



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ  
MANUEL FÉLIX LÓPEZ**

**DIRECCIÓN DE CARRERA DE INGENIERÍA AGRÍCOLA**

**TRABAJO DE TITULACIÓN**

**PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO AGRÍCOLA**

**MODALIDAD:**

**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

**TEMA:**

**APLICACIÓN DEL ELECTROMAGNETISMO EN LA LEVADURA  
(*Saccharomyces cerevisiae*) Y SU EFECTO ANTAGÓNICO *in vitro*  
FRENTE A CEPAS DE *Colletotrichum sp.* Y *Rhizopus sp.*  
AISLADAS DE FRUTOS DE PAPAYA (*Carica papaya L.*)**

**AUTORES:**

**JEAN ANTONIO LLORENTE VÉLEZ  
CHRISTOPHER EDUARDO MIENTES MAZAMBA**

**TUTOR:**

**DR. BYRON ZEVALLOS BRAVO, Ph.D.**

**CALCETA, JULIO DEL 2018**

## **DERECHOS DE AUTORÍA**

**Christopher Eduardo Muentes Mazamba y Jean Antonio Llorente Vélez**, declaramos bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de nuestra autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación, y que hemos consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración cedemos los derechos de propiedad intelectual a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, según lo establecido por la ley de Propiedad Intelectual y su reglamento.

---

**Christopher E. Muentes Mazamba**

---

**Jean A. Llorente Vélez**

## CERTIFICACIÓN DEL TUTOR

Byron Zevallos Bravo, certifica haber tutelado la tesis **APLICACIÓN DEL ELECTROMAGNETISMO EN LA LEVADURA (*Saccharomyces cerevisiae*) Y SU EFECTO ANTAGÓNICO *in vitro* FRENTE A CEPAS DE *Colletotrichum sp.* Y *Rhizopus sp.* AISLADAS DE FRUTOS DE PAPAYA (*Carica papaya* L.),** que ha sido desarrollada por **Jean A. Llorente Vélez y Christopher E. Muentes Mazamba** previa a la obtención del título de Ingeniero Agrícola, de acuerdo al **REGLAMENTO PARA ELABORACIÓN DE TESIS DE GRADO DE TERCER NIVEL** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Felix López.

---

**DR. Byron Zevallos Bravo, Ph.D.**

## APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos integrantes del tribunal correspondiente, declaran que han **APROBADO** la tesis **APLICACIÓN DEL ELECTROMAGNETISMO EN LA LEVADURA (*Saccharomyces cerevisiae*) Y SU EFECTO ANTAGÓNICO *in vitro* FRENTE A CEPAS DE *Colletotrichum sp.* Y *Rhizopus sp.* AISLADAS DE FRUTOS DE PAPAYA (*Carica papaya* L.)**, que ha sido propuesta, desarrollada y sustentada por **Jean Antonio Llorente Vélez** y **Christopher Eduardo Muentes Mazamba**, previa a la obtención del título de **Ingeniero Agrícola**, de acuerdo al **REGLAMENTO PARA ELABORACIÓN DE TESIS DE GRADO DE TERCER NIVEL** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

---

Ing. Ángel Cedeño Sacón, Mg.Sc.

**Miembro**

---

Ing. Sergio Vélez Zambrano, Mg.Sc.

**Miembro**

---

Ing. Gonzalo Constante Tubay, Mg.Sc.

**Presidente**

## **AGRADECIMIENTO**

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, que nos dio la oportunidad de crecer como seres humanos a través de una educación superior de calidad y en la cual hemos forjado los conocimientos profesionales día a día.

A nuestros Padres, que con su sacrificio diario permitieron que asistiáramos a la Universidad y conocer el maravilloso mundo del conocimiento, y obtener una formación adecuada y en un futuro poder retribuir su esfuerzo y trabajo;

A nuestras novias, que compartieron cada una de las emociones que nos implicó desarrollar este trabajo de titulación.

A nuestro Tutor, profesor y que de alguna forma se convirtió en figura paterna y nos alentó en los momentos más difíciles, y sirvió como guía durante la ejecución del trabajo de titulación con gran paciencia y sentido común, muchas gracias Ing. Byron Zevallos Bravo.

A nuestra querida Compañera y amiga Ing. Geoconda López, a la cual estimamos mucho, estuvo presente desde el primer hasta el último día, y contribuyó de forma desinteresada con conocimiento, destreza y habilidad en nuestro trabajo de investigación.

A nuestro gran Amigo, profesor algún tiempo atrás y guía de este trabajo de titulación, Ing. Piero Fajardo Navarrete.

A nuestra gran profesora Ing. Sofia Velázquez, gracias por ofrecerse como cotutora para este trabajo y colaborar de manera eficiente y armoniosa, y

A todas las personas que influyeron directa e indirectamente en la realización de este trabajo, Muchas gracias.

---

**Christopher E. Muentes Mazamba**

---

**Jean A. Llorente Vélez**

## **DEDICATORIA**

Este trabajo va dedicado en primer lugar a mis Padres, a quienes le debo la vida y la gracia de hoy poder gozar del maravilloso mundo del aprendizaje y conocimiento. Han sido parte fundamental de mi desarrollo como persona útil en la sociedad, con valores formados y enfocados a servir al desarrollo del país. A mis hermanos, que supieron alentarme a empezar mi carrera, a mi novia a la cual amo mucho, a mis amigos; y a todas aquellas personas que no han tenido la oportunidad de acceder a una educación de calidad, trabajo remunerado acorde a las exigencias del mismo, y a una atención de salud digna de una persona.

---

**Muentes Mazamba Christopher E.**

## **DEDICATORIA**

Este trabajo investigativo lo dedico primeramente a Dios, por ser el principal eje en mi vida y quien me impulsa a ser cada día mejor.

A mi madre Ana Vélez y a mi padre Wanner Mera, quienes me han guiado por el camino del bien y me inculcaron desde pequeño el sentido de la responsabilidad y el esfuerzo para alcanzar las metas propuestas.

A mis abuelos Roque Vélez y Gladis Solórzano, por sus sabios consejos en los momentos más importantes y necesarios de mi vida, me han servido para seguir luchando cada día.

A mi novia Aleida Pazmiño, mi fiel compañera, testigo del esfuerzo en todo este tiempo de estudio y quien ha sido mi apoyo incondicional para lograr este objetivo.

A todos mis amigos y compañeros que de una u otra manera han contribuido para la culminación de la carrera y de este proyecto investigativo.

---

**Llorente Vélez Jean A.**

## CONTENIDO GENERAL

1.1 Planteamiento y Formulación del Problema .....	13
1.2 Justificación .....	14
1.3 Objetivos.....	15
1.3.1 Objetivo general .....	15
1.3.2 Objetivos específicos.....	15
1.4 Hipótesis.....	15
Capítulo II. Marco Teórico .....	16
2.1 Magnetismo y campo magnético .....	16
2.2 Historia del magnetismo .....	16
2.3 Tipos de imanes magnéticos y sus partes.....	17
2.4 Campo magnético terrestre y los sistemas vivos.....	18
2.5 Aplicaciones del magnetismo .....	19
2.6 Aplicaciones del magnetismo en la agricultura.....	20
2.6.1 Efecto del campo magnético sobre las semillas y la germinación.....	20
2.7 Electromagnetismo .....	23
2.8 Como actúa el campo magnético en una bobina de helmholtz .....	23
2.9 Perdidas poscosecha de frutas .....	24
2.9.1 Característica en poscosecha del fruto de papaya.....	25
2.9.2 Métodos para reducir las perdidas de frutos en poscosecha.....	26
2.10 Levadura antagónica frente a hongos patogenos <i>in vitro</i> .....	26
2.11 Microorganismos antagónicos frente a hongos patogenos <i>in situ</i> .....	28
2.12 Aplicación del electromagnetismo a la levadura ( <i>S. cereviseae</i> ).....	29
2.13 Concentración y crecimiento de levaduras <i>in vitro</i> .....	30
2.13.1 Transmitancia y observancia.....	31
2.13.2 Fases de crecimiento .....	32
2.14 Actividad antagonistas en cultivo dual.....	33
2.15 Enfermedades en frutos de papaya.....	34
2.15.1 Antracnosis.....	34
2.15.2 Pudrición blanda.....	35
2.15.3 Determinación de los agentes causales .....	36
2.15.4 Métodos y técnicas para diagnosticar una enfermedad fungosa.....	37
2.15.5 Clave morfológica para la identificación de <i>colletotrichum SP.</i> .....	37
2.15.6 Clave morfológica para la identificación de <i>rhizopus SP.</i> .....	38
Capitulo III. Diseño metodológico.....	39
3.1 Ubicación.....	39

3.2 Duración del trabajo.....	39
3.3 Factores en estudio .....	39
3.4 Niveles de los factores.....	39
3.5 Material experimental .....	39
3.5.1 Descripción de la bobina de helmholtz .....	40
3.6 Tratamientos.....	40
3.7 Diseño experimental .....	40
3.8 Característica de las unidades experimentales .....	41
3.9 Manejo del experimento .....	42
Purificación de la levadura .....	42
Identificación morfológica de <i>Colletotrichum sp.</i> , y <i>Rhizopus sp.</i> .....	42
Aplicación del electromagnetismo a la levadura .....	43
Medio de cultivo utilizado para evaluar la producción de biomasa.....	44
Medio de cultivo utilizado para evaluar la actividad antagónica .....	44
3.10 Variables para evaluar los tratamientos.....	45
Capítulo IV. Resultados y Discusión .....	49
4.1 Evaluación de biomasa de la levadura s. <i>Cerevisiae</i> .....	49
4.2 Actividad antagonista de la levadura s. <i>Cerevisiae</i> .....	57
4.3 Análisis de correlación para las variables en laboratorio .....	61
4.4 Discusión .....	64
Capítulo V. Conclusiones y Recomendaciones.....	66
Bibliografía .....	67
Anexos .....	72

## CONTENIDO DE CUADROS Y FIGURAS

### CUADROS

Cuadro 3.1 Tratamiento - - - - -	41
Cuadro 3.2 Esquema de análisis de varianza- - - - -	42
Cuadro 3.3 Unidades experimentales para la evaluación de la Producción de biomasa - - - - -	42
Cuadro 3.4 Unidades experimentales para evaluar la actividad antagonica de la levadura vs patógenos - - - - -	42
Cuadro 4.1 Producción de biomasa de la levadura <i>S. cerevisiae</i> , durante las primeras 12 horas de muestreo. Datos espectrofotométricos correspondientes a la transmitancia - - - - -	52
Cuadro 4.2 Producción de biomasa de la levadura <i>S. cerevisiae</i> , en la hora 24, 48 y 72 de muestreo - - - - -	54
Cuadro 4.3 Actividad antagonista de la levadura <i>S. cerevisiae</i> versus Fitopatógenos <i>Colletotrichum spp.</i> , y <i>Rhizopus spp.</i> , durante siete días. - - - - -	62
Cuadro 4.4 Matriz de correlación de las variables analizadas estadísticamente en el trabajo de laboratorio - - - - -	64

### FIGURAS

Grafica 2.1 Ecuación para calcular el campo magnético - - - - -	23
Grafica 2.2 Diseño de bobina de Helmholtz - - - - -	24
Grafica 2.3 Curva de crecimiento típica - - - - -	34
Grafica 2.4 Ecuacion para calcular el porcentaje de inhibicion de crecimiento - - - - -	35
Grafica 2.5 Frutos de papaya con síntomas de antracnosis causadas por el hongo <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> - - - - -	36
Grafica 2.6 Frutos de papaya con síntomas de pudrición blanda causada por el hongo <i>Rhizopus stolonifer</i> - - - - -	37
Grafica 2.7 Clave morfológica para identificar a <i>Colletotrichum sp.</i> -	39
Grafica 2.8 Clave morfológica para identificar a <i>Rhizopus sp.</i> -	39
Grafica 3.1 Modelo de la bobina de Helmholtz, con su respectivo transformador - - - - -	41
Grafica 4.1. Producción de biomasa en los tratamientos uno, dos,	

tres y cinco -----	55
Grafica 4.2. Producción de biomasa para los tratamientos cuatro y nueve -----	56
Grafica 4.3 Producción de biomasa para los tratamientos seis, siete y ocho -----	57
Grafica 4.4. Producción de biomasa para el testigo -----	58

## RESUMEN

Se determinó el efecto de diferentes intensidades y tiempos de exposición de *S. cerevisiae* al electromagnetismo y su efecto en la actividad antagonista *in vitro* frente a cepas de *Colletotrichum sp.*, y *Rhizopus sp.*, aisladas de frutos de papaya (*Carica papaya* L.). Se evaluaron tres intensidades y tres tiempos de exposición al electromagnetismo + un testigo. Las variables evaluadas fueron la influencia de los factores en la producción de biomasa y su efecto en la actividad antagonista frente a los fitopatógenos. Los datos fueron analizados estadísticamente con un diseño completamente al azar con arreglo factorial (IxT+1) con 10 tratamientos y 3 repeticiones, donde I corresponde a intensidad de campo magnético y T a tiempo de exposición. Los resultados determinaron que la aplicación de 45 gauss de intensidad y 5 minutos de exposición de *S. cerevisiae* al electromagnetismo ejercen efecto en la biomasa *in vitro*, en cambio, 30 gauss de intensidad y 10 minutos de exposición mejora la actividad antagonista *in vitro* frente a *Colletotrichum sp.* y *Rhizopus sp.*

**Palabras claves:** Intensidad magnética, tiempo de exposición, levadura antagonista

## ABSTRAC

He was to determine the effect of different intensities and exposure times of *S. cerevisiae* to electromagnetism and its effect on *in vitro* antagonistic activity against strains of *Colletotrichum sp.*, and *Rhizopus sp.*, isolated from papaya fruits (*Carica papaya* L.). Three intensities and three times of exposure to electromagnetism and witness. The influence of the factors on the production of biomass and how it exerted an effect on the antagonist activity of yeast against pathogens was evaluated. This date analyzes statistically evaluated with a completely random design with factorial arrangement (IxT + 1) with 10 treatments and 3 repetitions, where I correspond to magnetic field intensity and T to exposure time. The application of 45 gauss of intensity and 5 minutes of exposure of *S. cerevisiae* to electromagnetism exerted an effect on *in vitro* biomass, whereas 30 gauss of intensity and 10 minutes of exposure markedly activity antagonist *in vitro* against *Colletotrichum sp.*, and *Rhizopus sp.*

**Key word:** Magnetic intensity, exposure time, antagonistic yeast

# CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

## 1.1 PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Los frutos de papaya presentan diversos problemas fitosanitarios, se destacan los ataques de plagas, enfermedades virales y fungosas. Dentro de las enfermedades se encuentran la antracnosis y pudrición blanda que son causadas principalmente por *Colletotrichum gloeosporioides* y *Rhizopus stolonifer*, representando una de las limitantes fitopatológica de los frutos de papaya en poscosecha a nivel mundial (Rojo, Garcia y Sañudo, 2017).

El control químico con fungicidas como procloraz e imazalil que controlan a *C. gloeosporioides*, *C.acutatum* y *Verticilium dahliae* representan una opción para el control de enfermedades fungosas en poscosecha (Zavala, Tun y Ruiz, 2005). Sin embargo, el uso indiscriminado y creciente de plaguicidas empleados en los cultivos y frutos, ha ocasionado daños severos a la salud humana y al ambiente. El efecto directo a la salud es debido a los efectos agudos vinculados a una exposición de corto tiempo con efectos sistémicos o localizados, y crónicos por aquellas manifestaciones o patologías vinculadas a la exposición a dosis bajas de plaguicidas (Rodriguez, Suarez y Palacio, 2014).

Alvarez, Amado y Quijano (2014) mencionan que, una de las alternativas para el control de enfermedades poscosecha es el control biológico. La levadura (*S. cerevisiae*) es considerada como el modelo eucariota unicelular por excelencia debido a sus características morfológicas, genéticas y metabólicas, posee el potencial para el control de enfermedades fitosanitarias, presenta capacidad de sintetizar compuestos antibióticos, habilidad de competición por espacio y nutrientes, además de poseer elicitores en la pared celular. Esto ha conllevado a utilizar la levadura para explorar los efectos ocasionados por campos electromagnéticos (CEM).

Por los antecedentes mencionados, los autores de la presente investigación se plantean la siguiente pregunta científica. ¿Cómo contribuirá la electromagnetización de la levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) en el manejo poscosecha de *Colletotrichum sp.*, y *Rhizopus sp.*?

## 1.2 JUSTIFICACIÓN

Para el año 2012, la papaya era la tercera fruta tropical más producida con 11,12 millones de toneladas, lo que equivale al 15,36% del total de la producción de frutas tropicales. Por tal motivo se ha convertido en fuente de ingreso para miles de hogares y en fuente de divisas para países de Asia y América Latina (Evans y Ballen, 2012).

Las prácticas agrícolas empleadas están direccionadas a obtener mayor volumen de producción con un costo de inversión bajo. Siendo el sueño de cualquier persona que va a incursionar en un nuevo negocio, pero muchas veces utilizan las mismas prácticas o metodologías que por tanto tiempo vienen dando malos resultados.

La mayoría de las plagas y organismos fitopatógenos tienen antagonistas biológicos o enemigos naturales que se pueden emplear como estrategia de lucha en un programa de control biológico. Una de las motivaciones principales para el desarrollo de sistemas de control biológico es la reducción de la utilización de plaguicidas químicos de síntesis (Rubio y Fereres, 2005)

Anaya, Barbara y Padron (2012) mencionan que se conoce que todos los seres vivos son susceptibles a los Campos Electromagnéticos, esta sensibilidad podría explicarse por las minúsculas cantidades de magnetita que se han descubierto en algunas partes del cuerpo humano, el cual actúa como un imán. Todos los cambios químicos son eléctricos, incluyendo la división celular, la cual resulta afectada por campos magnéticos externos.

En este trabajo se plantea incursionar en la utilización de campos electromagnéticos aplicados a la levadura e investigar su efecto antagónico en enfermedades poscosecha en frutos de papaya, una tecnología que viene siendo motivo de estudio en varios países.

## 1.3 OBJETIVOS

### 1.3.1 OBJETIVO GENERAL

- ✓ Determinar el efecto de diferentes intensidades magnéticas y tiempos de exposición en la levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) y su efecto antagónico *in vitro* frente a cepas de *Colletotrichum sp.*, y *Rhizopus sp.*, aisladas de frutos de papaya (*Carica Papaya L.*)

### 1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Relacionar el incremento de la biomasa *in vitro* de la levadura *S. cerevisiae* con la aplicación de diferentes intensidades electromagnéticas.
- ✓ Relacionar el incremento de la biomasa *in vitro* de la levadura *S. cerevisiae* con el sometimiento a diferentes tiempos de exposición electromagnética.
- ✓ Demostrar el efecto *in vitro* de diferentes intensidades electromagnéticas en la levadura *S. cerevisiae* en lo referente a su actividad antagonista frente a *Colletotrichum sp.*; y *Rhizopus sp.*
- ✓ Demostrar el efecto *in vitro* de diferentes tiempos de exposición electromagnéticos de la levadura *S. cerevisiae* en lo referente a su actividad antagonista frente a *Colletotrichum sp.*, y *Rhizopus sp.*

## 1.4 HIPÓTESIS

La exposición de la levadura (*S. cerevisiae*) a diferentes intensidades y tiempos de exposición electromagnética mejorara su actividad antagonista *in vitro* frente a *Colletotrichum sp.*; y *Rhizopus sp.*

## **CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO**

### **2.1 MAGNETISMO Y CAMPO MAGNÉTICO**

Salas (2012) define el magnetismo como el fenómeno mediante el cual los materiales ejercen fuerzas atractivas y repulsivas sobre otros materiales. Vélez (2008) cita que, en la naturaleza existe un mineral llamado magnetita o piedra imán con la propiedad de atraer el hierro, níquel, cobalto y ciertas aleaciones de estos metales. Los imanes son materiales capaces de producir un campo magnético exterior y atraer los materiales antes mencionados. La región del espacio donde se pone de manifiesto la acción de un imán se llama campo magnético.

El campo se representa mediante líneas, que son unas líneas imaginarias, cerradas, que van del polo norte al polo sur, por fuera del imán y en sentido contrario en el interior de este (Salas, 2012).

Una corriente eléctrica genera un campo magnético a su alrededor, en el interior de la materia existen pequeñas corrientes cerradas debidas al movimiento de los electrones que contienen los átomos, cada una de ellas origina un microscópico imán o dipolo, cuando estos pequeños imanes están orientados en todas las direcciones sus efectos se anulan mutuamente y el material no presenta propiedades magnéticas, en cambio si todos los imanes se alinean actúan como un único imán y en ese caso decimos que la sustancia se ha magnetizado o el material se ha magnetizado, imantar un material es como ordenar sus imanes atómicos (Velez, 2008).

### **2.2 HISTORIA DEL MAGNETISMO**

Fueron probablemente los griegos quienes primero reflexionaron sobre las maravillosas propiedades de la magnetita, un mineral de hierro que incluso en estado natural posee una profunda atracción por el hierro. De hecho, Tales de Mileto alrededor del 600 a.C. ya habla del imán en forma detallada. Esto no excluye que éste ya se conociese en el resto del mundo (Tagueña y Martina, 2017).

