobre las semillas.

La **Figura 3** muestra el comportamiento del porcentaje de germinación durante los seis días de observación. Los tratamientos con tiempos de exposición de 5 a 20 minutos favorecieron la germinación de las semillas de *Lens culinaris*, acelerando el proceso en comparación con el grupo de control. En particular, el tratamiento de 20 minutos alcanzó un 100% de germinación a las 72 horas, mientras que los tratamientos de 5, 10 y 15 minutos lograron el 100% entre las 60 y 84 horas. En contraste, el tratamiento con exposición permanente mostró un retraso significativo en la germinación, alcanzando solo el 95% en 144 horas, lo que sugiere un impacto negativo debido a la exposición prolongada al sonido.

Figura 2.- Longitudes de raíz de plántula (cm) de semilla tratada



En general, los resultados sugieren que la exposición a sonidos de corta duración mejora la germinación de las semillas de *Lens culinaris*, mientras que una exposición prolongada podría ser contraproducente. Se debe tener en cuenta que una posible interferencia en los resultados podría haberse producido por la cercanía de los contenedores que albergaban las muestras de 10 y 15 minutos, en comparación con el contenedor que contenía la exposición permanente al sonido. En la siguiente fase del estudio, se diseñará un contenedor que aisle completamente el ruido, con el fin de evitar estos efectos adversos y optimizar el tratamiento acústico de las semillas.

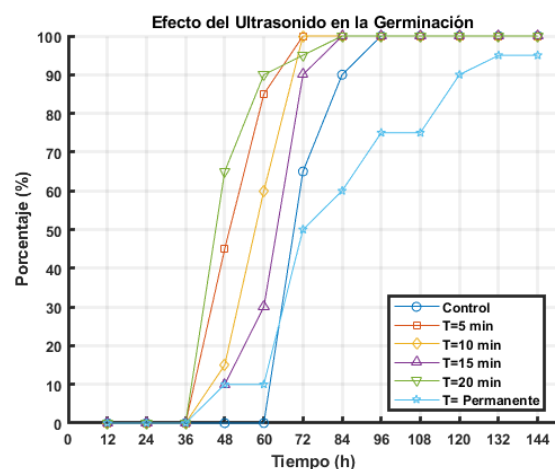


Figura 3.- Comportamiento en el porcentaje de germinación durante los 6 días de observación..

El registro fotográfico, antes y después de la exposición, reveló fracturas en la superficie de algunas semillas tras los tratamientos, lo que sugiere un posible impacto del sonido sobre su integridad física. La **Figura 4** muestra el registro de este fenómeno, lo que permite observar los efectos en la superficie de las muestras. Esto podría estar relacionado con la interacción de las ondas sonoras con los materiales biológicos de las semillas, lo que abre una línea interesante de investigación.



Tabla 4.- Fenomeno de fractura en la superficie observado en algunas de las muestras.

Las exposiciones prolongadas al sonido mostraron efectos adversos en la germinación y posibles daños superficiales en las semillas de *Lens culinaris*. Estos efectos pueden compararse con los mecanismos de exposición prolongada al ultrasonido en otros campos, como la inhibición microbiana, donde la ruptura de membranas es el objetivo del tratamiento sonoro. De manera similar a estudios previos en la industria alimentaria, donde la combinación de ultrasonido y calor redujo significativamente los tiempos de procesamiento [10], este experimento sugiere que el ultrasonido podría haber inducido un estrés en las células de las semillas, reduciendo los tiempos de germinación y las longitudes radiculares finales.

En la homogeneización de cultivos de hongos, sistemas ultrasónicos como el de Ya Xiong [11] han demostrado eficacia en las primeras etapas del tratamiento, aunque en fases posteriores su efecto se desacelera debido a la potencia y temperatura del ultrasonido, sin afectar el tiempo total de cultivo. Un comportamiento similar fue observado en este experimento, sugiriendo que el ultrasonido podría acelerar las primeras etapas de la germinación si se encuentra la ventana de exposición adecuada, pero también influir en su progresión posterior.

Este fenómeno podría aprovecharse para inducir una homogeneización controlada en ciertos materiales biológicos, inhibiendo selectivamente el crecimiento mediante una focalización precisa del sonido con altavoces direccionales. Esto es posible gracias a la capacidad técnica actual para reducir el ángulo de cobertura del altavoz (actualmente de 15 grados), lo que permite una mayor precisión en la aplicación. Además, sería interesante explorar el uso de frecuencias que varían entre 180 Hz y 40 kHz. En este contexto, los estudios previos sobre el uso de frecuencias ultrasónicas más altas, como los generados por limpiadores ultrasónicos de 40 kHz, destacan la necesidad de comprender mejor los efectos del estrés sonoro y desarrollar

estrategias que permitan replicar estas condiciones. En particular, se sugiere investigar su aplicación en semillas con presencia de hongos durante la germinación, evaluando si este fenómeno pudiese inducir una respuesta favorable en su crecimiento.

Los estudios en frecuencias ultrasónicas más altas suelen centrarse en limpiadores ultrasónicos, que generan ondas a una frecuencia determinada por la resonancia del transductor, comúnmente 40 kHz. Por lo que estos hallazgos resaltan la importancia de profundizar en la comprensión de los efectos del estrés sonoro y desarrollar estrategias para replicar sus condiciones. En particular, sería relevante explorar su aplicación en semillas con presencia de hongos durante la germinación o el desarrollo de plántulas, evaluando si este fenómeno puede inducir una respuesta favorable en su crecimiento.