Diversas leyendas envuelven los orígenes del descubrimiento del magnetismo. De acuerdo con una de ellas, el pastor Magnes (de allí magnetismo) se quedó

pegado a la tierra, ya que los clavos de sus zapatos fueron atraídos por la magnetita. Según otra versión, el nombre magnetismo viene de Magnesia, región de Grecia donde abunda el mineral (Tagueña y Martina, 2017).

Los primeros usos de las piedras magnéticas se atribuyen a los chinos, precisamente al fundador del Imperio Chino Hoang-Ti el cual utilizó una brújula con una piedra magnética, la cual tenía una piedra tallada como una escultura de una mujer y está en los viajes que realizaba el emperador siempre apuntaba hacia el sur (Campanioni, 2013)

En el año 1544 nace William Gilbert de Colchester el verdadero fundador de la ciencia del magnetismo. Fue de los primeros "filósofos naturales" que hizo hincapié en el método experimental y que lo utilizó para ahondar en el conocimiento del magnetismo. En los seis libros que publicó y en el que consta De Magnete (una de sus obras más conocidas y en la que habla sobre el magnetismo), Gilbert describe múltiples fenómenos, entre los cuales destaca al magnetismo cómo la atracción entre el hierro y la magnetita imantada y puede ser aumentada "armando" la magnetita, esto es, poniendo casquetes de hierro en las juntas de la piedra (Tagueña y Martina, 2017).

William Gilbert descubrió que la tierra es un imán gigante con polos magnéticos próximos a los polos geográficos. En el siglo XIX gracias a Oersted se conoce la relación entre la electricidad y magnetismo, ya que comprobó que una corriente eléctrica influye en la orientación de la aguja de una brújula (Salas, 2012)

Ampere y otros, elaboraron la teoría de que la fuente fundamental del magnetismo es un polo magnético y no una corriente eléctrica. Faraday y Henry demostraron mediante experimentos independientes que un campo magnético variable produce un campo eléctrico. Y Maxwell demostró que un campo eléctrico variable produce un campo magnético. Hoy en día es conocido que electricidad y magnetismo no se pueden separar (Carbonell, Flores, Martínez, Maqueda y Amaya, 2011)

## **2.3 TIPOS DE IMANES MAGNÉTICOS Y SUS PARTES**

Álvarez y Figueroa (2012) manifiestan que los imanes son toda sustancia que poseen o ha adquirido la propiedad de atraer el hierro. Existen 3 tipos de imanes:

- Imanes naturales: La magnetita es un potente imán natural, tiene la propiedad de atraer todas las sustancias magnéticas. Su característica de atraer trozos de hierro es natural. Está compuesta por óxido de hierro. Las sustancias magnéticas son aquellas que son atraídas por la magnetita (Álvarez y Figueroa, 2012)
- Imanes artificiales permanentes: Son las sustancias magnéticas que, al frotarlas con la magnetita, se convierten en imanes, y conservan durante mucho tiempo su propiedad de atracción.
- Imanes artificiales temporales: Aquellos que producen un campo magnético sólo cuando circula por ellos una corriente eléctrica. Un ejemplo es el electroimán.

Las partes que conforman un imán son:

- Eje Magnético: Eje magnético de la barra de la línea que une los dos polos.
- Línea neutra: Línea de la superficie de la barra que separa las zonas polarizadas.
- Polos: Son los dos extremos del imán donde las fuerzas de atracción son más intensas. Son el polo norte y el polo sur (Álvarez y Figueroa, 2012).

## **2.4 CAMPO MAGNÉTICO TERRESTRE Y LOS SISTEMAS VIVOS**

Según Georgia State University (USG, 2009), El planeta Tierra tiene un campo magnético que varía en el rango de 0,3 a 0,6 Gauss, campo magnético permanente pero que no es estable y comprobado a partir de estudios en sedimentos oceánicos distribuidos por todo el planeta en los cuales se revela una alternancia de períodos de alta y baja intensidad.

USG (2009) menciona que un estudio comprobó que hace 780,000 años hubo una fuerte caída de la intensidad del campo magnético, inversión llamada Brunhes – Matuyama, y que revela que el sur magnético se correspondía con el sur geográfico, diferente a como lo es ahora, donde el sur magnético se encuentra en el norte geográfico

En el momento de suceder los cambios en la polaridad e intensidad magnética del planeta, se correlaciona con la extinción de grandes familias de radiolarios, protozoos que habitaron el sedimento de los océanos, y de los cuales solo se

tiene como variable de extinción la variación del campo magnético terrestre. Además, hay bacterias magnéticas y algunos organismos celulares que contienen partículas magnéticas suficientes para orientar a estos seres sobre las líneas del campo geomagnético (Sarta y Bobadilla, 2004).

Continuando con el mismo autor menciona que en las abejas, moscas, mariposas, tortugas, tiburones, salmones, atunes, ballenas, delfines y palomas, entre otras especies animales, se han detectado formas de orientación basados en las líneas geomagnéticas del planeta. Ejemplo de ello es la abeja *Apis mellifera*, quien posee magnetita en su abdomen que dadas las propiedades ferromagnéticas permite explicar su magnetopercepción, caso similar es el de la hormiga *Pachycondyla marginata* en la que se ha confirmado la presencia de material magnético en su cuerpo y el de la *Solepnopsis invicta* en el que se observó una sensibilidad magnética relacionada con la búsqueda de comida.

En algunos vertebrados se ha determinado que pueden orientarse en largos viajes empleando las líneas del campo magnético terrestre debido a la presencia de células magnetoreceptoras ubicadas en la nariz (Sarta y Bobadilla, 2004).

## **2.5 APLICACIONES DEL MAGNETISMO**

Hoy en día el magnetismo nos acompaña insistente y discretamente desde el cierre de la puerta de nuestro frigorífico hasta el deporte, la medicina, el coche, las comunicaciones, etc., pasando, casi siempre, por la tarjeta de crédito, también magnética (Barandiaran, 2003)

De acuerdo al Centro Atómico Bariloche (CAB, 2012) muchas de las tecnologías que utilizamos en nuestra vida diaria basan parte de su funcionamiento en fenómenos magnéticos. Desde la brújula que ayudó a los navegantes a orientarse en medio del mar, hasta los discos rígidos de las computadoras que almacenan la información en una delgadísima película magnética, pasando por las tarjetas de crédito que guardan nuestros datos en la banda magnética de la parte posterior.

Pérez (2002) menciona que un gran número de médicos y sanadores utilizaron los imanes para curar diferentes problemas médicos a lo largo de la historia.

Hoy en día la ciencia médica utiliza el magnetismo más que nunca, por ejemplo:

- El magneto encefalografía (MEG) se utiliza para medir la actividad cerebral.
- La terapia de choque para volver a iniciar corazones.
- El uso de imanes en aplicaciones industriales y mecánicas también es muy común. Los imanes son la fuerza motriz básica para todos los motores eléctricos y generadores eléctricos.
- Las investigaciones sobre la aplicación del magnetismo en la Agricultura han tenido dos líneas fundamentales, el tratamiento del agua y el tratamiento del tejido biológico (Pérez, 2002)
- Biotecnologías: se emplean acondicionadores magnéticos exteriores acoplados a biorreactores con enzimas inmovilizadas. Por ejemplo: inmovilización de la glucoamilasa del *Aspergillus niger* en partículas magnéticas de poliestireno, para producir la hidrólisis de la maltosa o inmovilización de *S. cerevisiae* para mejorar la producción de etanol a partir de glucosa (Anaya *et al.*, 2012).

## **2.6 APLICACIONES DEL MAGNETISMO EN LA AGRICULTURA**

El agua tratada magnéticamente ha sido tema de investigaciones no solo para conocer su acción estimulante en las plantas, sino para estudiar cómo influye en el régimen hídrico suelo-planta-atmósfera (Diaz, 2001 citado por Campanioni, 2013).

En el caso del tratamiento de material biológico, son las semillas las más usadas por su fácil manipulación. El interior de las semillas está formado por un tejido de parénquima de reserva cuya función es almacenar nutrientes para la plántula. El embrión conforma lo que será el futuro organismo, dentro de la propia semilla, la cual, como sistema vivo, posee las propiedades necesarias para la interacción con campos magnéticos, de modo análogo a las propiedades de interacción de este agente físico con cualquier órgano de la planta (Martinez, 2008)

### **2.6.1 EFECTO DEL CAMPO MAGNÉTICO SOBRE LAS SEMILLAS Y LA GERMINACIÓN**

En una perspectiva agrícola, desde hace tiempo se han llevado a cabo investigaciones con la finalidad de determinar si un campo magnético modifica

la velocidad de germinación y el desarrollo de las plantas. Los primeros estudios de aplicación de campos magnéticos a especies vegetales comenzaron con Savostin (1930), que observó un incremento en la tasa de crecimiento de las plántulas procedentes de semillas de trigo tratadas con campos magnéticos estacionarios (Carbonell, Martínez y Flórez, 2013).

Continuando con Carbonell *et al.* (2011) citan que posteriormente, Pittman (1963) expuso semillas de cebada, lino, avena y centeno, durante 48 horas a un campo magnético estacionario de intensidad 254 militesla (mT). Las semillas se orientaron unas con el eje longitudinal paralelo a las líneas de fuerza del campo magnético y otras perpendicularmente a ellas. Concluyó que la presencia del campo magnético y la orientación del eje longitudinal de las semillas respecto a las líneas de fuerza de dicho campo aumentaban la velocidad de germinación de las semillas.

Torrez, Diaz y Cabal, (2008) menciona que muchas son las investigaciones dedicadas a mencionar los efectos producidos por los campos magnéticos en distintas especies vegetales donde se destacan los trabajos desarrollados por Mericle *et al.* (1964) con cebada; Pittman (1965) con judías y maíz; Shultz *et al.* (1966) con semillas de cebada, maíz, pepino, veza y rábano; Chao y Walker (1967) estudiaron la germinación de semillas de manzana, albaricoque y melocotón; Chauvasv (1967) comprobó que cuando las semillas de trigo y maíz se orientaban en la dirección norte-sur del campo geomagnético las plántulas mejoraban su crecimiento.

Lebedev (1977) citado por Torrez *et al.* (2008) expuso la cebada durante tres semanas a campos magnéticos estacionarios de 10 nanotesla (nT) y comprobó un decrecimiento de hasta un 12 % del peso fresco de los primeros brotes y de un 35 % de las raíces, así como de 19 y 48 % del peso seco respectivamente; y, Gusta *et al.* (1978) citado por Torres *et al.* (2008) trataron semillas de trigo, avena y cebada a cinco intensidades de campo magnético de 0, 25, 50, 100 y 150 mT, las semillas de trigo tratadas con 150 mT mostraron mayor velocidad de germinación, comparado con el control. Los estudios continuaron durante las siguientes décadas, poniendo en evidencia el efecto positivo de los campos magnéticos estacionarios en la germinación y crecimiento de plantas.

Pietruszewski (1993) citado por Hincapie, Torrez y Bueno (2010) trabajo con

campos magnéticos de pequeña intensidad comprendidos entre 10 y 30 mT, estudió el efecto en las propiedades biofísicas en cosechas de trigo. Phirke *et al.* (1996) citado por Hincapie *et al.* (2010) estudiaron el efecto de la intensidad del campo magnético y tiempo de exposición en la producción de granos de soja, algodón y trigo. Se utilizó un rango de intensidades de campo magnético de 72-128 mT y tiempos de exposición comprendidos entre 13 y 27 minutos. Las dosis óptimas que permitieron obtener las máximas cosechas respecto al control fueron para la soja y el algodón, con aumentos en la producción del 14 al 46%.

Belyavskaya (2004) citado por Torrez *et al.* (2008) comprobó que las semillas de trigo, sometidas a 30 mT durante 15 minutos, presentaban una formación del número de raíces un 25 % superior al control. Torrez *et al.* (2008) realizaron un pretratamiento magnético a semillas de arroz y tomate con intensidades de campo magnético estacionario de 5 y 10 mT durante diferentes tiempos de exposición: 1, 10, 20, 60 minutos, 24 y 48 horas. Para el arroz, los tratamientos en los que el número de semillas germinadas era significativamente mayor que el control, fueron los que tenían tiempos de exposición de 1 minuto y 48 horas para ambas intensidades de campo magnético. En cuanto a las semillas de tomate, hubo significación en los tratamientos de 10 minutos y 48 horas para ambas intensidades.

En el Dpto. de Física y Mecánica de Ingeniería Agroforestal de la Universidad Politécnica de Madrid, el grupo de investigación ha realizado estudios previos en esta línea con semillas de cereales (trigo, avena, cebada, maíz, arroz), leguminosas (lenteja, guisante), pratenses (alfalfa, poa, festuca, lolium, agrostis), medicinales (salvia, caléndula) y otras como girasol y cardo. Todos ellos mostraron que el tratamiento de semillas con campos magnéticos tiene un efecto positivo sobre su germinación y desarrollo (Carbonell *et al.*, 2011).

En uno de los trabajos con semillas de guisante (*Pisum sativum L.*) fueron sometidos a campos magnéticos estacionarios de 125 mT y 250 mT y estudiaron los efectos en los estados iniciales de crecimiento. La longitud y peso de las plántulas a las que se había aplicado dicho tratamiento magnético fueron superiores a los de control. Los mejores resultados se obtuvieron para exposición continua. A pesar de los resultados satisfactorios obtenidos, el elevado número de factores que intervienen en la interacción del campo magnético y el ser vivo

complica el establecimiento de mecanismos de acción (Carbonell *et al.*, 2011).

## 2.7 ELECTROMAGNETISMO

Los imanes producen un campo magnético considerable, pero para ciertas aplicaciones éste resulta todavía muy débil. Para conseguir campos más intensos se utilizan bobinas fabricadas con conductores eléctricos, que al ser recorridos por una corriente eléctrica desarrollan campos magnéticos cuya intensidad depende fundamentalmente de la intensidad de la corriente y del número de espiras de la bobina (Alcalde, 2011)

## 2.8 COMO ACTÚA EL CAMPO MAGNÉTICO EN UNA BOBINA DE HELMHOLTZ

El físico Jean Biot dedujo en 1820 una ecuación que permite calcular el campo magnético ( $B$ ) creado por un circuito de forma cualesquiera recorridos por una corriente de intensidad ( $I$ ) (Reitz *et al.*, 1996)

$$B = \frac{\mu_0 i}{4 \pi} \int \frac{u_t \times u_r}{r^2} \delta l$$

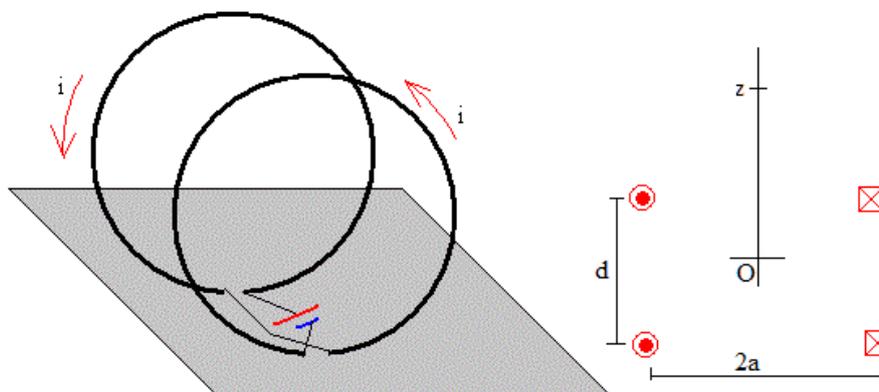
**Grafica 2.1** Ecuación para calcular el campo magnético

El mismo autor prosigue y destaca que donde  $B$  es el vector campo magnético existente en un punto ( $P$ ) del espacio, ( $u_t$ ) es un vector unitario cuya dirección es tangente al circuito y que nos indica el sentido de la corriente en la posición donde se encuentra el elemento ( $dl$ ). ( $u_r$ ) es un vector unitario que señala la posición del punto  $P$  respecto del elemento de corriente,  $\mu_0/4\pi = 10^{-7}$  en el Sistema Internacional de Unidades.

Para finalizar Reitz *et al.* (1996) citan que las bobinas de Helmholtz desempeñan un papel importante en la investigación científica, en la que se utilizan frecuentemente para producir un campo magnético en un punto del eje cercano al punto medio entre las bobinas.

El campo magnético producido por dos bobinas iguales (Bobina de Helmholtz) que posee un radio ( $a$ ) de ( $N$ ) número de vueltas de la espiras apretadas y recorridas por una corriente eléctrica de intensidad  $I$  y separadas una distancia

(d), se sitúa el origen en el punto medio (O) entre las dos bobinas y se calcula el campo magnético en un punto (z) del eje común de las dos bobinas (Franco, 2016).



**Grafica 2.2** Diseño de bobina de Helmholtz

Se representa el campo magnético de la siguiente manera, campo magnético es igual a:

$$B = \frac{\mu_0 N I}{2 a}$$

Donde:

$B$ = Campo magnético, y su unidad internacional es Tesla

$\mu_0$ = Permeabilidad al vacío, y su valor es constante ( $4\pi \times 10^{-7}$ )

$N$ = número de vueltas de la espira, expresado en valores enteros

$I$ = intensidad de corriente, y su respectiva unidad de medida es Amperio

$a$ = distancia entre las dos bobinas, expresada en metros (Franco, 2016)

## 2.9 PERDIDAS POSCOSECHA DE FRUTAS

Quinto (2001) menciona que muchas de las pérdidas poscosecha tienen su origen en precosecha debido a la inadecuada fertilización, falta de aplicación de fungicidas y otros factores de manejo de la plantación, principalmente la presencia de plagas y enfermedades. Muchas de las infecciones se inician en la plantación, pero se manifiestan durante el almacenamiento; las heridas ocasionadas en el proceso del corte, son vía de inoculación para los microorganismos que, después de un periodo de incubación, originan la presencia de enfermedades que en los frutos generan pudriciones, ablandamientos, cambios de color o fermentaciones que modifican su sabor

normal

La transportación interna en la plantación, el inadecuado acopio de la fruta y el transporte a granel contribuyen considerablemente con los daños, a los que se suman los ocasionados por plagas de insectos (30%), los derivados de las operaciones de cosecha (40%) y los relativos al transporte del campo a la Central de Abasto (30%) (Quinto, 2001)

### **2.9.1 CARACTERÍSTICA EN POSCOSECHA DEL FRUTO DE PAPAYA**

Es un fruto climatérico, cuya maduración ocurre rápidamente poco después de la cosecha, caracterizándose por ser una fruta muy perecedera en poscosecha. Se ha declarado que las pérdidas poscosecha de la papaya pueden alcanzar el 30%. Debido a esta característica, el control de la maduración es importante para el aumento de la vida útil poscosecha, para el mercado interno y las exportaciones (Almeida, Reis y Santos, 2011).

Durante la maduración, en el cual difícilmente puede diferenciarse el punto de cuando termina la maduración e inicia la senescencia, los frutos presentan una serie de cambios bioquímicos, fisiológicos y estructurales. Este complejo proceso da como resultado cambios simultáneos en: color a través de la alteración de clorofila y carotenoides, principalmente; textura debido a la alteración de la turgencia celular y por los cambios en la pared celular; sabor debido a una modificación en los niveles de azúcares, ácidos y compuestos volátiles que influyen en la calidad nutricional y el aroma del fruto; aumento en la susceptibilidad a patógenos oportunistas; y una modificación de los patrones fisiológicos como son la respiración y la producción de etileno (Sañudo y Báez, 2011).

El autor citado anteriormente prosigue y menciona que el ablandamiento en papaya, es el factor de calidad más difícil de controlar durante la poscosecha y es la mayor limitación para el manejo durante la distribución y el mercadeo. Este ablandamiento progresa del endocarpio (interior) hacia la epidermis (exterior) y del ápice hacia el pedúnculo del fruto de una manera no uniforme.

## 2.9.2 MÉTODOS UTILIZADOS PARA REDUCIR LAS PERDIDAS DE FRUTOS DE PAPAYA EN POSCOSECHA

Almeida *et al.* (2011) cita que hay varios procedimientos para prolongar la vida útil de las frutas tropicales:

- Refrigeración. El uso de bajas temperaturas, es el método más económico para el almacenamiento prolongado de frutas y verduras frescas
- Atmosferas controladas o modificadas. El uso de atmosfera modificada se ha generalizado debido que es un proceso sencillo para la conservación. Por lo general se emplean películas de plástico que limitan el intercambio gaseoso y la pérdida de agua, disminuyendo el metabolismo del producto y prolongando su vida útil.
- El uso de película de diferentes naturalezas.

## 2.10 LEVADURA ANTAGÓNICA FRENTE A HONGOS PATOGENOS *in vitro*

Según Hernandez y Bautista (2007), los microorganismos antagonistas (bacterias, levaduras y hongos) tienen la capacidad de ejercer un efecto de control biológico sobre diferentes patógenos de interés y se han empleado para controlar diversas enfermedades en frutos y vegetales.

En los últimos años, el control biológico ha sido objeto de estudio y ha demostrado ser efectivo en el control de enfermedades postcosecha; la superficie del fruto o fructoplano es el mejor lugar para el aislamiento de microorganismos antagonistas, los cuales pueden suprimir el desarrollo de la enfermedad en el fruto. También se ha reportado que la superficie de las hojas (filoplano) constituye otra fuente para el aislamiento de antagonistas (Hernández y Bautista, 2007).

Se estima que en los países en vía de desarrollo las pérdidas de calidad de productos en el período de poscosecha, incluyendo las enfermedades fúngicas, son de alrededor de 50%. Dos patógenos ampliamente distribuidos en plantas son *Alternaria sp.* y *Colletotrichum sp.* Estos patógenos están entre los más importantes en la etapa poscosecha pues atacan a las frutas tropicales y subtropicales causando problemas de podredumbre (Carrillo, Garcia y Rangel,

2005).

En el trabajo de Cifuentes *et al.* (2016) se evaluó el efecto antagonista de 12 cepas de bacterias y levaduras contra *Alternaria sp.* y *Colletotrichum sp.* fue estudiado *in vitro* para determinar su uso como posibles agentes de control biológico. Se utilizó el método de confrontación directa en medio de cultivo PDA mediante incubación a 25°C durante 10 días. Todas las cepas de posibles antagonistas presentaron porcentaje de inhibición para los dos hongos patógenos en un rango de 20-58% para las bacterias y de 32-56% para las levaduras.

La aplicabilidad de *S. cerevisiae* como agente de biocontrol del *Fusarium oxysporum* fue investigado en 2008 por Moustafa y Mohamed donde el objetivo de estudio fue suprimir el hongo patógeno *F. oxysporum* transmitido por el suelo mediante el uso de *S. cerevisiae* como agente de control biológico. Se estudió a una concentración de 5 g/ L el rango de germinación de las semillas empapadas alcanzó el 85,83% en comparación con el 54% que no fueron tratadas. Los parámetros de crecimiento de las plantas, contenido de clorofila, TSS y porcentajes de sacarosa también fueron probados (Mustafa y Mohamed, 2008).

En el trabajo de investigación de Fialho (2005) se evaluó *in vitro* el potencial de cepas de *Saccharomyces cerevisiae*, utilizado en procesos fermentativos, como agente de control biológico contra *Guignardia citricarpa* agente causal de la mancha negra de los cítricos. Demostrando mayor actividad antagonista contra el fitopatógeno, causando el 73% de la inhibición del crecimiento micelial. También se demostró que las cepas podían producir compuestos volátiles con acción fungistática inhibiendo hasta en un 83% el desarrollo del patógeno. Resalta el potencial de *S. cerevisiae* para controlar *G. citricarpa* en frutos de naranja en poscosecha. El posible mecanismo utilizado para la inhibición de la levadura es la producción volátil, sin embargo, otros mecanismos no pueden descartarse (Fialho, 2005).

Kupper, Lima, Najara y Da Silva (2013) investigó el efecto antagonista *Saccharomyces cerevisiae* y *Bacillus subtilis* para el control de *Penicillium digitatum* agente causal de la enfermedad moho verde en cítricos. Los resultados muestran que todos los aislamientos de levadura han afectado estadísticamente el desarrollo del hongo en comparación con el testigo, provocando las

inhibiciones de la colonia del fitopatógeno entre el 42% y el 47%, respectivamente. El uso de *S. cerevisiae* es efectivo para el control de *Penicillium digitatum*, pero la eficiencia de ella depende de la variedad de cítricos que se está tratando.

## **2.11 MICROORGANISMOS ANTAGÓNICOS FRENTE A HONGOS PATOGENOS *in situ***

García (2015) menciona que, para que un producto sea considerado como biocontrolador efectivo en campo, debe arrojar al menos 60% de inhibición en la técnica de enfrentamiento dual *in vitro*. Se ha demostrado que dos aislamientos de *Bacillus firmus* Bredemann y Werner redujeron el crecimiento de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. y Sacc. en 75,3 y 69,1% en un lapso de 96 horas *in vitro* (Baños, Zavaleta y Colinas. 2004).

Se han obtenido respuestas contradictorias cuando se trata de relacionar el daño celular en el fruto con el compuesto producido por el antagonista, por ejemplo, la aplicación de *P. cepacia* redujo el moho verde (*P. digitatum*) en más del 80% en comparación al testigo en frutos de limón (*Citrus limon* L.). La bacteria creció rápidamente en la herida y causó daños en el fruto, la pudrición se logró controlar cuando el antagonista se aplicó 12 h previas a la inoculación; se atribuyó este efecto a la producción de antibióticos *pyrrolnitrin in vitro* (Quin y Shiping, 2004).

El empleo de microorganismos antagonistas se ha sustentado en la combinación con otras alternativas o con los fungicidas sintéticos, además de que se considera importante que se integre el uso de los mismos dentro de las prácticas de manejo de la tecnología poscosecha (Hernández y Bautista, 2007).

De acuerdo a Hernández y Bautista (2007) en este sentido, se han desarrollado diversos estudios para conocer la eficiencia biológica de los antagonistas; por ejemplo, al analizar el comportamiento de cuatro levaduras antagonistas (*T. pullulans*, *C. laurentii*, *R. glutinis* y *P. membranefaciens*), se encontró que fueron efectivas contra importantes patógenos poscosecha (*A. alternata*, *P. expansum*, *B. cinerea* y *R. stolonifer*) en cerezas (*Rubus idaeus* L.) almacenadas a 25° C; sin embargo, a bajas temperaturas y en condiciones de atmósfera controlada se suprimió el crecimiento de *T. pullulans* y *P. membranefaciens*.

También se ha encontrado el efecto inverso, estudios realizados en duraznos (*Prunus persica* L.) para controlar la enfermedad causada por *B. cinerea* y *P. expansum* con el antagonista *Candida oleophila* Montrocher, evidenciaron que esta levadura por sí sola no fue capaz de ejercer efecto de biocontrol, pero cuando se combinó con la atmósfera modificada durante el empaque se redujo la pudrición (Karabulut y Baykal, 2004).

Para finalizar, Hernandez y Bautista (2007) mencionan que se debe profundizar en el estudio de los diferentes microorganismos propuestos como antagonistas, no se puede generalizar el comportamiento de los mismos, aun estando clasificados dentro de las levaduras, ellos pueden diferir en su forma de respuesta cuando se integran a las prácticas poscosecha.

## **2.12 APLICACIÓN DEL ELECTROMAGNETISMO A LA LEVADURA (*S. cerevisiae*)**

Según Zapata, Moreno y Marquez (2002) cultivos de *Saccharomyces cerevisiae* fueron sometidos al efecto de campos magnéticos variables de alta frecuencia hasta 100 kilohercio y bajas densidades de flujo hasta 620 miligauss, se hicieron comparaciones entre el crecimiento del cultivo a diferentes densidades de flujo, tiempos de exposición al campo y frecuencias, para evaluar el comportamiento de la concentración celular ante la modificación de una sola variable a la vez. Se utilizó el método de la mínima diferencia significativa (LSD) para comparar los resultados de los ensayos correspondientes a cada variable. Los resultados mostraron que se puede estimular el crecimiento del cultivo tratado con campos magnéticos, cuando se utilizan campos con densidades de flujo de 20mG, frecuencias de 100kHz y tiempos de aplicación de 30 segundos. Los porcentajes de estimulación obtenidos con este tratamiento fueron del 30% con respecto a un cultivo control.

Según Álvarez *et al.* (2014) la levadura *S. cerevisiae* variedad *Rhône* fue expuesta al efecto de campo electromagnético a intensidades de 0,04 mT; 0,21 mT y 0,39 mT, y tiempo de exposición de uno, cinco y 10 min con 50 Hz (Hertzios). Se utilizó la relación de la variación de biomasa / tiempo para comparar el número de ciclos de crecimiento de los cultivos blanco contra los cultivos sometidos a campo electromagnéticos.

El mismo autor, menciona que se observó un aumento de la producción de biomasa en las siguientes combinaciones 0,04 mT / 10 min; 0,21 mT / 1min y 0,39 mT / 5 minutos con respecto a la muestra control. Se encuentra que el número de ciclos de crecimiento comparados con el grupo control presenta importantes variaciones con una tendencia a disminuir en el número de ciclos acompañados de un incremento en la producción de biomasa y una disminución en la viabilidad del cultivo.

El medio utilizado para la aplicación del Campo Electromagnético (CEM), fue el medio líquido inoculado con levadura en caja petri, que posterior a ello fue introducido en la bobina con los correspondientes CEM. Luego de la aplicación se incubaron las muestras a la temperatura de 30 °C, y se tomaron muestras cada dos horas para ser analizada la producción de biomasa (Álvarez *et al.*, 2014).

### **2.13 CONCENTRACIÓN, RECUENTO CELULAR Y TASA DE CRECIMIENTO DE LEVADURAS *in vitro***

Según Arredondo y Voltolina (2007), el crecimiento de un cultivo a nivel microscópico, se expresan como el incremento de biomasa ya sea en forma de números de células (cel/ml), en peso seco (total y orgánico), cantidad de proteínas, de pigmentos, medidos directamente o en unidades arbitrarias de fluorescencia, volumen de células o carbono celular total, calculado para un periodo de tiempo o una fase de crecimiento específica. Este incremento puede ser estimado por diferentes métodos e incluye la determinación de los cambios de densidad óptica por medio de cultivo por espectrofotometría.

El mismo autor menciona que la densidad óptica tomado por espectrofotometría permite una evaluación rápida de la concentración de células, en especial si se cuenta con una curva de calibración entre la concentración celular de una especie y la concentración celular de una especie determinada.

Para finalizar Arredondo y Voltolina (2007) citan que, el protocolo a seguir para determinar la densidad óptica es simple. El primer paso es agitar el cultivo ya sea recién inoculado o en la fase en la que se encuentre, para permitir que las células se distribuyan homogéneamente. El segundo paso es colocar el volumen

necesario de muestra, en una celda de volumen y camino óptico apropiado, dependiendo del tipo de instrumento del cual se disponga en laboratorio, agitar nuevamente y medir rápidamente la transmitancia o la absorbancia (densidad óptica) en el espectrofotómetro, usando la longitud de onda seleccionada. Previamente, el equipo se calibra con agua destilada. En el tercer paso con los datos obtenidos de densidad óptica se obtiene la curva de crecimiento graficando valores de densidad óptica en el eje de las "Y" con el tiempo en el eje de las "X".

### **2.13.1 TRANSMITANCIA Y OBSERVANCIA**

Hernández (2017) menciona que la espectrofotometría es uno de los métodos de análisis más usados, y se basa en la relación que existe entre la absorción de luz por parte de un compuesto y su concentración. Cada sustancia tiene su propio espectro de absorción, el cual es una curva que muestra la cantidad de energía radiante absorbida (Absorbancia), por la sustancia en cada longitud de onda del espectro electromagnético, es decir, a una determinada longitud de onda de la energía radiante, cada sustancia absorbe una cantidad de radiación que es distinta a la que absorbe otro compuesto.

El mismo autor menciona que la transmitancia es la razón entre la luz monocromática transmitida por una muestra y la energía o luz incidente sobre ella. Tanto la energía radiante incidente como la transmitida deben ser medidas a la misma longitud de onda. Se acostumbra a considerar la transmitancia como la razón de la luz transmitida por la muestra y la luz transmitida por un estándar arbitrario. Este estándar puede ser el líquido (solvente) en que esta disuelta la muestra, aire, blanco analítico (solución que contiene todos los componentes de la solución problema menos la sustancia problema) u otra sustancia elegida arbitrariamente. La absorbancia, se define como la cantidad de energía radiante absorbida por una sustancia pura o en solución. Matemáticamente, corresponde al logaritmo negativo de la transmitancia (Hernández, 2017).

Las mediciones de absorbancia o transmitancia se hacen por comparación entre la muestra problema y un estándar arbitrario o referencia. Como la referencia debe poseer un porcentaje de transmitancia de 100%, esta es llamada referencia de 100%., o una absorbancia de cero (Arredondo y Voltolina, 2007).

### 2.13.2 FASES DE CRECIMIENTO

Fase lag o fase de adaptación: de acuerdo a la Facultad de Ciencias bioquímicas y Farmacéuticas (FBIOYF, 2017) el comportamiento inicial depende de las condiciones de las células del inóculo, de las cuales depende también el éxito del nuevo cultivo. Cuando las células del inóculo no se encuentran en condiciones metabólicas adecuadas se presenta una fase de retardo del crecimiento, por lo cual el cultivo no será exitoso. Los cambios de las condiciones ambientales como temperatura, iluminación y pH también pueden causar un retardo del crecimiento en la fase inicial de un cultivo.

Fase de aceleramiento: en esta fase, diferentes componentes estructurales se incrementan secuencialmente, iniciando con el ARN, seguido de las proteínas y del peso individual. La concentración celular es generalmente la última que muestra este incremento (FBIOYF, 2017).

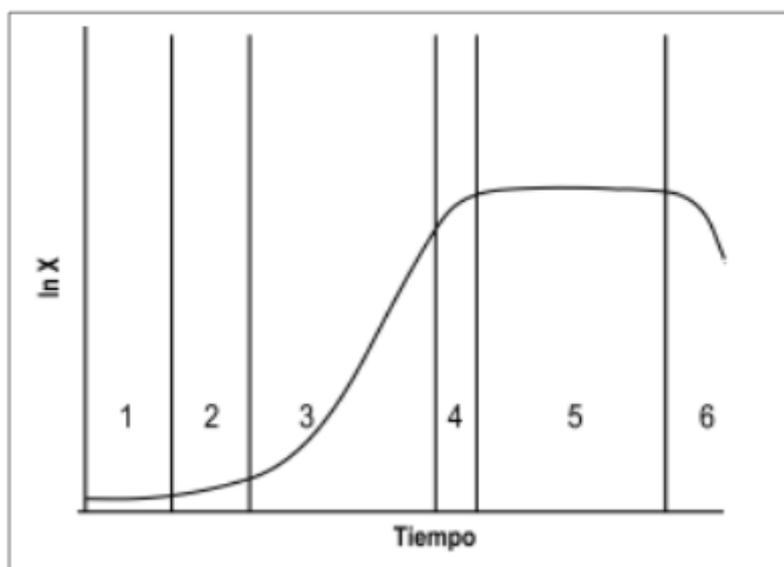
Fase exponencial: Según López (2016), durante este periodo la velocidad de crecimiento adquiere su valor máximo y, en vista de la falta de factores limitantes, permanece aproximadamente constante. Por este motivo, la concentración celular aumenta rápidamente, aunque en general no se alcanzan valores muy elevados.

Fase de desaceleración: en esta fase se empieza a notar el efecto de una menor disponibilidad de uno de los factores que regulan el crecimiento, por lo cual las condiciones de cultivo son sub-óptimas. En consecuencia, la tasa de división celular disminuye, aunque, en vista del alto número de células, la concentración celular alcanza su máximo valor. En este periodo la composición bioquímica de la biomasa cambia de manera opuesta a la mencionada para la fase de aceleración (López 2016).

Fase estacionaria: durante esta fase las condiciones de cultivo son limitantes y la natalidad es igual a la mortalidad, por lo cual la concentración celular y los componentes de la biomasa permanecen sin cambios relevantes. Este comportamiento se debe a la baja concentración de algún nutriente esencial o al alto valor del pH, con consiguiente poca disponibilidad de sustrato fotosintético, o a una excesiva concentración de oxígeno, aunque con frecuencia el motivo más importante es la pobre penetración de la luz causada por la alta

concentración celular (efecto de autosombreado). Otro factor que puede limitar el crecimiento es la excreción de productos catabólicos al medio de cultivo (FBIOYF, 2017).

Fase de muerte: la tasa de mortalidad es superior a la de natalidad, por lo cual la concentración disminuye. Además, se registra una disminución de la biomasa unitaria como resultado de un incremento en la proporción entre respiración y fotosíntesis y a la ausencia de nutrientes, que conlleva a la muerte o lisis celular (López, 2016).



**Grafica 2.3** Curva de crecimiento típica, en la cual se muestran las diferentes fases, marcadas como: 1 fase lag; 2 fase de aceleramiento; 3 fase exponencial; 4 fase de desaceleración del crecimiento; 5 fase estacionaria; 6 fase de muerte.

## 2.14 ACTIVIDAD ANTAGONISTAS EN CULTIVO DUAL

Consiste en el enfrentamiento del patógeno y el antagonista en una placa de petri, analizando el crecimiento de ambos que se compara con el crecimiento individual de cada uno de ellos. Para ellos existe ciertos parámetros estipulados, donde la separación del posible antagonista del hongo debe ser 7 cm y las mediciones deben ser realizados en periodos de tiempo mayores a las 48 horas, para permitir obtener resultados confiables y técnicos (Sobrino, Soriano y Porras, 2005).

El antagonismo directo de la inhibición del crecimiento se estima por medio de confrontación en cultivo dual y principalmente por la medición radial del crecimiento del hongo fitopatógeno, y como testigo el crecimiento del patógeno

sin confrontación o al tomar como testigo la distancia más larga del crecimiento en ensayo de confrontación (Reyes, Alejo y Ruiz, 2012).

Para la evaluación de la capacidad biocontroladora de los microorganismos se emplea el cálculo del Porcentaje de Inhibición del crecimiento (PIC), que mide el antagonismo de los microorganismos evaluados. Este se obtiene a partir del crecimiento de cada patógeno en cultivo dual, junto con sus respectivos testigos (Astorga, Meneses y Zuñiga, 2014).

$$PIC = \frac{R1 - R2}{R1} \times 100$$

**Grafica 2.4** Ecuacion para calcular el porcentaje de inhibicion de crecimiento

Donde R1 es diámetro mayor (diámetro del testigo) y R2 es el diametro menor (diametro del patógeno en cultivo dual) (Astorga *et al.*, 2014).

## 2.15 ENFERMEDADES EN FRUTOS DE PAPAYA

La producción y calidad de la papaya (*C. papaya* L.) está limitada por enfermedades poscosecha responsables directas de pérdidas de hasta el 40% que ocurren durante el transporte y el almacenamiento. Dentro de los principales hongos causantes de pudriciones de los frutos de papaya se encuentran *Ascochyta caricae* Pat., *Colletotrichum gloeosporioides* Penz., *Phytophthora palmivora* Butl, *Fusarium solani* y *Rhizopus stolonifer* (Baños *et al.*, 2004).

En la investigación realizada por Vera (2006) en el campus de la ESPAM MFL, estableció que en las condiciones ambientales del cantón Bolívar, los principales problemas identificados en poscosecha de papaya fueron la pudrición blanda de frutos provocada por *Rhizopus sp.*; manchas necroticas por *Colletotrichum sp.* y manchas blanquizca y peduncular por *Fusarium sp.*

### 2.15.1 ANTRACNOSIS

Es una enfermedad ocasionada por el hongo *C. gloeosporioides*, es común y destructiva, tiene distribución mundial, especialmente en áreas húmedas y cálidas de donde bajo condiciones favorables, los tejidos afectados se cubren con masas de esporas de color rosado. Manchas cafés, pelado y pudrición basal

del fruto son otras de las características de esta enfermedad (Baños *et al.*, 2004). Según Zavala *et al.* (2005) *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.). es un patógeno ubicuo, prolífero y económicamente importante, ya que induce pérdidas sustanciales en el rendimiento, al afectar partes vegetativas y al causar deterioro poscosecha de frutos de clima templado, subtropical y tropical.

En frutos de papaya, causa pelada del fruto, mancha chocolate y antracnosis enfermedades que afectan el exterior de los frutos y, por lo tanto, originan pérdidas económicas. Las esporas del hongo germinan después de 48 h y forman un tubo germinativo que penetra de manera directa la cutícula del fruto inmaduro donde permanece latente, pero se reactiva la invasión durante la maduración del fruto. Una vez dentro del fruto, el hongo es protegido del contacto con los fungicidas (Zavala *et al.*, 2005)



**Grafica 2.5** Frutos de papaya con síntomas de antracnosis causadas por el hongo *Colletotrichum gloeosporioides*

### 2.15.2 PUDRICIÓN BLANDA

*Rhizopus stolonifer* es un hongo fitopatógeno versátil que puede crecer y desarrollarse en una amplia gama de temperaturas y humedades relativas. Su rápida velocidad de crecimiento le permite colonizar la superficie de los productos agrícolas y causar la enfermedad conocida como pudrición blanda que ocasiona importantes pérdidas económicas. Este proceso se desarrolla mediante la excreción de enzimas pécticas del hongo que degradan y disuelven las pectinas de la lámina media de las células vegetales (Velázquez, Baños y Hernández, 2008)

Se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza sobreviviendo de manera saprófita en el suelo y en residuos orgánicos con el potencial de invadir tejidos vegetales. Entre sus características particulares, se encuentran la formación de micelio aéreo carente de septos y la producción de esporangióforos que presentan en sus puntas esporangios esféricos donde se alojan las esporangiosporas, las cuales muestran diferentes formas: globosas, elipsoidales y angulares con superficies lisas o estrías distintivas (Hernández *et al.* 2006 citado por Velázquez, Bautista y Hernández, 2008).

El autor antes citado, expone que las esporas de *R. stolonifer* pueden sobrevivir largos períodos sin agua y soportar temperaturas elevadas, germinando sobre tejidos vegetales dañados y generando rápidamente la maceración de los tejidos y la pudrición de los frutos.