IV. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos evidencian que la exposición al sonido tiene un efecto significativo en la germinación de *Lens culinaris*, con una clara diferencia entre los tratamientos de corta y larga duración. Mientras que exposiciones entre 5 y 20 minutos favorecieron la germinación acelerando su desarrollo en comparación con el control, la exposición prolongada generó efectos adversos, ralentizando el proceso e incluso ocasionando posibles daños en la superficie de las semillas. Este hallazgo es consistente con investigaciones previas sobre el impacto del ultrasonido en otros sistemas biológicos, como la inhibición microbiana y la homogeneización de cultivos celulares, donde la intensidad y el tiempo de exposición son factores determinantes en la respuesta observada.

El análisis estadístico confirma que la exposición sonora afecta significativamente el resultado final, mientras que la variabilidad entre bloques no representa una influencia relevante en la respuesta de las semillas. No obstante, es necesario considerar posibles interferencias entre los tratamientos debido a la cercanía de los contenedores, lo que resalta la importancia de diseñar un sistema de aislamiento acústico más efectivo para futuros experimentos.

Es de interés la observación de fracturas en la superficie de algunas semillas tras la exposición prolongada, la cual sugiere un impacto estructural que podría estar relacionado con la propagación de ondas acústicas en materiales biológicos. Este fenómeno representa un área de gran interés para investigaciones futuras, ya que la interacción entre sonido y estructuras celulares podría abrir nuevas oportunidades en la aplicación de tratamientos acústicos controlados.

En este contexto, explorar un rango de frecuencias más amplio, desde 180 Hz hasta 40 kHz, permitiría aplicaciones más específicas en el tratamiento sonoro para la germinación de semillas. Es necesario mejorar los protocolos experimentales y evaluar el impacto en otras especies vegetales bajo condiciones controladas, lo que resalta la importancia de continuar con estudios para comprender mejor los mecanismos subyacentes y su aplicación en la agricultura e industria alimenticia.

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto Politécnico Nacional, cuya infraestructura y ambiente académico han sido esenciales para el desarrollo de esta investigación. A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) por la beca otorgada, que ha sido un pilar fundamental en este trabajo. A la SEPI ESIME Zacatenco por su apoyo y entorno académico, y muy en especial a todos quienes conforman la Maestría en Ciencias en Ingeniería de Sistemas por su compromiso y dedicación.

DECLARACIÓN ÉTICA

"Los autores declaran no tener conflictos de interés en relación con el presente artículo. No existen intereses contrapuestos que puedan influir en los resultados o conclusiones presentados."

REFERENCIAS

- [1] Jiménez, C., Méndez, M., Daza, M.C. & Zúñiga, O. (2013). 'Germinación de semillas de ají (*Capsicum sinense*) estimuladas electromagnéticamente', *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 7(1), pp. 46-54.
- [2] O'Brien Jr W D. 2007. Ultrasound-biophysics mechanisms. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 93, 212- 255.
- [3] Zhang J. 2012. Application progress of plant audio control technology in modern agriculture. *Ningxia Journal of Agriculture and Forestry Science and Technology*, 53, 80-81.
- [4] Hou T Z, Luan J Y, Wang J Y, Li M D. 1994. Experimental evidence of a plant meridian system: III. The sound characteristics of *Phylodendron* (*Alocasia*) and effects of acupuncture on those properties. *The American Journal of Chinese Medicine*, 22, 205-214.
- [5] Godbole M. 2013. Does music affect plant growth? [2013- 3-6]. <http://www.buzzle.com/articles/does-music-affect-plant-growth.html>
- [6] Hou T Z, Mooneyham R E. 1999. Applied studies of plant meridian system: I. The effect of agri-wave technology on yield and quality of tomato. *The American Journal of Chinese Medicine*, 27, 1-10.
- [7] Vicent, C.M. 2017. The effect of frequency-specific sound signals on the germination of maize seeds. *BMC Res Notes* 10, 323.
- [8] Suihua Huang, Umair Ashraf, Meiyang Duan, Yong Ren, Pipeng Xing, Zhuosheng Yan, Xiangru Tang. 2024. Ultrasonic seed treatment improved seed germination, growth, and yield of rice by modulating associated physio-biochemical mechanisms. *Ultrasonics Sonochemistry*, Volume 104, 2024.
- [9] Huahai Zhang, Weiyi Mo, Shaoming Liao, Zhongtao Jia, Wenjie Zhang, Shuoxin Zhang, Zhaojun Liu. 2023. Ultrasound promotes germination of aging *Pinus tabuliformis* seeds is associated with altered lipid metabolism. *Ultrasonics Sonochemistry*.
- [10] López-Malo, M., Querol, A., & Guillamon, J. M. (2013, March 20). Metabolomic Comparison of *Saccharomyces cerevisiae* and the Cryotolerant Species *S. bayanus* var. *uvarum* and *S. kudriavzevii* during Wine Fermentation at Low Temperature. (E. J. Louis, Ed.), *PLoS ONE*. Public Library of Science (PLoS). <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0060135>
- [11] Xiong, Y., Shapaval, V., Kohler, A. & From, P.J. (2019). 'A Laboratory-Built Fully Automated Ultrasonication Robot for Filamentous Fungi Homogenization', *SLAS Technology*, 24(6), pp. 583-595. <https://doi.org/10.1177/2472630319861361>
- [12] Yagüe Jiménez Virginia. 2016. Tesis Doctoral Análisis, modelado e igualación no lineal de arrays paramétricos acústicos, Escuela técnica superior de ingenieros en telecomunicación, Madrid, España.

- [13] Pompei F. Joseph. 2002. Sound from ultrasound: the parametric array as an audible sound source, Calhoun.