**Grafica 2.6** Frutos de papaya con síntomas de pudrición blanda causada por el hongo *Rhizopus stolonifer*.

### 2.15.3 DETERMINACIÓN DE LOS AGENTES CAUSALES

Según Herrera y Mayea (1994), Koch estableció cuatro postulados que se consideran de indispensable cumplimiento. Cuando se aplican estos postulados y se confirman, el organismo aislado se declara agente causal. Los postulados son los siguientes:

1. El organismo patógeno debe ser encontrado asociado con la enfermedad en todos los casos observados.
2. El organismo patógeno debe ser aislado y cultivado *in vitro* en el laboratorio.
3. El organismo patógeno debe ser inoculado a un hospedante sano de la

misma especie o variedad en el cual aparece la enfermedad

4. El organismo patógeno debe ser reaislado en cultivo puro y tener las mismas características que el aislado (Herrera y Mayea, 1994).

#### **2.15.4 MÉTODOS Y TÉCNICAS PARA DIAGNOSTICAR UNA ENFERMEDAD FUNGOSA**

De acuerdo con Herrera y Mayea (1994), una vez aislado el o los hongos presentes en la sintomatología estudiada se requiere cumplimentar el punto tres del postulado de Koch. El primer paso para cumplimentar dicho aspecto es la obtención del inóculo que debe ser genéticamente homogéneo, ya se trate de una especie, formas especiales o raza fisiológica. Para ellos se utiliza la técnica del cultivo monospórico, que consiste en obtener un cultivo puro a partir de una sola espóra. El método consiste en:

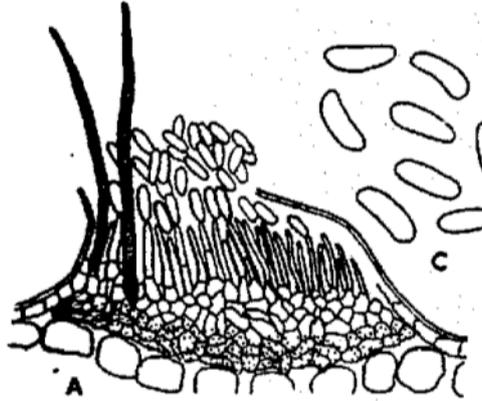
1. Se toma del tejido naturalmente afectado esporas del hongo, para luego esparcirlas sobre una placa de Petri, que contenga agar- agua al 2% y con la ayuda del microscopio, sembrar individualmente cada una de ellas.
2. En el caso de aquellos hongos que no se puedan cultivar *in vitro*, la preparación del inóculo debe realizarse a partir de materiales naturalmente infectados.

Para el aislamiento de hongos presentes en el interior del fruto, se debe proceder a la desinfección externa con hipoclorito de sodio al 1% o  $Cl_2Hg$  al 0,5% y alcohol al 70%. Antes de colocar en la cámara húmeda los pedazos de tejido enfermo, se deben cortar con un bisturí esterilizado, y extraer porciones afectadas y sembrarlas en un medio apropiado que favorezca el crecimiento de la estructura vegetativa o reproductora. El ajuste del pH en los medios empleados para el aislamiento debe garantizar valores bajos (con un pH alrededor de 5,5) que impidan el crecimiento de bacterias (Herrera y Mayea, 1994).

#### **2.15.5 CLAVE MORFOLÓGICA PARA LA IDENTIFICACIÓN DE *Colletotrichum sp.***

De acuerdo con las claves morfológicas, mencionadas por Hunter (1998) *Colletotrichum sp.*, presenta un acervulo en forma de disco o almohadilla, cerosa,

subepidermica, típicamente con oscuridad, espinas en el borde de los conidioforos; conidioforos simples, alargados; conidia hialina, con estado imperfectos de *Glomerella*.



**Grafica 2.7** Clave morfológica para identificar a *Colletotrichum sp.*

#### 2.15.6 CLAVE MORFOLOGICA PARA LA IDENTIFICACIÓN DE *Rhizopus sp.*

De acuerdo con la Sociedad Española de Microbiología (SEM, 2014), *Rhizopus sp.*, presente hifas gruesas y septadas, abundante rizoides prominentes de color café, de los que salen los esporangióforos largos, no ramificados, de color café, cada uno con una esporangia café de 100 a 200 micras de diámetro, con esporangiosporas de 6 a 8 micras, espiculadas.



**Grafica 2.8** Clave morfológica para identificar a *Rhizopus sp*

## CAPITULO III. DISEÑO METODOLÓGICO

### 3.1 UBICACIÓN

La presente investigación se realizó en el laboratorio de Microbiología de la Carrera de Medicina Veterinaria de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí, ubicada en el sitio “El Limón” del cantón Bolívar, situada geográficamente entre las coordenadas 0°49'27” Latitud Sur, 80°10'47.2” Longitud Oeste y a una altitud de 15 msnm<sup>1/</sup>.

### 3.2 DURACIÓN DEL TRABAJO

La presente investigación se realizó durante los meses de abril a mayo del año 2018, con una duración de 45 días.

### 3.3 FACTORES EN ESTUDIO

- Intensidad de exposición (I)
- Tiempos de exposición (T)

### 3.4 NIVELES DE LOS FACTORES

- Intensidad de exposición (I)
  - (I1) = 15 Gauss
  - (I2) = 30 Gauss
  - (I3) = 45 Gauss
- Tiempos de exposición (T)
  - (T1) = 1 minuto
  - (T2) = 5 minutos
  - (T3) = 10 minutos

### 3.5 MATERIAL EXPERIMENTAL

- Fitopatogenos: *Colletotrichum sp.*, y *Rhizopus sp.*, aislados de frutos de papaya (*Carica papaya L.*) var. Maradol.
- Bobina de Helmholtz, diseñada por los autores de la investigación

<sup>1/</sup> Estación Meteorológica de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López (ESPAM)

### 3.5.1 DESCRIPCIÓN DE LA BOBINA DE HELMHOLTZ

- ✓ Numero de vueltas del alambre de cobre: 400
- ✓ Intensidad (Amperios): gradual de 0-12 A
- ✓ Permeabilidad al vacío, valor constante ( $4\pi \times 10^{-7}$ )
- ✓ Radio de las bobinas: 0,25 m
- ✓ Utiliza 55 voltios
- ✓ Se conecta a 110V



**Grafica 3.1** Modelo de la bobina de Helmholtz, con su respectivo transformador. Diseñada y construida por los autores de esta investigación.

### 3.6 TRATAMIENTOS

**Cuadro 3.1** Tratamientos

TRATAMIENTOS	CÓDIGO	DESCRIPCIÓN
1	I1T1	Intensidad de exposición 15 Gauss* por 1 minuto
2	I1T2	Intensidad de exposición 30 Gauss por 1 minuto
3	I1T3	Intensidad de exposición 45 Gauss por 1 minuto
4	I2T1	Intensidad de exposición 15 Gauss por 5 minuto
5	I2T2	Intensidad de exposición 30 Gauss por 5 minuto
6	I2T3	Intensidad de exposición 45 Gauss por 5 minuto
7	I3T1	Intensidad de exposición 15 Gauss por 10 minutos
8	I3T2	Intensidad de exposición 30 Gauss por 10 minutos
9	I3T3	Intensidad de exposición 45 Gauss por 10 minutos
10	T0	Levadura sin magnetizar (Testigo)

\* Gauss, unidad de la intensidad de flujo magnético.

### 3.7 DISEÑO EXPERIMENTAL

Para la realización de este trabajo se utilizó el Diseño Completamente al Azar (DCA) en un arreglo bifactorial ( $I \times T + 1$ ) con 10 tratamientos y 3 repeticiones,

donde (I) corresponde a intensidad de campo magnético y (T) corresponde a tiempo de exposición. Se determinó el coeficiente de variación del error (CV%), el cual es un indicador de la variabilidad experimental que se asocia a la precisión del ensayo. En las variables donde se constató diferencias estadísticas significativas se realizó la prueba de Tukey al 5% de probabilidad del error. Además, se realizó el análisis de correlaciones y regresión que se consideró pertinente.

**Cuadro 3.2** Esquema del análisis de varianza

<b>Factor de variación</b>	<b>Grados de libertad</b>
Total	29
Tratamientos	9
Repetición	2
Error experimental	18
Tiempos (I)	2
Intensidades (T)	2
T X I	4
Testigo	1

### 3.8 CARACTERÍSTICA DE LAS UNIDADES EXPERIMENTALES

**Cuadro 3.3** Unidades experimentales para la evaluación de la Producción de biomasa

<b>N.º de tratamientos</b>	10
<b>N.º Tubos de ensayo por tratamiento</b>	9
<b>N.º de tubos de ensayo</b>	90
<b>Contenido de los tubos de ensayo</b>	12 ml de medio de cultivo con melaza al 10%

**Cuadro 3.4** Unidades experimentales para evaluar la actividad antagónica de la levadura vs patógenos

<b>N.º de tratamientos</b>	10
<b>N.º de patógenos</b>	2
<b>N.º cajas Petri por tratamiento</b>	3
<b>N.º cajas Petri en total</b>	60
<b>N.º de caja Petri de control</b>	3
<b>N.º total de caja Petri</b>	66
<b>Contenido de caja Petri</b>	15 ml de medio de cultivo PDA

### 3.9 MANEJO DEL EXPERIMENTO

#### PURIFICACIÓN DE LA LEVADURA

Se utilizó la levadura comercial de la marca “Levapan” (Anexo 1), la cual fue purificada *in vitro*. Procediendo de la siguiente manera:

- Se pesó 10 g de la levadura comercial en la balanza de precisión CAS – MWP3000 y se diluyó en 100 ml de agua destilada estéril utilizando el agitador magnético CORNING – PC420D.
- De la solución madre, se tomó 1 ml con la ayuda de la pipeta de precisión CORNING LAMBDA PLUS, se colocó en tubos de ensayo en disolución seriada hasta llegar a  $10^{-4}$ .
- De la disolución  $10^{-4}$  se colocó 0,5 ml en tres cajas Petri que contenían el medio de agar Sabouraud
- Se incubaron a 37 °C por 24 horas en la estufa MEMMERT – UNP 200-800
- Para la multiplicación masiva de la levadura, se aplicó 10 ml de levadura en 1000 ml de agua con melaza al 10% de concentración. Y se diluyó con la ayuda del agitador magnético CORNING – PC420D.
- Se procedió al conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) utilizando la cámara de Neubauer (Anexo 16). El número de UFC fue de 31 430 000 UFC/ml de producto.

#### **AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA DE *Colletotrichum sp.*, Y *Rhizopus sp.***

Se adquirieron 240 frutas de la variedad Maradol, las frutas fueran seleccionadas en base a uniformidad de su tamaño (2 - 2,5 kg) y madurez (1/4) con tres rayas amarillas; se tuvo precaución de no adquirir frutos con golpes ni daños físicos producto de la cosecha. Los frutos fueron trasladados inmediatamente después de la cosecha al área que almacenaría las unidades experimentales en la Carrera de Ingeniería Agrícola en un espacio de 20m<sup>2</sup> que fue cercado totalmente por los costados con sarán negro y con un techo de plástico transparente con sarán negro encima del mismo, además, fueron colocados sobre una cama de hojas de plátano seca, de esta forma se pretendió evitar

daños físicos al contacto con el suelo, además de darle un ambiente similar al de campo.

La Antracnosis causada por *Colletotrichum sp.*, se caracterizó por lesiones que se manifestaron inicialmente como pequeñas puntuaciones oscuras, casi negras, rodeadas de un delgado halo clorótico y dispersas sobre la epidermis del fruto y se manifestó en el 97% de los frutos (233). En cambio, la pudrición blanda causada por *Rhizopus sp.*, se caracterizó por una pudrición blanda y acuosa que descompuso rápidamente al fruto, pero dejó la cutícula intacta. El fruto infectado se cubrió de un micelio gris de aspecto veloso, y se manifestó en el 3% restante de frutos (7). (Anexos 8, 9, 10, 11).

Para el aislamiento se desinfectó la parte externa del fruto con alcohol al 70% y luego, de acuerdo a la técnica propuesta por Herrera y Mayea (1994), y siguiendo la técnica del cultivo monospórico y los postulados de Koch, se tomó 1 cm<sup>3</sup> de segmento interno de la fruta afectada, el cual se colocó en placas Petri con medio agar papa dextrosa (PDA). Los cultivos fueron incubados en estufa MEMMERT – UNP800 a 28°C y se evaluó su crecimiento a las 72, 120 y 168 horas. Una vez desarrollado el cuerpo vegetativo, se tomaron muestras de ambos organismos realizando improntas con cinta adhesiva en un portaobjetos, y sobre estas se colocó una gota de azul de tripano. Las preparaciones fueron observadas al microscopio con la finalidad de confirmar la presencia de *Rhizopus sp.*, y *Colletotrichum sp.*, usando las claves reportadas por la Sociedad Española de microbiología (2014) y Hunter (1998), respectivamente para cada hongo. Una vez confirmada la identidad de ambos patógenos, se tomó 1 cm<sup>3</sup> de micelio de cada uno, se colocó en placas con PDA y se incubó estufa MEMMERT – UNP800 a 28°C por 48 horas. La purificación de ambos fitopatógenos se realizó con un sacabocado, las cuales se colocaron en medio PDA, incubándose a 28°C en estufa MEMMERT – UNP800 por 48 horas (Anexos 8, 9, 10, 11 y 14).

## **APLICACIÓN DEL ELECTROMAGNETISMO A LA LEVADURA**

De la multiplicación masiva de la levadura, se tomó 12 ml y se colocó en 10 cajas petri que conforman el número total de tratamiento, la caja Petri fue colocada en el centro de la Bobina de Helmholtz de acuerdo a la técnica propuesta por Álvarez *et al.* (2014), y se aplicó el electromagnetismo por intensidad y tiempo

de exposición, en concordancia a los tratamientos propuestos; la aplicación del electromagnetismo se la realizó en el laboratorio de Microbiología de la Carrera de Medicina Veterinaria en la ESPAM MFL (Anexo 12 y 13).

### **MEDIO DE CULTIVO UTILIZADO PARA EVALUAR LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA**

Se preparó 1200 ml de agua con 10% de melaza. Con la ayuda de la pipeta de precisión CORNING – PC420D se colocó 12 ml de medio en cada tubo de ensayo, en el que posteriormente se inocularía 1 ml de la levadura con y sin electromagnetización en caja Petri. Los tubos con levadura fueron almacenados a 32 °C en la estufa MEMMERT – UNP800 durante todo el ensayo de acuerdo a la técnica propuesta por Álvarez *et al.* (2014).

### **MEDIO DE CULTIVO UTILIZADO PARA EVALUAR LA ACTIVIDAD ANTAGÓNICA**

Se usó el método de confrontación (cultivo dual) mediante contacto directo con el medio de cultivo (Reyes *et al.*, 2012). Se preparó 1000 ml de agua destilada con 39 g de Agar papa dextrosa (PDA). Se colocó 15 ml de medio por caja Petri. El hongo fitopatógeno se sembró en el extremo de una caja Petri, posterior a este paso, se sembró en el otro extremo 1 ml levadura por rayado en la misma placa. En las seis cajas restantes que sirvieron como control se sembraron los fitopatógenos. Las unidades experimentales fueron almacenadas en estufa MEMMERT – UNP800 a 32 °C, durante todo el ensayo.

### **3.10 VARIABLES PARA EVALUAR LOS TRATAMIENTOS**

#### **EVALUACIÓN DE LA BIOMASA DOS HORAS POSTERIOR A LA APLICACIÓN TRATAMIENTO**

Transcurrido dos horas de haber sido aplicado el tratamiento electromagnético a la levadura, utilizando una pipeta de precisión CORNING LAMBDA PLUS se tomó 1,5 ml de la muestra que se encontraba en tubos de ensayo y se la colocó en el equipo de espectrofotometría JENWAY - 6305. De esta forma se obtuvo la concentración de células por transmitancia y absorbancia (Anexo 13 y 15).

#### **EVALUACIÓN DE LA BIOMASA CUATRO HORAS POSTERIOR A LA APLICACIÓN TRATAMIENTO**

Cuatro horas después de haber sido aplicado el tratamiento electromagnético a la levadura, utilizando una pipeta de precisión CORNING LAMBDA PLUS se tomó 1,5 ml de la muestra que se encontraba en tubos de ensayo y se la colocó en el equipo de espectrofotometría JENWAY - 6305. De esta forma se obtuvo la concentración de células por transmitancia y absorbancia.

#### **EVALUACIÓN DE LA BIOMASA SEIS HORAS POSTERIOR A LA APLICACIÓN TRATAMIENTO**

Seis horas después de haberse aplicado el tratamiento electromagnético a la levadura, utilizando una pipeta de precisión CORNING LAMBDA PLUS se tomó 1,5 ml de la muestra que se encontraba en tubos de ensayo y se la colocó en el equipo de espectrofotometría JENWAY - 6305. De esta forma se obtuvo la concentración de células por transmitancia y absorbancia.

#### **EVALUACIÓN DE LA BIOMASA OCHO HORAS POSTERIOR A LA APLICACIÓN TRATAMIENTO**

Ocho horas después de haberse aplicado el tratamiento electromagnético a la levadura, utilizando una pipeta de precisión CORNING LAMBDA PLUS se tomó 1,5 ml de la muestra que se encontraba en tubos de ensayo y se la colocó en el equipo de espectrofotometría JENWAY - 6305. De esta forma se obtuvo la concentración de células por transmitancia y absorbancia.

### **EVALUACIÓN DE LA BIOMASA DIEZ HORAS POSTERIOR A LA APLICACIÓN TRATAMIENTO**

Diez horas después de haberse aplicado el tratamiento electromagnético a la levadura, utilizando una pipeta de precisión CORNING LAMBDA PLUS se tomó 1,5 ml de la muestra que se encontraba en tubos de ensayo y se la coloco en el equipo de espectrofotometría JENWAY - 6305. De esta forma se obtuvo la concentración de células por transmitancia y absorbancia.

### **EVALUACIÓN DE LA BIOMASA 12 HORAS POSTERIOR A LA APLICACIÓN TRATAMIENTO**

Doce horas después de haberse aplicado el tratamiento electromagnético a la levadura, utilizando una pipeta de precisión CORNING LAMBDA PLUS se tomó 1,5 ml de la muestra que se encontraba en tubos de ensayo y se la coloco en el equipo de espectrofotometría JENWAY - 6305. De esta forma se obtuvo la concentración de células por transmitancia y absorbancia.

### **EVALUACIÓN DE LA BIOMASA 24 HORAS POSTERIOR A LA APLICACIÓN TRATAMIENTO**

Veinte y cuatro horas después de haberse aplicado el tratamiento electromagnético a la levadura, utilizando una pipeta CORNING LAMBDA PLUS se tomó 1,5 ml de la muestra que se encontraba en tubos de ensayo y se la coloco en el equipo de espectrofotometría JENWAY - 6305. De esta forma se obtuvo la concentración de células por transmitancia y absorbancia.

### **EVALUACIÓN DE LA BIOMASA 48 HORAS POSTERIOR A LA APLICACIÓN TRATAMIENTO**

Cuarenta y ocho horas después de haberse aplicado el tratamiento electromagnético a la levadura, utilizando una pipeta de precisión CORNING LAMBDA PLUS se tomó 1,5 ml de la muestra que se encontraba en tubos de ensayo y se la coloco en el equipo de espectrofotometría JENWAY - 6305. De esta forma se obtuvo la concentración de células por transmitancia y absorbancia.

## **EVALUACIÓN DE LA BIOMASA 72 HORAS POSTERIOR A LA APLICACIÓN TRATAMIENTO**

Setenta y dos horas después de haberse aplicado el tratamiento electromagnético a la levadura, utilizando una pipeta de precisión CORNING LAMBDA PLUS se tomó 1,5 ml de la muestra que se encontraba en tubos de ensayo y se la colocó en el equipo de espectrofotometría JENWAY - 6305. De esta forma se obtuvo la concentración de células por transmitancia y absorbancia.

### **ACTIVIDAD ANTAGONISTA DE LA LEVADURA *S. cerevisiae* frente a *Colletotrichum sp.*, A LAS 72 HORAS DE APLICADO EL TRATAMIENTO**

Se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento (PICR) de acuerdo a la fórmula propuesta por Astorga *et al.*, (2014) mediante la medición del diámetro de crecimiento de *Colletotrichum sp.*, con un calibrador 72 horas después de ser sembrados en el cultivo dual y se reportó en mm. Una caja Petri con *Colletotrichum sp.*, sin antagonista se usó como control (Anexo 3 y 5).

### **ACTIVIDAD ANTAGONISTA DE LA LEVADURA *S. cerevisiae* frente a *Colletotrichum sp.*, A LAS 120 HORAS DE APLICADO EL TRATAMIENTO**

Se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento (PICR) de acuerdo a la fórmula propuesta por Astorga *et al.*, (2014) mediante la medición del diámetro de crecimiento de *Colletotrichum sp.*, con un calibrador 120 horas después de ser sembrados en el cultivo dual y se reportó en mm. Una caja Petri con *Colletotrichum sp.*, sin antagonista se usó como control.

### **ACTIVIDAD ANTAGONISTA DE LA LEVADURA *S. cerevisiae* frente a *Colletotrichum sp.*, A LAS 168 HORAS DE APLICADO EL TRATAMIENTO**

Se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento (PICR) de acuerdo a la fórmula propuesta por Astorga *et al.*, (2014) mediante la medición del diámetro de crecimiento de *Colletotrichum sp.*, con un calibrador 168 horas después de ser sembrados en el cultivo dual y se reportó en mm. Una caja Petri con *Colletotrichum sp.*, sin antagonista se usó como control.

**ACTIVIDAD ANTAGONISTA DE LA LEVADURA *S. cerevisiae* frente a *Rhizopus sp.*, A LAS 72 HORAS DE APLICADO EL TRATAMIENTO**

Se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento (PICR) de acuerdo a la fórmula propuesta por Astorga *et al.*, (2014) mediante la medición del diámetro de crecimiento de *Rhizopus sp.*, con un calibrador 72 horas después de ser sembrados en el cultivo dual y se reportó en mm. Una caja Petri con *Rhizopus sp.*, sin antagonista se usó como control.

**ACTIVIDAD ANTAGONISTA DE LA LEVADURA *S. cerevisiae* frente a *Rhizopus sp.*, A LAS 120 HORAS DE APLICADO EL TRATAMIENTO**

Se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento (PICR) de acuerdo a la fórmula propuesta por Astorga *et al.*, (2014) mediante la medición del diámetro de crecimiento de *Rhizopus sp.*, con un calibrador 72 horas después de ser sembrados en el cultivo dual y se reportó en mm. Una caja Petri con *Rhizopus sp.*, sin antagonista se usó como control.

**ACTIVIDAD ANTAGONISTA DE LA LEVADURA *S. cerevisiae* frente a *Rhizopus sp.*, A LAS 168 HORAS DE APLICADO EL TRATAMIENTO**

Se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento (PICR) de acuerdo a la fórmula propuesta por Astorga *et al.*, (2014) mediante la medición del diámetro de crecimiento de *Rhizopus sp.*, con un calibrador 168 horas después de ser sembrados en el cultivo dual y se reportó en mm. Una caja Petri con *Rhizopus sp.*, sin antagonista se usó como control.

## **CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **4.1 EVALUACIÓN DE BIOMASA DE LA LEVADURA *S. cerevisiae***

#### **EVALUACIÓN DE LA BIOMASA DOS HORAS POSTERIOR A LA APLICACIÓN DEL TRATAMIENTO**

En el cuadro 4.1, se muestran los datos promedios de la variable producción de biomasa de la levadura *S. cerevisiae* a las dos horas de muestreo. El análisis de varianza no determino diferencias estadísticas para el factor I (intensidad), factor T (tiempo), para la comparación factorial versus testigo, a excepción de la interacción (I x T).

La prueba de significancia determino dos rangos de similitud estadística en la interacción (I x T), donde la mayor producción de biomasa correspondió al tratamiento I2T1 (30 gauss por 1 minuto) con 77,43%, el tratamiento en donde hubo menor producción de biomasa fue en I3T2 (45 gauss por 5 minutos) con 104,9%.

#### **EVALUACIÓN DE LA BIOMASA CUATRO HORAS POSTERIOR A LA APLICACIÓN DEL TRATAMIENTO**

En el cuadro 4.1, se muestran los datos promedios de la variable producción de biomasa de la levadura *S. cerevisiae* a las cuatro horas de muestreo. El análisis de varianza determino diferencias estadísticas altamente significativas para el factor T (tiempo) y para la interacción (I x T), a excepción del factor I (intensidad) y la comparación factorial versus testigo en los cuales no se reportaron diferencias estadísticas.

La prueba de significancia determino dos rangos de similitud estadística en el factor T, la mayor producción de biomasa la obtuvo T2 (5 minutos) con 85,51% y la menor producción de biomasa T3 (10 minutos) con 95,64%.

En la interacción (I x T) la prueba de significancia determino dos rangos de similitud estadística, la mayor producción de biomasa la alcanzo el tratamiento I2T2 (30 gauss por 5 minutos) con 82,53%, por otro lado, la menor producción de biomasa la tuvo el tratamiento I2T3 (30 gauss por 10 minutos) con 101,97%.

## **EVALUACIÓN DE LA BIOMASA SEIS HORAS POSTERIOR A LA APLICACIÓN DEL TRATAMIENTO**

En el cuadro 4.1, se muestran los datos promedios de la variable producción de biomasa de la levadura *S. cerevisiae* a las seis horas de muestreo. El análisis de varianza determinó diferencias estadísticas para el factor I (intensidad), el factor T (tiempo), para la interacción (I x T) y diferencias altamente significativas en la comparación factorial versus testigo.

La prueba de significancia determinó dos rangos de similitud estadística en el factor I, donde I3 (45 gauss) con 85,81% obtuvo la mayor producción de biomasa, en contraposición estuvo I1 (15 gauss) con 91,53% destacando con la menor producción de biomasa. Asimismo, se establecieron dos rangos de similitud estadística en el factor T, donde T2 (5 minutos) con 86,37% obtuvo el mayor porcentaje de producción de biomasa, en cambio T3 (10 minutos) con 92,63%, tuvo la menor producción de biomasa.

En la interacción (I x T) se establecieron dos rangos de similitud estadística, donde el tratamiento I3T2 (45 gauss por 5 minutos) con 82,83% tuvo mayor porcentaje de producción de biomasa y el tratamiento I1T3 (15 gauss por 10 minutos) con 97,63% destacó con menor producción de biomasa.

En la prueba de significancia realizada a la comparación factorial versus los testigos determinó dos rangos de similitud estadística a favor de los factores en estudio, destacándose con mayor producción de biomasa con 89,42% en ambos casos, el testigo tuvo 98,5% de producción de biomasa.

## **EVALUACIÓN DE LA BIOMASA OCHO HORAS POSTERIOR A LA APLICACIÓN DEL TRATAMIENTO**

En el cuadro 4.1, se presenta el análisis de varianza para la variable producción de biomasa a las ocho horas de muestreo, el cual no determinó diferencias estadísticas significativas para el factor I (intensidad), factor T (tiempo), la interacción (I x T) y para la comparación factorial versus el testigo.

## EVALUACIÓN DE LA BIOMASA 10 HORAS POSTERIOR A LA APLICACIÓN DEL TRATAMIENTO

En el cuadro 4.1, se muestran los datos promedios de la variable producción de biomasa de la levadura *S. cerevisiae* a las 10 horas de muestreo, el cual no determino diferencias estadísticas para el factor I (intensidad), factor T (tiempo), la interacción (I x T) y para la comparación factorial versus el testigo.

## EVALUACIÓN DE LA BIOMASA 12 HORAS POSTERIOR A LA APLICACIÓN DEL TRATAMIENTO

En el cuadro 4.1, se muestran los datos promedios de la variable producción de biomasa de la levadura *S. cerevisiae* a las 12 horas de muestreo, el cual no determino diferencias estadísticas para el factor I (intensidad), factor T (tiempo), la interacción (I x T) y para la comparación factorial versus el testigo.

**Cuadro 4.1.** Producción de biomasa de la levadura *S. cerevisiae*, durante las primeras 12 horas de muestreo. Datos espectrofotométricos correspondientes a la transmitancia.

TRATAMIENTOS	Hora de muestreo					
	2	4	6	8	10	12
FACTOR I	NS	NS	*	NS	NS	NS
<b>I1 15 Gauss</b>	94,97	88,48	91,53 b	25,38	13,60	13,29
<b>I2 30 Gauss</b>	91,30	92,98	90,93 b	23,84	13,72	14,50
<b>I3 45 Gauss</b>	90,33	89,14	85,81 a	24,74	12,29	14,58
FACTOR T	NS	**	*	NS	NS	NS
<b>T1 1 min</b>	88,47	89,44 ab	89,28 ab	23,98	12,48	13,88
<b>T2 5 min</b>	90,44	85,51 a	86,37 a	24,06	13,76	14,16
<b>T3 10 min</b>	97,39	95,64 b	92,63 b	25,93	13,38	14,33
INTERACCIÓN	*	**	*	NS	NS	NS
<b>I1T1</b>	92,83 ab	87,37 a	90,40 ab	23,97	13,33	12,97
<b>I1T2</b>	89,67 ab	85,53 a	86,57 ab	24,74	14,90	13,93
<b>I1T3</b>	95,13 ab	92,53 ab	97,63 b	27,70	12,57	12,97
<b>I2T1</b>	77,43 a	93,03 ab	91,53 ab	24,03	13,23	14,30
<b>I2T2</b>	91,6 ab	83,93 a	89,70 ab	23,73	12,80	14,70
<b>I2T3</b>	101,5 ab	101,9 b	91,57 ab	23,77	15,13	14,50
<b>I3T1</b>	101,5 ab	87,93 a	85,90 ab	23,93	10,87	14,37
<b>I3T2</b>	104,9 b	87,07 a	82,83 a	23,97	13,57	13,83
<b>I3T3</b>	85,80 ab	92,43 ab	88,70 ab	26,33	12,43	15,53
FACTORIAL VS RESTO	NS	NS	**	NS	NS	NS
<b>Testigo absoluto</b>	84,7	88,67	98,5 b	26,07	14,50	12,80
<b>Intensidad</b>	92,1	90,2	89,42 a	24,65	13,20	14,12

<b>Tiempo</b>	92.08	89.86	89.42 a	24,66	13,20	14,12
CV	9,31	4,48	7,33	7,45	14,57	14,89
p	0,0232	0,0019	0,0019	0,16	0,29	0,83

\* Diferencia estadística significativa entre los tratamientos

\*\* Diferencia estadística altamente significativa entre los tratamientos

Letras en común no son estadísticamente diferentes

### **EVALUACIÓN DE LA BIOMASA 24 HORAS POSTERIOR A LA APLICACIÓN DEL TRATAMIENTO**

En el cuadro 4.2, se muestran los datos promedios de la variable producción de biomasa de la levadura *S. cerevisiae* a las 24 horas de muestreo, el cual no determino diferencias estadísticas para el factor I (intensidad), factor T (tiempo), la interacción (I x T) y para la comparación factorial versus el testigo.

### **EVALUACIÓN DE LA BIOMASA 48 HORAS POSTERIOR A LA APLICACIÓN DEL TRATAMIENTO**

En el cuadro 4.2, se muestran los datos promedios de la variable producción de biomasa de la levadura *S. cerevisiae* a las 48 horas de muestreo, el cual no determino diferencias estadísticas para el factor I (intensidad), factor T (tiempo), la interacción (I x T) y para la comparación factorial versus el testigo.

### **EVALUACIÓN DE LA BIOMASA 72 HORAS POSTERIOR A LA APLICACIÓN DEL TRATAMIENTO**

En el cuadro 4.2, se muestran los datos promedios de la variable producción de biomasa de la levadura *S. cerevisiae* a las 72 horas de muestreo, el cual no determino diferencias estadísticas para el factor I (intensidad), factor T (tiempo), la interacción (I x T) y para la comparación factorial versus el testigo.

**Cuadro 4.2.** Producción de biomasa de la levadura *S. cerevisiae*, en la hora 24, 48 y 72 de muestreo. Datos espectrofotométricos correspondientes a la transmitancia.

TRATAMIENTOS	Hora de muestreo		
	24	48	72
FACTOR I	NS	NS	NS
<b>I1 15 Gauss</b>	3,58	2,82	4,83
<b>I2 30 Gauss</b>	3,19	2,22	4,48
<b>I3 45 Gauss</b>	3,42	2,18	4,60
FACTOR T	NS	NS	NS
<b>T1 1 min</b>	3,37	2,22	4,52
<b>T2 5 min</b>	3,44	2,59	4,81
<b>T3 10 min</b>	3,42	2,41	4,59
INTERACCIÓN	NS	NS	NS
<b>I1T1</b>	3,43	2,30	4,47
<b>I1T2</b>	3,67	2,73	4,70
<b>I1T3</b>	3,63	3,43	4,38
<b>I2T1</b>	3,53	2,23	5,06
<b>I2T2</b>	3,17	2,60	4,90
<b>I2T3</b>	2,87	1,83	4,46
<b>I3T1</b>	3,13	2,13	4,95
<b>I3T2</b>	3,50	1,83	3,85
<b>I3T3</b>	3,77	1,97	4,96
FACTORIAL VS RESTO	NS	NS	NS
<b>Testigo absoluto</b>	5,90	2,03	4,68
<b>Intensidad</b>	3,40	2,41	4,64
<b>Tiempo</b>	3,41	2,41	4,64
CV	29,51	33,16	19,25
p	0,14	0,43	0,85

\* Diferencia estadística significativa entre los tratamientos

\*\* Diferencia estadística altamente significativa entre los tratamientos

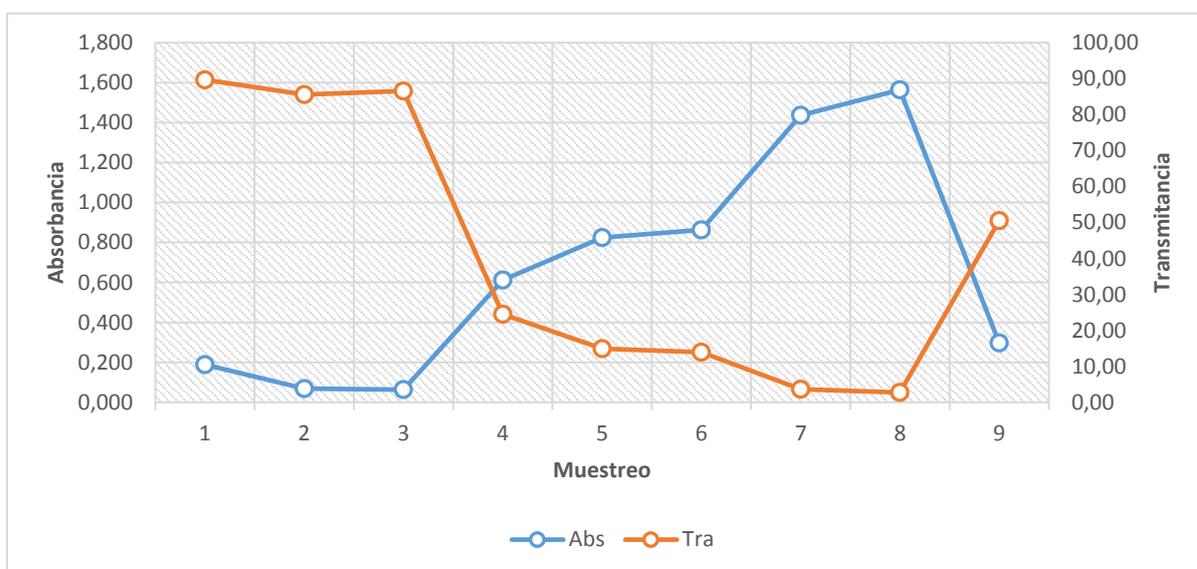
Letras en común no son estadísticamente diferentes

## EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA DE ACUERDO A LOS DATOS DE ESPECTROFOTOMETRÍA

En la gráfica 4.1 se puede observar los tratamientos I1T1, I1T2, I1T3 e I2T2 en el ciclo de muestreo, en los cuatro casos se determinaron líneas de tendencias de crecimiento similares en la producción de biomasa, por lo que se presentan fusionados en el mismo gráfico para su análisis.

Las condiciones iniciales establecidas en el medio de cultivo para la evaluación de biomasa en *S. cerevisiae* fueron idóneas, permitiendo superar

satisfactoriamente la fase de adaptación. En la hora dos de muestreo el cultivo de levadura empezó en fase de aceleración, posteriormente experimento fase de desaceleración, ingresando entre la cuarta y sexta hora en fase de muerte, produciéndose una fase exponencial dando inicio a la etapa de mayor producción de biomasa entre la sexta y octava hora de muestreo, la cual experimenta signos de desaceleración, se da el punto de unión entre las líneas de tendencia correspondientes a la absorbancia y transmitancia, y el cultivo entra en fase de aceleración hasta finalizada la hora 10 de muestreo, iniciando fase estacionaria entre las horas 10 y 12 de muestreo, seguido nuevamente de una fase de aceleración entre las horas 12 y 24 de muestreo, produciéndose nuevamente una fase estacionaria entre las horas 24 y 48 de muestreo. A partir de la hora 48 de muestreo, el cultivo de *S. cerevisiae* inicio su fase de muerte hasta la hora 72 de muestreo.

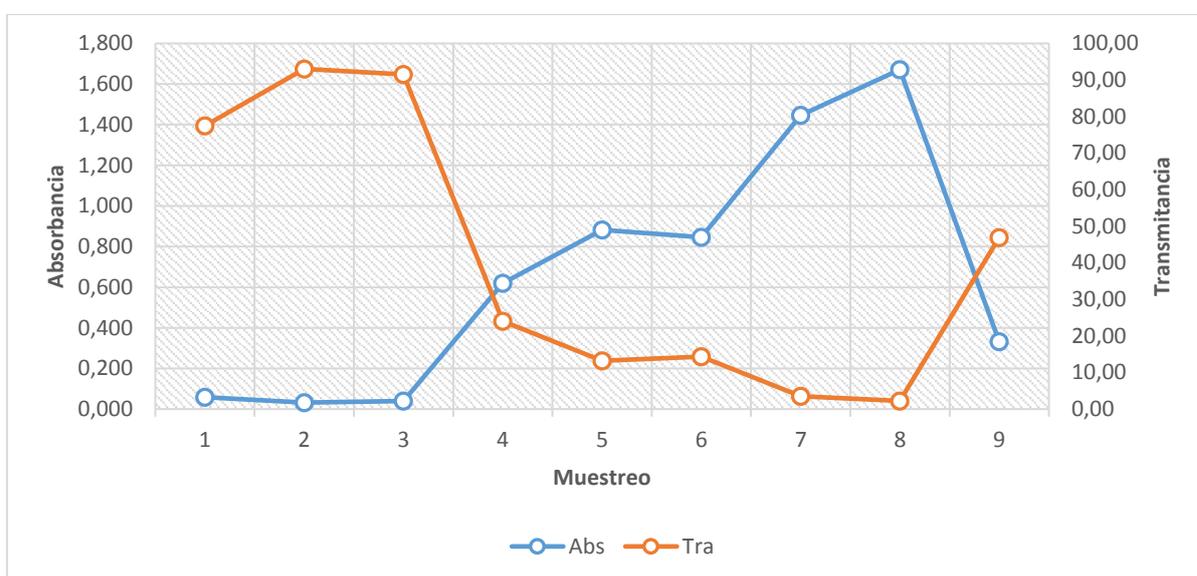


**Grafica 4.1.** Producción de biomasa (tratamientos I1T1, I1T2, I1T3 e I2T2)

En la gráfica 4.2, se pueden observar los tratamientos I2T1 e I3T3, en el ciclo de muestreo, en ambos casos se determinaron líneas de tendencias de crecimiento similares en la producción de biomasa, por lo que se presentan fusionados en el mismo gráfico para su análisis

Las condiciones iniciales establecidas en el medio de cultivo para la evaluación de biomasa en *S. cerevisiae* fueron idóneas, permitiendo superar satisfactoriamente la fase de adaptación. Durante la segunda y cuarta hora de muestreo, el cultivo de levadura ingreso en fase de muerte, posteriormente a la

cuarta hora empezó estuvo en fase estacionaria con ligera aceleración hasta la hora seis de muestreo, se produjo fase exponencial entre la sexta y octava hora de muestreo, la cual experimenta signos de desaceleración, el punto de unión entre las líneas de tendencia correspondiente a la transmitancia y absorbancia se da entre las horas ocho y 10 de muestreo, entre la octava y decima hora el cultivo estuvo fase de aceleración, donde se produjo desaceleración, dando muestras aparentes de fase de muerte entre las horas 10 y 12 de muestreo, se produjo un leve aceleración con signos de letargo entre las horas 12 y 48 de muestreo. A partir de la hora 48 de muestreo, el cultivo de *S. cerevisiae* inicio fase de muerte hasta la hora 72 de muestreo.

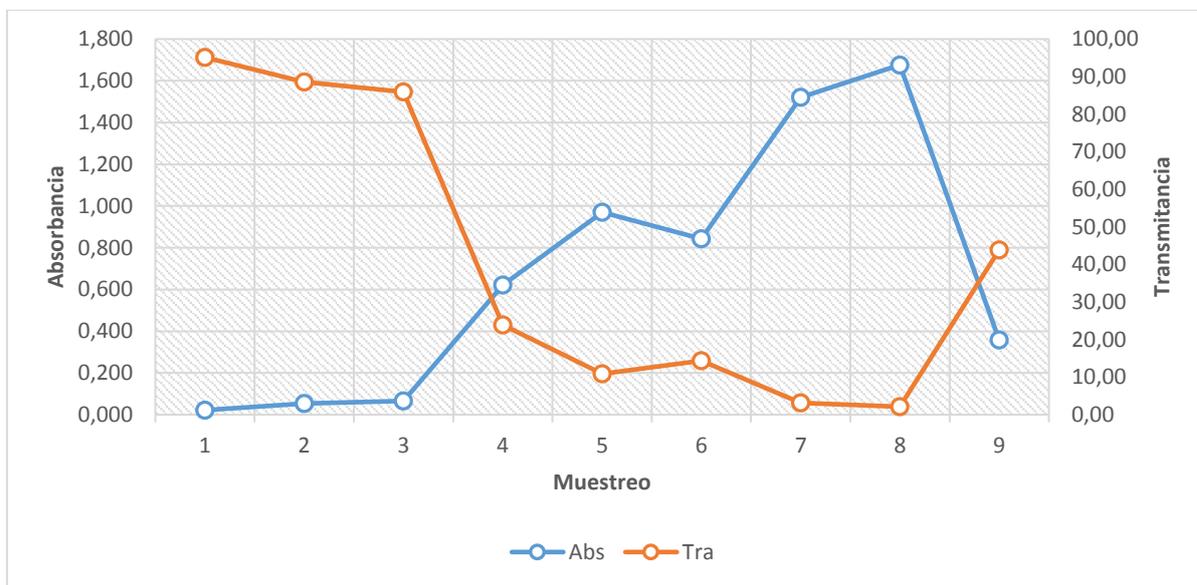


**Grafica 4.2.** Producción de biomasa (Tratamientos I2T1 e I3T3)

En las grafica 4.3, se pueden observar los tratamientos I2T3, I3T1 e I3T2 en el ciclo de muestreo, en los tres casos se determinaron líneas de tendencias de crecimiento similares en la producción de biomasa, por lo que se presentan fusionados en el mismo grafico para su análisis.

Las condiciones iniciales establecidas en el medio de cultivo para la evaluación de biomasa en *S. cerevisiae* fueron idóneas, permitiendo superar satisfactoriamente la fase de adaptación. Desde la segunda hora de muestreo el cultivo de levadura inicio su crecimiento, la cual, empezó en fase de aceleración durante la segunda y sexta hora de muestreo, seguido de fase exponencial entre la sexta y octava hora de muestreo coincidiendo con el punto de unión de las líneas de tendencia correspondiente a la transmitancia y absorbancia, la cual

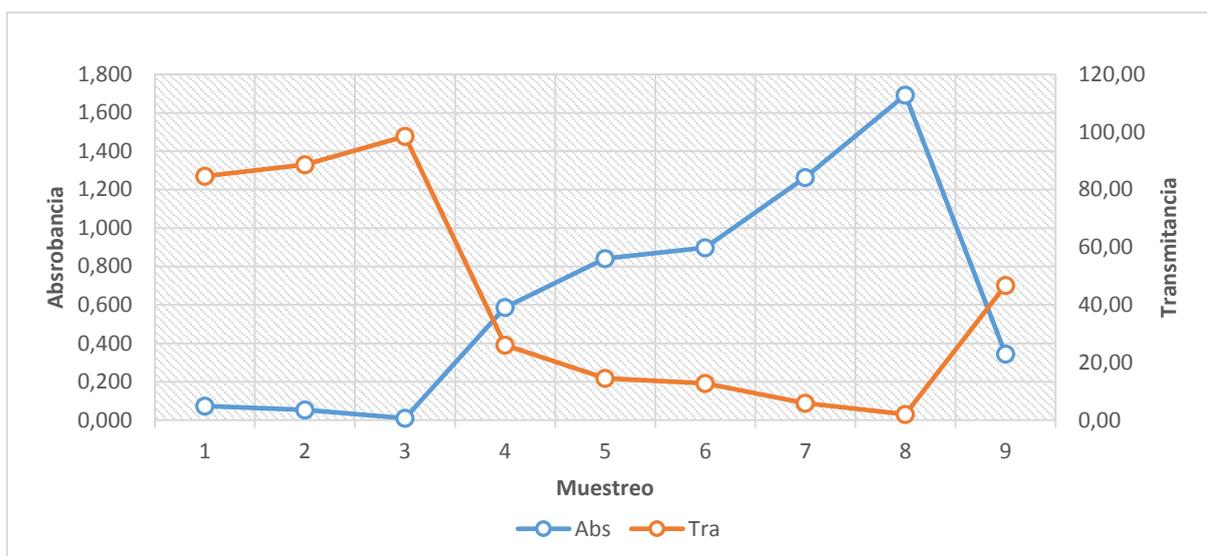
experimenta signos de desaceleración durante la hora ocho de muestreo, y se mantiene en fase de aceleración hasta la hora 10 de muestreo, iniciando fase de muerte entre las horas 10 y 12 de muestreo, seguido de una fase de aceleración entre las horas 12 y 48 de muestreo. A partir de la hora 48 de muestreo, el cultivo de *S. cerevisiae* inicio fase de muerte hasta la hora 72 de muestreo.



**Grafica 4.3** Producción de biomasa (Tratamientos I2T3, I3T1 e I3T2).

En la gráfica 4.4, se puede observar el tratamiento T0 en el ciclo de muestreo, el cual presento una línea de tendencia de crecimiento en la producción de biomasa distinta de los otros tratamientos.

Las condiciones iniciales establecidas en el medio de cultivo para la evaluación de biomasa en *S. cerevisiae* fueron idóneas, permitiendo superar satisfactoriamente la fase de adaptación. Durante la segunda y sexta hora de muestreo, el cultivo de levadura ingreso en fase muerte, luego se produjo fase exponencial entre la sexta y octava hora de muestreo donde también se produce el punto de unión entre las líneas de tendencia correspondientes a la transmitancia y absorbancia, la cual desacelera, conllevando a que, desde octava hasta la hora 48 de muestreo el cultivo se mantenga en fase de aceleración. A partir de la hora 48 de muestreo, el cultivo de *S. cerevisiae* inicio fase de muerte hasta la hora 72 de muestreo.



**Grafica 4.4.** Producción de biomasa para el testigo

De acuerdo a las gráficas presentadas anteriormente, se observa diferencias en las líneas de tendencia de crecimiento de los tratamientos. Los mejores comportamientos a lo largo de las evaluaciones de biomasa la obtuvieron los tratamientos I2T3, I3T1, I3T2. En la gráfica 4.3, muestran signos de crecimiento desde la hora dos hasta la hora 48 de muestreo, indicando inicio rápido de producción de biomasa, colonización del medio y que deriva en mejor actividad antagonista.

## **4.2 ACTIVIDAD ANTAGONISTA DE LA LEVADURA *S. cerevisiae***

### **ACTIVIDAD ANTAGONISTA DE LA LEVADURA *S. cerevisiae* frente a *Colletotrichum sp.*, A LAS 72 HORAS DE APLICADO EL TRATAMIENTO**

En el cuadro 4.3, se muestran los datos promedios para la variable actividad antagonista de la levadura vs *Colletotrichum sp.*, a las 72 horas de aplicado el tratamiento, el análisis de varianza no determino diferencias estadísticas para el factor I (intensidad), factor T (tiempo), la interacción (I x T) y para la comparación factorial versus testigo.

### **ACTIVIDAD ANTAGONISTA DE LA LEVADURA *S. cerevisiae* frente a *Colletotrichum sp.*, A LAS 120 HORAS DE APLICADO EL TRATAMIENTO**

En el cuadro 4.3, se muestran los datos promedios de la variable actividad antagonista de la levadura vs *Colletotrichum sp.*, a las 120 horas de ser aplicado el tratamiento, el análisis de varianza no determino diferencias estadísticas para

el factor I (intensidad), en cambio para el factor T (tiempo) y la interacción (I x T) determino diferencias altamente significativas, y para la comparación factorial versus testigo la diferencia fue estadísticamente significativa.

En la prueba de significancia determino dos rangos de similitud estadística en el factor T, donde T2 (5 min) destaco con mejor actividad antagónica con 38,56%, por otro lado, T1 (1 min) con 0% no ejerció actividad antagónica.

Para la interacción (I x T) la prueba de significancia determino dos rangos de similitud estadística, el tratamiento I2T3 (30 gauss por 10 minutos) se destacó por ejercer mejor antagonismo con 59,8%, en cambio los tratamientos I1T1 (15 gauss por 1 minuto), I1T2 (15 gauss por 5 minuto), I1T3 (15 gauss por 10 minuto) y I3T1 (45 gauss por 1 minuto) con 0% no lograron ejercer ningún efecto antagónico.

En la prueba de significancia realizada en el factorial versus los testigos, determino dos rangos de similitud estadística donde los factores T e I destacaron con mejor actividad antagónica con 16,46%, y el testigo con 0% no logro ejercer ningún efecto antagónico frente a *Colletotrichum sp.*

#### **ACTIVIDAD ANTAGONISTA DE LA LEVADURA *S. cerevisiae* frente a *Colletotrichum sp.*, A LAS 168 HORAS DE APLICADO EL TRATAMIENTO**

En el cuadro 4.3, se muestran los datos promedios de la variable actividad antagonista de la levadura vs *Colletotrichum sp.* 168 horas después de ser aplicado el tratamiento, el análisis de varianza no determino diferencias estadísticas significativas para el factor I (intensidad), factor T (tiempo) y la interacción (I x T). En cambio, para la comparación factorial versus testigo la diferencia fue estadísticamente significativa.

En la prueba de significancia realizada en el factorial versus testigo, determino dos rangos de similitud estadística siendo los factores T e I con 18,45% en ambos casos, los que destacaron con mejor actividad antagónica, en cambio el testigo con 5,33% obtuvo el menor porcentaje de actividad antagónica.

#### **ACTIVIDAD ANTAGONISTA DE LA LEVADURA *S. cerevisiae* frente a *Rhizopus sp.*, A LAS 72 HORAS DE APLICADO EL TRATAMIENTO**

En el cuadro 4.3, se muestran los datos promedios de la variable actividad

antagonista de la levadura vs *Rhizopus sp.*, 72 horas después de ser aplicado el tratamiento, donde el análisis de varianza no determino diferencias estadísticas significativas para el factor I (intensidad), para el factor T (tiempo) determino diferencias altamente significativas, en la interacción (I x T) y la comparación factorial versus testigo determino diferencias significativas.

En la prueba de significancia realizada al factor T (tiempo), determino dos rangos de similitud estadística, siendo el factor T3 (10 minutos) con 11.06% el que presento mejor actividad antagonista, en cambio T1 (1 minuto) obtuvo la menor actividad antagónica con 1,39%.

Para la interacción (I x T), la prueba de significancia estableció dos rangos de similitud estadística, donde la mejor actividad antagónica correspondió a los tratamientos I2T3 (30 gauss por 10 minutos) e I3T3 (45 gauss por 10 minutos) con 12,5% en ambos casos, en cambio los tratamientos 1 (I1T1) y 7 (I3T1) con 0% no ejercieron actividad antagónica.

En la prueba de significancia realizada al factorial versus testigo, determino dos rangos de similitud estadística, la mejor actividad antagonista con 6,43% la obtuvieron los factores T e I, por otro lado, el testigo con 0% no logro ejercer actividad antagónica frente a *Rhizopus sp.*

#### **ACTIVIDAD ANTAGONISTA DE LA LEVADURA *S. cerevisiae* frente a *Rhizopus sp.*, A LAS 120 HORAS DE APLICADO EL TRATAMIENTO**

En el cuadro 4.3, se muestran los datos promedios de la variable actividad antagonista de la levadura vs *Rhizopus sp.*, 120 horas después de ser aplicado el tratamiento. El análisis de varianza no determino diferencias estadísticas significativas para el factor I (intensidad), para el factor T (tiempo) determino diferencias estadísticas altamente significativas, en la interacción (I x T) y la comparación factorial versus testigo se determinó diferencias estadísticas significativas.

La prueba de significancia realizada al factor T (tiempo), establecio dos rangos de similitud estadística, donde se destacó T3 (10 minutos) con 4,11% de actividad antagónica, en cambio T1(1 minuto) y T2 (5 minutos) con 0% no ejercieron actividad antagónica.

En la interacción (I x T) hubo dos rangos de similitud estadística, donde se destacaron los tratamientos I2T3 (30 gauss por 10 minutos) e I2T2 con 9% y 3,33% respectivamente de actividad antagonica, en cambio los otros tratamientos no lograron ejercer actividad antagónica.

En la prueba de significancia realizada en el factorial versus los testigos determino dos rangos de similitud estadística, siendo los factores T e I quienes destacaron con mayor porcentaje de antagonismo con 1,37% en ambos casos, mientras que el testigo con 0% no logro ejercer actividad antagónica.

### **ACTIVIDAD ANTAGONISTA DE LA LEVADURA *S. cerevisiae* frente a *Rhizopus sp.*, A LAS 168 HORAS DE APLICADO EL TRATAMIENTO**

En el cuadro 4.3, se muestran los datos promedios de la variable actividad antagonista de la levadura vs *Rhizopus sp.*, 120 horas después de ser aplicado el tratamiento, el análisis de varianza no determino diferencias estadísticas para el factor I (intensidad), factor T (tiempo), interacción (I x T) y para la comparación factorial versus testigo.

**Cuadro 4.3.** Actividad antagonista de la levadura *S. cerevisiae* versus Fitopatógenos *Colletotrichum spp.*, y *Rhizopus spp.*, durante siete días. Datos transformados  $\sqrt{x+1}$  para el análisis estadístico

TRATAMIENTOS	Actividad antagonica Levadura vs <i>Colletotrichum sp.</i> (Lev vs Coll)					
	Levadura vs <i>Rhizopus sp.</i> (Lev vs Rhiz)					
	Lev vs. Coll – 72 horas (%)	Lev vs Coll – 120 horas (%)	Lev vs Coll – 168 horas (%)	Lev vs Rhiz – 72 horas (%)	Lev vs Rhiz – 120 horas (%)	Lev vs Rhiz – 168 horas (%)
FACTOR I	NS	NS	NS	NS	*	NS
I1 15 Gauss	11,89	13,11	19,26	6,17	0,00 b	0,00
I2 30 Gauss	27,00	16,33	18,89	7,56	1,11 ab	0,00
I3 45 Gauss	18,22	19,94	17,21	5,56	3,00 a	0,00
FACTOR T	NS	**	NS	**	**	NS
T1 1 min	13,00	0,00 b	6,78	1,39 b	0,00 b	0,00
T2 5 min	26,33	38,56 a	28,29	6,83 a	0,00 b	0,00
T3 10 min	17,78	10,83 b	20,29	11,06 a	4,11 a	0,00
INTERACCIÓN	NS	**	NS	*	*	NS
I1T1	0,00	0,00 b	8,00	0,00 b	0,00 b	0,00
I1T2	13,33	0,00 b	5,67	10,33 ab	0,00 b	0,00
I1T3	22,33	0,00 b	6,67	8,17 ab	0,00 b	0,00
I2T1	25,67	20,83 b	18,67	4,17 ab	0,00 b	0,00
I2T2	30,00	35,00 ab	29,00	6,00 ab	3,33 b	0,00
I2T3	25,33	59,83 a	37,21	12,50 a	9,00 a	0,00
I3T1	13,33	0,00 b	31,10	0,00 b	0,00 b	0,00
I3T2	35,67	18,50 ab	22,00	4,17 ab	0,00 b	0,00
I3T3	5,67	14,00 ab	7,77	12,50 a	0,00 b	0,00
FACTORIAL VS RESTO	NS	*	*	*	*	NS
Testigo absoluto	11,00	0,00 b	5,33 b	0,00 b	0,00 b	0,00
Intensidad	19,04	16,46 a	18,45 a	6,43 a	1,37 a	0,00
Tiempo	19,036	16,46 a	18,45 a	6,426 a	1,37 a	0,00
CV	48,01	37,21	34,89	12,09	7,28	0,00
p	0,818	0,015	0,36	0,0012	0,0001	0,00

\* Diferencia estadística significativa entre los tratamientos

\*\* Diferencia estadística altamente significativa entre los tratamientos

Letras en común no son estadísticamente diferentes

### 4.3 ANÁLISIS DE CORRELACIÓN PARA LAS VARIABLES EN LABORATORIO

El cuadro 4.4, se muestra la matriz de correlación de las variables evaluadas en el trabajo. Se estableció la correlación altamente significativa entre la variable

correspondiente a la evaluación de biomasa a las 8 horas de muestreo con la evaluación de biomasa a las 24 horas de muestreo.

De igual manera se estableció correlación significativa entre la variable actividad antagónica de la levadura *S. cerevisiae* frente *Colletotrichum* a las 120 horas con la actividad antagónica levadura *S. cerevisiae* frente *Colletotrichum* a las 72 horas. Por otro lado, se destaca la correlación significativa que existe entre las variables actividad antagónica levadura *S. cerevisiae* frente *Colletotrichum* a las 168 horas con la variable actividad antagónica levadura *S. cerevisiae* frente *Colletotrichum* a las 72 horas de muestreo.

Asimismo, se determinó la correlación altamente significativa entre las variables actividad antagónica de la levadura *S. cerevisiae* frente *Colletotrichum* a las 168 horas con la actividad antagónica levadura *S. cerevisiae* frente *Colletotrichum* a las 120 horas. También, se estableció la correlación significativa entre la variable actividad antagónica de la levadura *S. cerevisiae* frente *Colletotrichum* a las 168 horas, con la actividad antagónica de la levadura *S. cerevisiae* frente *Rhizopus sp.*, a las 168 horas.

**Cuadro 4.4** Matriz de correlación de las variables analizadas estadísticamente en el trabajo de laboratorio, “Aplicación del electromagnetismo en la levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) y su efecto antagónico en enfermedades poscosecha de la papaya (*Carica papaya* L.)”

	BIOTRA-2H	BIOTRA-4H	BIOTRA-6H	BIOTRA-8H	BIOTRA-10H	BIOTRA-12H	BIOTRA-24H	BIOTRA-48H	BIOTRA-72H	ANT VS COL 3D	ANT VS COL 5D	ANT VS COL 7D	ANT VS RIZ 3D	ANT VS RIZ 5D
BIOTRA-2H	1													
BIOTRA-4H	0,272	1,000												
BIOTRA-6H	0,201	0,165	1,000											
BIOTRA-8H	0,089	0,307	0,288	1,000										
BIOTRA-10H	-0,033	0,199	0,164	0,023	1,000									
BIOTRA-12H	-0,158	0,285	-0,111	0,108	0,150	1,000								
BIOTRA-24H	-0,267	0,037	0,068	0,490**	0,068	0,009	1,000							
BIOTRA-48H	0,282	-0,393	0,232	-0,036	-0,045	-0,354	-0,222	1,000						
BIOTRA-72H	-0,200	-0,305	0,099	-0,088	-0,067	-0,034	-0,020	0,247	1,000					
ANT VS COL 3D	0,077	0,115	0,128	0,059	0,030	-0,080	0,047	-0,174	0,142	1,000				
ANT VS COL 5D	0,117	-0,083	-0,268	0,005	0,126	-0,118	0,003	-0,073	-0,007	0,669**	1,000			
ANT VS COL 7D	0,268	0,002	-0,216	-0,125	0,117	-0,310	0,008	0,254	0,024	0,372*	0,693**	1,000		
ANT VS RIZ 3D	0,242	0,304	-0,037	0,146	0,152	0,266	-0,197	-0,040	-0,034	-0,096	0,068	0,073	1,000	
ANT VS RIZ 5D	-0,050	-0,213	-0,305	-0,187	0,036	0,062	-0,113	0,040	-0,165	0,293	0,678**	0,390*	-0,079	1

$R_{0,05}^*(gl=28) = 0,361$

$R_{0,01}^{**}(gl=28) = 0,463$

Biotra=producción de biomasa por transmitancia. 2h= 2 horas de muestreo. Ant vs Col= Levadura antagonista vs *Colletotrichum*. 3d= tercer día de muestreo. Ant vs Riz= levadura antagonista vs *Rhizopus*. 3d= tercer día de muestreo.

## 4.4 DISCUSIÓN

El campo magnético produce alteración en la producción de biomasa de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* ocasionando su incremento con el tratamiento I3T2 (intensidad de 45 gauss por 5 minutos) en un 15,7% a las seis horas *in vitro* en comparación al control (testigo absoluto). Coincidiendo con los resultados reportados por Álvarez *et al.* (2014), quienes obtuvieron resultados similares, obteniendo un aumento de la producción de biomasa en un 16% más que el control, donde evaluaron las combinaciones electromagnéticas de intensidad por tiempo de 0,04 mT (4 Gauss) / 10 min; 0,21 mT (21 Gauss) / 1 min y 0,39 mT (39 Gauss) / 5 minutos. A su vez Zapata *et al.* (2002) evaluaron campos con densidades de flujo de 20mG (Mili Gauss), frecuencias de 100kHz (KiloHertz) y tiempos de aplicación de 30 segundos, y obtuvo 30% de incremento de biomasa con respecto a un cultivo control.

En lo referente a la actividad antagónica evaluada, la aplicación del electromagnetismo *S. cerevisiae* a diferentes intensidades y tiempos de exposición influyo positivamente en su actividad *in vitro* frente a cepas de *Colletotrichum sp.*, y *Rizhopus sp.*, aisladas de frutos de papaya (*Carica papaya* L.). De esta forma se coincide con los resultados obtenidos por Cifuentes, Villaplana y Valencia (2016), quienes evaluaron el efecto de levaduras contra *Colletotrichum sp.*, donde el enfrentamiento dual de *S. cerevisiae* vs *Colletotrichum sp.*, obtuvo 56% de actividad antagónica, resultados aproximados a los mostrados en esta investigación, en la cual el tratamiento I2T3 (intensidad de 30 Gauss por 10 minutos) obtuvo 59,83% de antagonismo *in vitro* frente a *Colletotrichum sp.*, datos apenas superados por la bacteria *Bacillus firmus* en la investigación de Baños *et al.* (2004) en el cual se redujo el crecimiento de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc, en 75,3% y 69,1% en un lapso de 96 horas *in vitro*.

Cabe resaltar que los resultados obtenidos por los investigadores mencionados no incluyen en sus tratamientos ningún nivel de magnetización lo que valora en mayor medida los resultados obtenidos, siendo casi imposible desligarse del efecto del magnetismo, coincidiendo con Georgia State University (USG, 2009), quien menciona que, el planeta Tierra tiene un campo magnético que varía en el

rango de 0,3 a 0,6 Gauss, y de acuerdo a Zapata *et al.* (2002) se considera que los campos magnéticos pueden ejercer efecto inhibitorio, estimulador o no observable y los efectos de estimulación o inhibición se han atribuido a cambios en la síntesis de ADN, en la orientación de las biomoléculas (Proteínas), cambios en las biomembranas (lipídicas y plasmáticas), alteración del flujo de iones a través de la membrana plasmática y/o cambios en la estructura de las biomoléculas, generando como resultado neto una modificación en la velocidad de reproducción celular

De esta forma el tratamiento I2T3 (intensidad de 30 Gauss por 10 minutos) obtuvo 59,83% de antagonismo *in vitro* frente a *Colletotrichum sp.*, lo que le permite ser considerado para su evaluación como biocontrolador en campo, concordando con lo reportado por García (2015) quien menciona que, para que un producto sea considerado como biocontrolador efectivo en campo, debe arrojar al menos 60% de inhibición en la técnica de enfrentamiento dual en laboratorio.

## CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

De acuerdo a los resultados presentados se concluye que:

- ✓ Las intensidades electromagnéticas, tienen relación con el incremento de la producción de biomasa *in vitro* en la levadura *S. cerevisiae*.
- ✓ Someter a tiempos de exposición electromagnéticos a la levadura *S. cerevisiae*, causa incremento de la producción de biomasa *in vitro*.
- ✓ La aplicación de intensidades electromagnética a *S. cerevisiae*, aumento la actividad antagonista en el cultivo dual *in vitro* frente a *Colletotrichum sp.*, y *Rhizopus sp.*
- ✓ El sometimiento de *S. cerevisiae* a tiempos de exposición electromagnética, aumento la actividad antagonista en el cultivo dual *in vitro* frente a *Colletotrichum sp.*, y *Rhizopus sp.*
- ✓ El efecto del electromagnetismo en la producción de la biomasa de *S. cerevisiae*, derivó en mayor población de individuos por tiempo y espacio, esto conllevó a la obtención de mejor actividad antagonista frente a *Colletotrichum sp.*, y *Rhizopus sp.*

De acuerdo a las conclusiones presentadas, se recomienda lo siguiente:

- ✓ Evaluar a nivel de campo a *S. cerevisiae* sometida a 30 Gauss de intensidad electromagnética por 10 minutos como agente biocontrolador de *Colletotrichum sp.*, en poscosecha de frutos de papaya.
- ✓ Se recomienda realizar una investigación considerando los mejores tratamientos evaluados en combinación con otras prácticas poscosecha que permitan controlar los cambios fisiológicos y físico-químicos del fruto de papaya, citando como ejemplo la atmósfera modificada.
- ✓ Incrementar el estudio del magnetismo en la agricultura, motivo de investigación y análisis de los mejores equipos de científicos a nivel mundial.

## BIBLIOGRAFÍA

- Alcalde, P. 2011. Electrotecnia, Madrid : Paraninfo S.A
- Almeida, A; Reis, J; Santos, D. 2011. Estudio de la conservacion de la papaya (*Carica papaya* L.) asociado a la aplicacion de peliculas comestibles. Revista venezolana de ciencia y tecnologia de alimentos. 49-60.
- Alvarez, A; Amado, E; Quijano, A. 2014. Estudio del efecto de los campos electromagneticos sobre la produccion de biomasa en *Saccharomyces cerevisiae* variedad Rhone. Facultad de ciencias basicas. 14-23.
- Alvarez, L; Figueroa, T. 2012. Magnetismo y sus funciones. Congreso de investigacion. (págs 2-6). Mexico DF. Ciencias fisico matematicas.
- Anaya, M; Barbara, E; Padron, J. 2012. Efecto del campo magnetico en los microorganismos presentes en melaza. Biomedica. 325-336. Obtenido de Universidad de la Habana. Instituto de farmacia y alimentos.
- Arredondo, B; Voltolina, D. 2007. Concentracion, recuento celular y tasa de crecimiento. Investigaciones biologica del noroeste, 21-29.
- Astorga, K; Meneses, K; Zuñiga, C. 2014. Evaluación del antagonismo de *Trichoderma* sp. y *Bacillus subtilis* contra tres patógenos del ajo. *Tecnologia en Marcha*, 82-91.
- Baños, P; Zavaleta, E; Colinas, M. 2004. Control Biológico de *Colletotrichum gloeosporioides* [(Penz.) Penz y Sacc] en Papaya Maradol Roja (*Carica papaya* L.) y Fisiología Postcosecha de Frutos Infeccionados. *Revista mexicana de fitopatologia*. 198-205.
- Barandiaran, J. 2003. El magnetismo en la vida cotidiana. Bilbao: Euskal Herriko Unibertsitatea.
- Companioni, B. 2013. Tratamientos magneticos presiembra en semillas de maiz (*Zea mays* L). Maximo Gomez Baez, 1-49.
- Carbonell, M; Florez, M; Martinez, E; Maqueda, R; Amaya, J. 2011. Study of stationary magnetic fields on initial growth of pea (*Pisum sativum* L.). Science and Technology. 673-679.
- Carbonell, M; Martinez, E; Florez, M. 2013. Tratamiento magnetico como tecnica estimulante de la germinacion de semillas de Soja. EIDENAR. 119 - 217.
- Carrillo, J; Garcia, R; Rangel, M. 2005. Control Biológico de Antracnosis [*Colletotrichum gloeosporioides*] y su Efecto en la Calidad Postcosecha Revista Mexicana de Fitopatologia. 24-32.
- CAB (Centro Atomico Bariloche). 2012. Magnetismo en la vida diaria. Obtenido de Investigacion y desarrollo en ciencia y tecnologia. Formacion de recursos humanos de alto nivel: <http://www.cab.cnea.gov.ar>
- Cifuentes, C; Villaplana, R; Valencia, S. 2016. Actividad antagonista *in vitro* de diferentes agentes de control biologico contra *Alternaria* sp. y *Colletotrichum* sp. Agronomia Colombiana. 581.
- Evans, E; Ballen, F. 2012. Una mirada a la produccion . Universidad de Florida,

1.

- Facultad de Ciencias bioquímicas y Farmacéuticas. 2017. Microbiología .  
*Posgrado Farmacia*, 1-28.
- Fialho, M. 2005. Efeito *in vitro* de *Saccharomyces cerevisiae* sobre *Guignardia citricarpa*, agente causal de la pinta preta dos citros. Sao Carlos: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz.
- Franco, A. 2016. Campo magnetico producido por una corriente circular en un punto de su eje. Obtenido de Curso interactivo de fisica en internet: <http://www.sc.ehu.es/>
- Garcia, L. 2015. Evaluacion del antagonismo de cepas de *trichoderma spp.* frente a cepas de *Fusarium spp.* y *Colletotrichum spp.* aisladas de cultivos de organicos de sabila (*Aloe vera*) y Arandano . Teckne Colombia, 56-66.
- (USG) Georgia State University. 2009. Campo Magnetico de la Tierra. Obtenido de hyperphysics: <http://hyperphysics.phy-astr.gsu.edu>
- Hernandez, M. 2017. Transmitancia, absorbancia y ley de Lambert - Beer. Obtenido de Toxicologia Ambiental: <http://repositorio.innovacionumh.es>
- Hernandez, N; Bautista, S. 2007. Uso de microorganismos antagonistas en el control de enfermedades postcosecha en frutos. *Revista mexicana de fitopatologia*. 66-74.
- Herrera, L y Mayea, S. 1994. Fitopatologia General. Habana: Felix Varela.
- Hincapie, E; Torres, J; Bueno, L. 2010. Efecto del campo magnetico sobre la germinacion de la *Leucaena leucocephala*. *Scientia at Technica* año XVI. 337 - 341.
- Hunter, B. 1998. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Virginia: Fourth Edition.
- Karabulut, O; Baykal, N. 2004. Integrated control of postharvest diseases of peaches with a yeast antagonist, hot water and modified atmosphere packaging. *Crop Protection*. 431-435.
- Kupper, K; Lima, A; Nadjara, M; DaSilva, A. 2013. Evaluación de microorganismos antagonicos, *Saccharomyces cerevisiae* y *Bacillus subtilis* para el control de *Penicillium Digitatum*. *Revista Brasileña de Fruticultura*. 425-436.
- Lopez, L. 2016. Curva de crecimiento bacteriano en la produccion de proteinas recombinantes. Programa de vinculacion de cientificos y tecnólogos , 15-27.
- Martinez, E. 2008. Efecto de la exposicion a campos magneticos estacionarios de 125 mT y 250 mT en la germinacion de semillas de guisante. *Politecnica de Madrid*. 59 - 60.
- Moustafa, E; Mohamed, F. 2008. Application of *Saccharomyces cerevisiae* as a biocontrol agent against *Fusarium* infection of sugar beet plants. *Biologica Szegediensis*. 271-275.
- Perez, A. 2002. La naturaleza, el hombre y el magnetismo . *Revista Cubana de Medicina General Integrada*, 73-75.

- Quin, G; Shiping, T. 2004. Biocontrol of postharvest diseases on sweet cherries by four antagonistic yeasts in different storage conditions. *Postharvest Biology and Technology*. 51-58.
- Quinto, W. 2001. Las pérdidas poscosecha en productos hortícolas. *Revista Industrial del campo*. 1.
- Reitz, J; Milford, F; Christy; Robert. 1996. *Fundamentos de la teoría electromagnética*. Barcelona: Addison - Wesley - Iberoamericana.
- Reyes, A., Alejo, J., & Ruiz, E. (2012). Inhibición del crecimiento *in vitro* de *Fusarium* sp. aislado de chile habanero (*Capsicum chinensis*) con hongos antagonistas. *Fitosanidad*, 161-165
- Rodriguez, A; Suarez, S; Palacio, D. 2014. Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud. *Revista Cubana de higiene y epidemiología*, 372-387.
- Rujo, I; Garcia, R; Sañudo, A. 2017. Proceso de infección de antracnosis por *Colletotrichum truncatum* en Papaya Maradol. *Revista Brasileña de Fruticultura*. 1-5.
- Rubio, V; Fereres, A. 2005. *Control biológico de plagas y enfermedades de los cultivos*. Madrid: Departamento de protección vegetal
- Salas, R. 2012. *Modelado y simulación de bobinas con núcleo magnético de ferrita para aplicaciones industriales*, Madrid: Vision Libro.
- Sañudo, A; Baez, M, 2011. La calidad poscosecha de la papaya mexicana. Obtenido de Sagarpa: <http://sistemanodalsinaloa.gob.mx>
- Sarta, J; Bobadilla, J. 2004. *Campo Magnético y sus efectos biológicos*. Universidad Distrital Francisco José De Caldas. 13-16.
- Sobrino, R; Soriano, M; Porras, A. 2005. Control biológico de *Fusarium oxysporum* f. sp. melonis raza 1.2 con antagonistas. Obtenido de Proyectos UCLM: <https://previa.uclm.es>
- Sociedad Española de Microbiología. (2014). Clave dicotómica para la identificación de hongos sistemáticamente en el ambiente. Obtenido de Especial Hongos filamentosos y levaduras: <https://www.semic microbiologia.org>
- Tagueña, J; Martina, E. 2017. De la Brújula al Espin. El magnetismo. Obtenido de Biblioteca Digital Ilce México: <http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx>
- Torres, C; Diaz, J; Cabal, P. 2008. Efecto de campos magnéticos en la germinación de semillas de arroz (*Oryza sativa* L.) y tomate (*Solanum lycopersicum* L.). *Agronomía Colombiana*. 177-185.
- Velazques, M; Bautista, S; Hernandez, A. 2008. Estrategias de Control de *Rhizopus stolonifer* Ehrenb. (Ex Fr.) Lind, Agente Causal de Pudriciones. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 49-55.
- Velez, L. 2008. *Materiales industriales. Teoría y aplicaciones*. Medellín: Instituto Tecnológico Metropolitano,
- Vera, L. 2006. Etiología, monitoreo y control de enfermedades fúngicas de Papaya Maradol (*Carica papaya* L.) en poscosecha en el Cantón Bolívar

2005. Bolivar: ESPAM MFL.

Zavala, M; Tun, J; Ruiz, E. 2005. Control postcosecha de la antracnosis en papaya y sensibilidad de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. a fungicidas organosintéticos. Revista chapingo serie horticultura. 251-255.

Zapata, J; Moreno, G; Marquez, E. 2002. Efectos de los campos magnéticos sobre el crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae*. Revista Interciencia, 544-550.

# **ANEXOS**

## Anexo 1. Levadura comercial de la marca “Levapan”



### 1-A. Composición de la levadura “Levapan” de 500 g

Levadura activa	175 g
Solidos	32% -34%
Agua	-

## Anexo 2. Evaluación de biomasa de la levadura *S. cerevisiae*

2-A. Variable producción de biomasa de la levadura *S. cerevisiae* a las dos horas de muestreo

FV	GL	SC	CM	F	Nivel de significancia
Repetición	2	18,20	9,10	0,13	NS
Tratamiento	9	1726,43	191,83	2,98	NS
Tiempo	2	395,23	197,61	2,73	NS
Intensidad	2	93,14	46,57	0,64	NS
Tiempo x Intensidad	4	1090,21	272,55	3,77	*
Testigo vs Resto	1				
Error	18	1158,00	72,37		
Total	29	2754,78			

**2-B.** Variable producción de biomasa de la levadura *S. cerevisiae* a las cuatro horas de muestreo

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Nivel de significancia</b>
<b>Repetición</b>	2	54,53	27,26	1,68	NS
<b>Tratamiento</b>	9	729,19	81,02	4,97	*
<b>Tiempo</b>	2	469,79	234,89	14,49	**
<b>Intensidad</b>	2	106,17	53,08	3,27	NS
<b>Tiempo x intensidad</b>	4	146,89	36,72	2,27	NS
<b>Testigo vs, resto</b>	1				
<b>Error</b>	18	259,39	16,21		
<b>Total</b>	29	1036,76			

**2-C.** Variable producción de biomasa de la levadura *S. cerevisiae* a las seis horas de muestreo

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Nivel de significancia</b>
<b>Repetición</b>	2	259,11	129,56	7,37	**
<b>Tratamiento</b>	9	648,33	72,04	1,64	NS
<b>Tiempo</b>	2	177,02	88,51	5,04	*
<b>Intensidad</b>	2	178,02	89,01	5,06	*
<b>Tiempo x intensidad</b>	4	70,98	17,74	1,01	NS
<b>Testigo vs, resto</b>	1				
<b>Error</b>	18	281,20	17,57		
<b>Total</b>	29	966,33			

**2-D.** variable producción de biomasa de la levadura *S. cerevisiae* a las ocho horas de muestreo

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Nivel de significancia</b>
<b>Repetición</b>	2	5,23	2,61	0,97	NS
<b>Tratamiento</b>	9	52,23	5,80	1,70	NS
<b>Tiempo</b>	2	22,07	11,03	4,08	*
<b>Intensidad</b>	2	10,69	5,34	1,98	NS
<b>Tiempo x intensidad</b>	4	14,10	3,52	1,30	NS
<b>Testigo vs, resto</b>	1				
<b>Error</b>	18	43,29	2,71		
<b>Total</b>	29	95,37			

**2-E.** Variable producción de biomasa de la levadura *S. cerevisiae* a las 10 horas de muestreo

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Nivel de significancia</b>
<b>Repetición</b>	2	6,70	3,35	0,80	NS
<b>Tratamiento</b>	9	44,66	4,96	1,32	NS
<b>Tiempo</b>	2	7,76	3,88	0,93	NS
<b>Intensidad</b>	2	11,37	5,68	1,36	NS
<b>Tiempo x intensidad</b>	4	21,00	5,25	1,26	NS
<b>Testigo vs, resto</b>	1				
<b>Error</b>	18	66,86	4,18		
<b>Total</b>	29	113,69			

**2-F.** Variable producción de biomasa de la levadura *S. cerevisiae* a las 12 horas de muestreo

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Nivel de significancia</b>
<b>Repetición</b>	2	3,00	1,50	0,32	NS
<b>Tratamiento</b>	9	20,77	2,31	0,53	NS
<b>Tiempo</b>	2	0,95	0,47	0,10	NS
<b>Intensidad</b>	2	9,40	4,70	0,99	NS
<b>Tiempo x intensidad</b>	4	5,70	1,42	0,30	NS
<b>Testigo vs, resto</b>	1				
<b>Error</b>	18	75,60	4,72		
<b>Total</b>	29	94,65			

**2-G.** Variable producción de biomasa de la levadura *S. cerevisiae* a las seis horas de muestreo

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Nivel de significancia</b>
<b>Repetición</b>	2	1,95	0,97	1,71	NS
<b>Tratamiento</b>	9	18,82	2,09	1,79	NS
<b>Tiempo</b>	2	0,03	0,01	0,03	NS
<b>Intensidad</b>	2	0,72	0,36	0,63	NS
<b>Tiempo x intensidad</b>	4	1,34	0,34	0,59	NS
<b>Testigo vs, resto</b>	1				
<b>Error</b>	18	9,12	0,57		
<b>Total</b>	29	13,17			

**2-H.** Variable producción de biomasa de la levadura *S. cerevisiae* a las seis horas de muestreo

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Nivel de significancia</b>
<b>Repetición</b>	2	1,45	0,73	1,09	NS
<b>Tratamiento</b>	9	5,89	0,65	1,06	NS
<b>Tiempo</b>	2	0,61	0,30	0,45	NS
<b>Intensidad</b>	2	2,33	1,17	1,74	NS
<b>Tiempo x intensidad</b>	4	2,57	0,64	0,96	NS
<b>Testigo vs, resto</b>	1				
<b>Error</b>	18	10,69	0,67		
<b>Total</b>	29	17,66			

**2-I.** Variable producción de biomasa de la levadura *S. cerevisiae* a las 72 horas de muestreo

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Nivel de significancia</b>
<b>Repetición</b>	2	0,20	0,10	0,16	NS
<b>Tratamiento</b>	9	3,63	0,40	0,51	NS
<b>Tiempo</b>	2	0,42	0,21	0,33	NS
<b>Intensidad</b>	2	0,54	0,27	0,42	NS
<b>Tiempo x intensidad</b>	4	2,66	0,67	1,03	NS
<b>Testigo vs, resto</b>	1				
<b>Error</b>	18	10,32	0,64		
<b>Total</b>	29	14,14			

**Anexo 3.** Actividad antagonista de la levadura *S. cerevisiae* frente a *Colletotrichum sp.*, y *Rhizopus sp.*

**3-A.** Actividad antagonista de la levadura *S. cerevisiae* frente a *Colletotrichum sp.*, a las 72 horas de aplicado el tratamiento

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Nivel de significancia</b>
<b>Repetición</b>	2	9,92	4,96	0,91	NS
<b>Tratamiento</b>	9	27,09	3,01	0,55	NS
<b>Tiempo</b>	2	6,67	3,33	0,60	NS
<b>Intensidad</b>	2	9,99	4,99	0,89	NS
<b>Tiempo x intensidad</b>	4	9,33	2,33	0,41	NS
<b>Testigo vs, resto</b>	1				
<b>Error</b>	18	98,4	5,99		
<b>Total</b>	29	135,41			

**3-B.** Actividad antagonista de la levadura *S. cerevisiae* frente a *Colletotrichum sp.*, a las 120 horas de aplicado el tratamiento.

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Nivel de significancia</b>
<b>Repetición</b>	2	4,59	2,3	0,82	NS
<b>Tratamiento</b>	9	82,29	9,14	3,80	*
<b>Tiempo</b>	2	53,72	26,76	8,76	**
<b>Intensidad</b>	2	1,68	0,84	0,28	NS
<b>Tiempo x intensidad</b>	4	21,12	5,28	6,67	**
<b>Testigo vs, resto</b>	1				
<b>Error</b>	18	50,41	2,80		
<b>Total</b>	29	137,29			

**3-C.** Actividad antagonista de la levadura *S. cerevisiae* frente a *Colletotrichum sp.*, a las 168 horas de aplicado el tratamiento

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Nivel de significancia</b>
<b>Repetición</b>	2	5,48	2,74	0,93	NS
<b>Tratamiento</b>	9	31,47	3,41	4,05	*
<b>Tiempo</b>	2	16,67	8,33	2,68	NS
<b>Intensidad</b>	2	0,07	0,03	0,01	NS
<b>Tiempo x intensidad</b>	4	10,55	2,64	3,70	NS
<b>Testigo vs, resto</b>	1				
<b>Error</b>	18	55,89	3,11		
<b>Total</b>	29	89,78			

**3-D.** Actividad antagonista de la levadura *S. cerevisiae* frente a *Rhizopus sp.*, a las 72 horas de aplicado el tratamiento

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Nivel de significancia</b>
<b>Repetición</b>	2	0,04	0,02	0,09	NS
<b>Tratamiento</b>	9	10,88	1,21	5,42	*
<b>Tiempo</b>	2	6,98	3,49	15,49	**
<b>Intensidad</b>	2	0,36	0,18	0,80	NS
<b>Tiempo x intensidad</b>	4	1,67	0,42	4,86	*
<b>Testigo vs, resto</b>	1				
<b>Error</b>	18	4,02	0,23		
<b>Total</b>	29	14,94			

**3-E. Actividad antagonista de la levadura *S. cerevisiae* frente a *Rhizopus sp.*, a las 120 horas de aplicado el tratamiento**

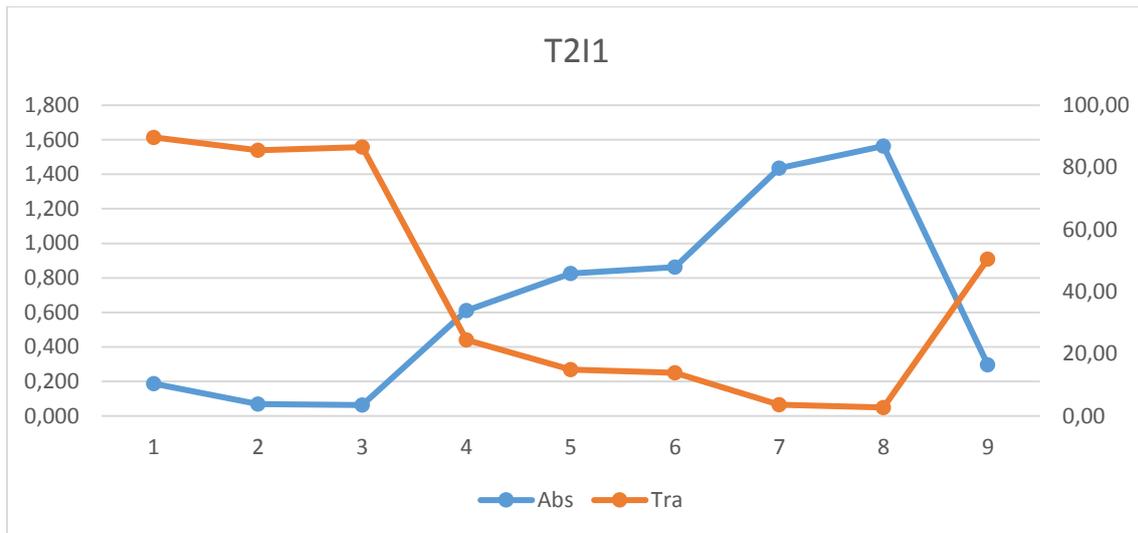
FV	GL	SC	CM	F	Nivel de significancia
Repetición	2	0,12	0,06	4,01	*
Tratamiento	9	4,07	0,45	5,73	*
Tiempo	2	1,78	0,89	13,67	**
Intensidad	2	0,73	0,37	5,64	*
Tiempo x intensidad	4	1,47	0,37	5,64	*
Testigo vs, resto	1				
Error	18	1,17	0,07		
Total	29	5,15			

**Anexo 4. Producción de biomasa dados por la transmitancia y observancia**

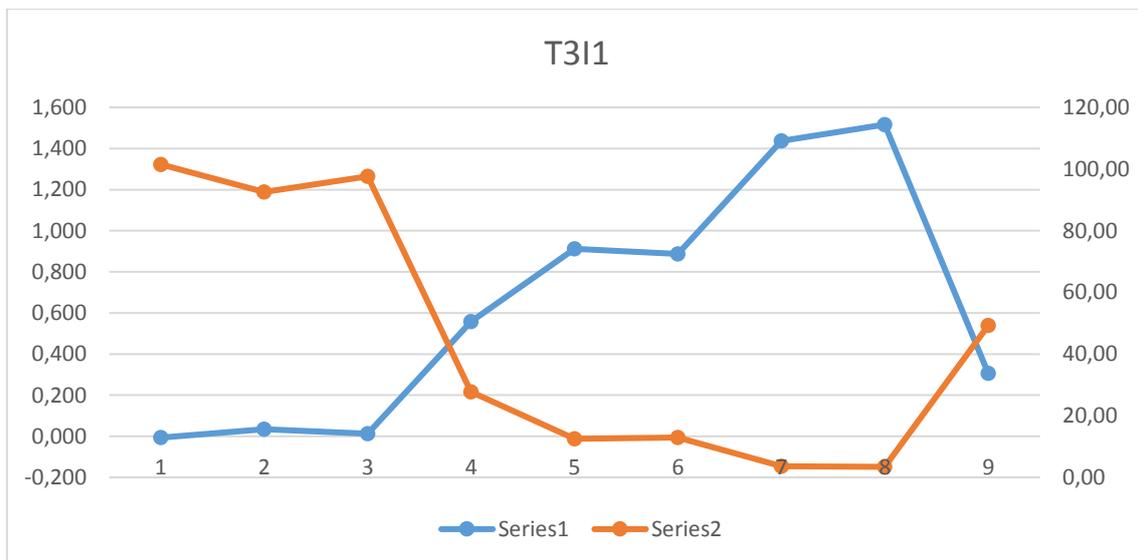
**4.A Producción de biomasa para el tratamiento 1**



#### 4.B Producción de biomasa para el tratamiento 2



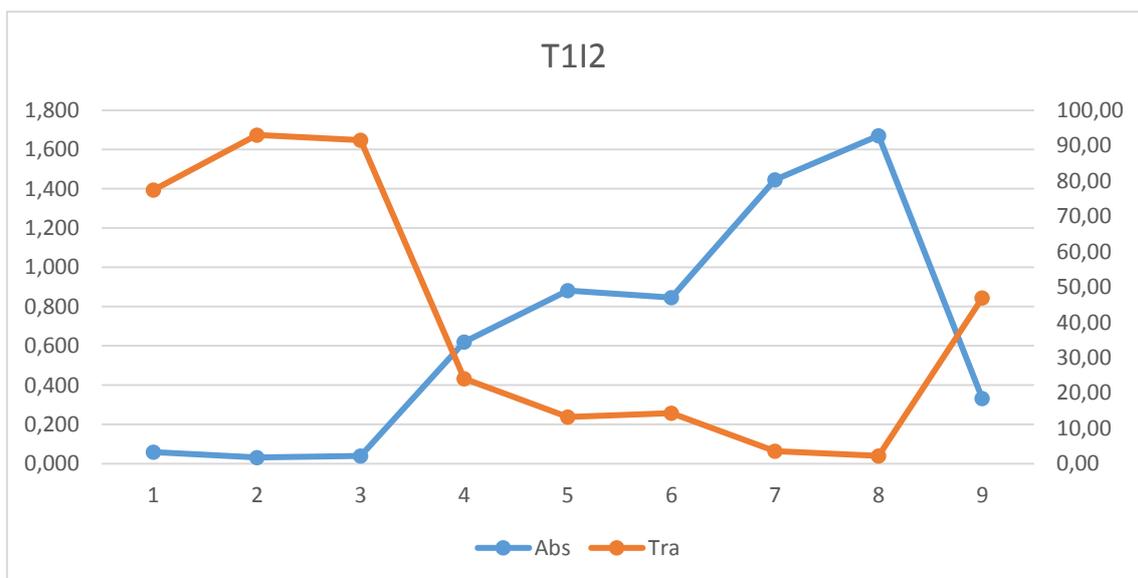
#### 4.C Producción de biomasa para el tratamiento 3



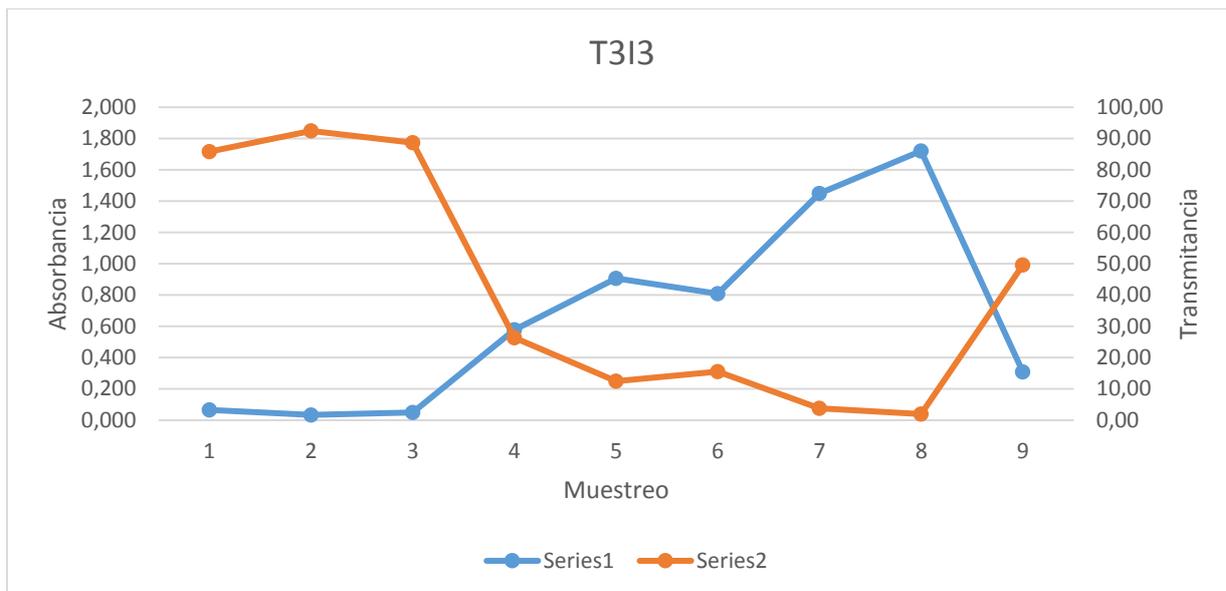
#### 4.D Producción de biomasa para el tratamiento 5



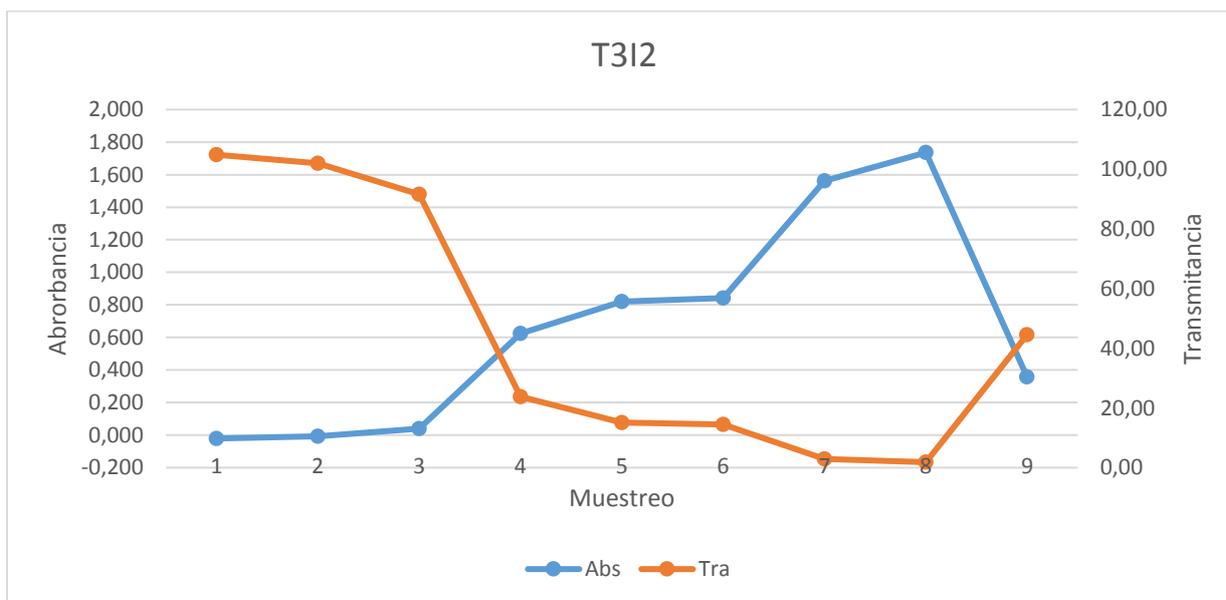
#### 4.E Producción de biomasa para el tratamiento 4



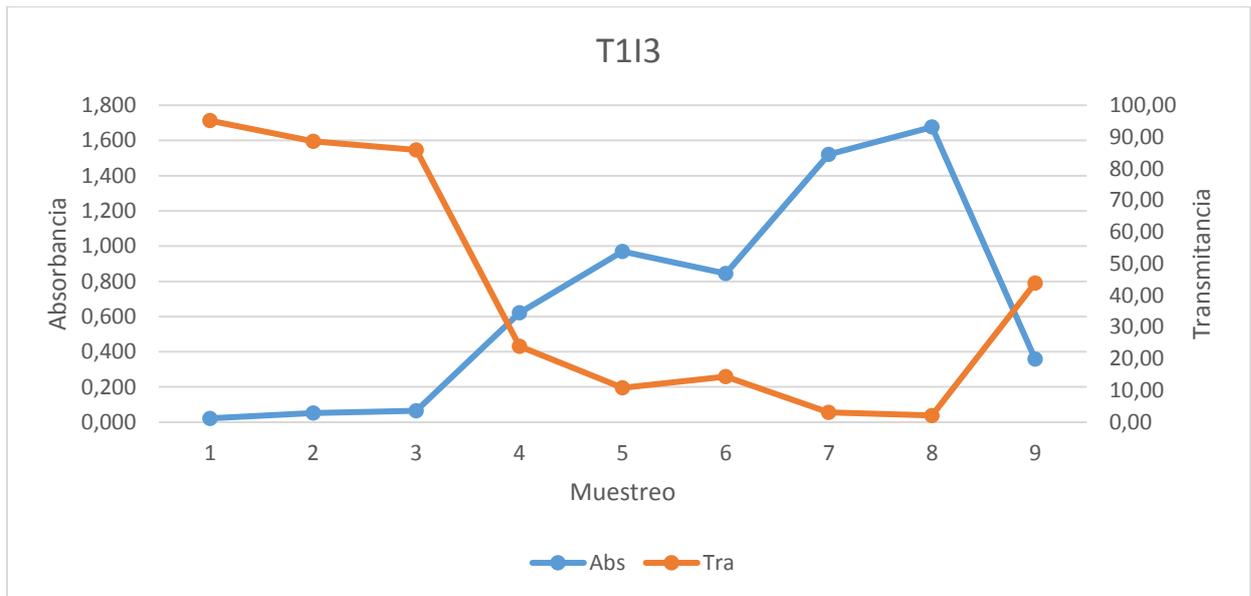
#### 4.F Producción de biomasa para el tratamiento 9



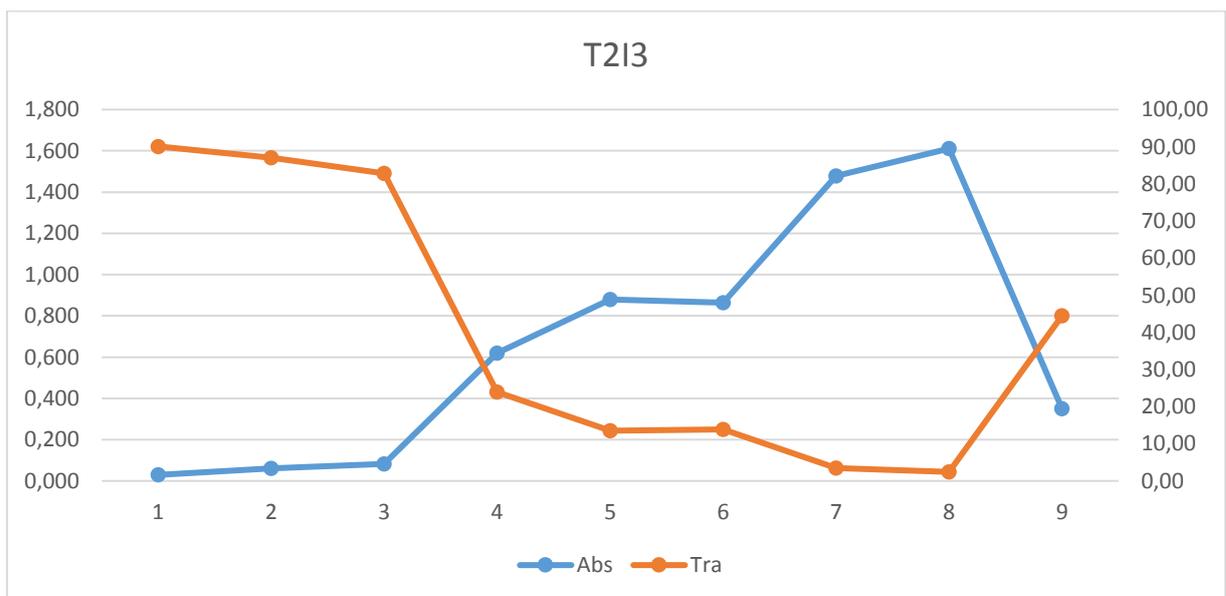
#### 4.G Producción de biomasa para el tratamiento 6



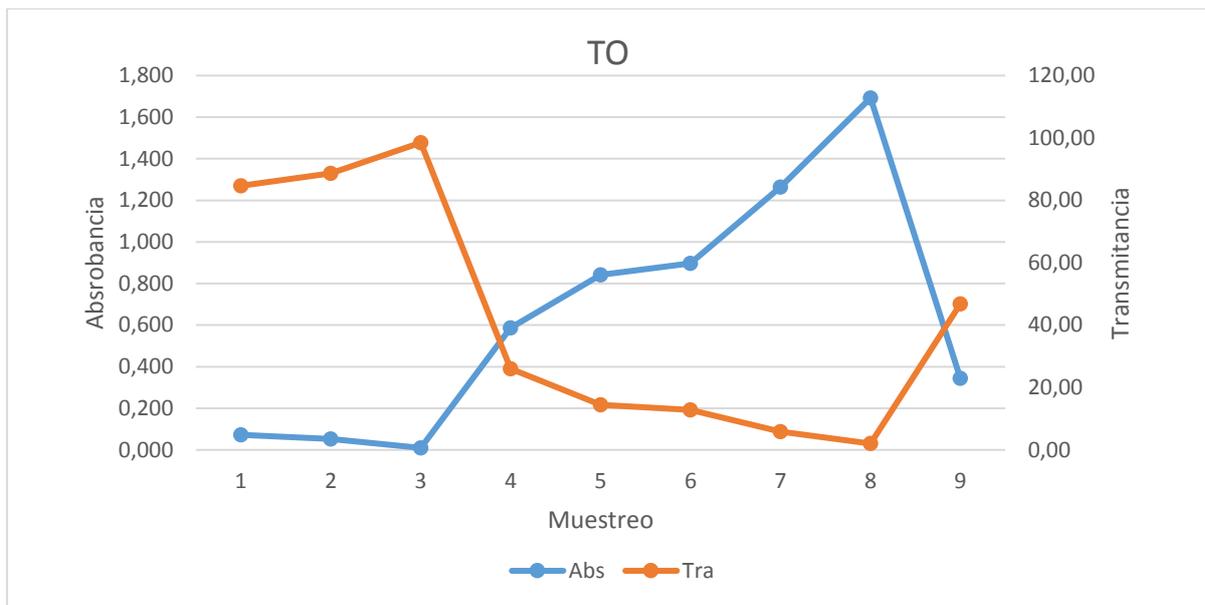
#### 4.H Producción de biomasa para el tratamiento 7



#### 4.I Producción de biomasa para el tratamiento 8

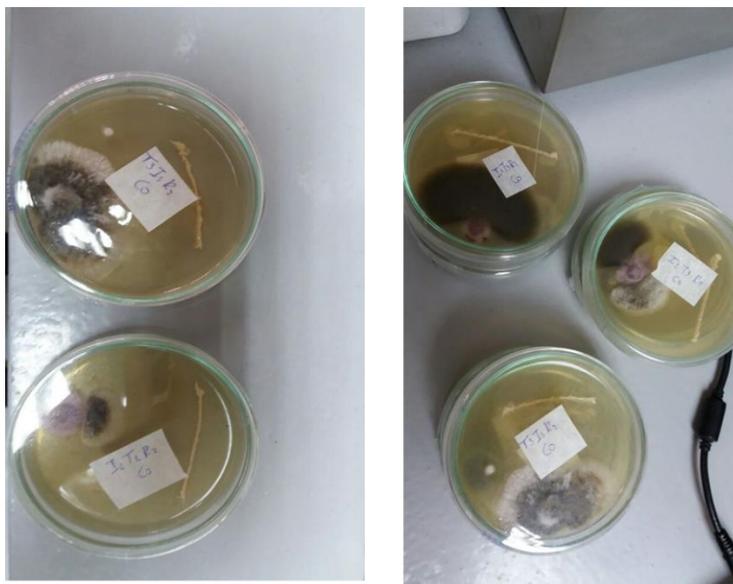


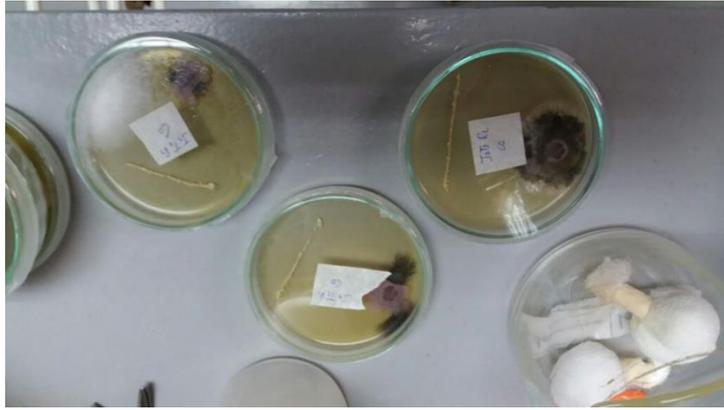
#### 4.J Producción de biomasa para el testigo absoluto



#### Anexo 5. Actividad antagonica levadura versus patógenos

##### 5-A. *S. cerevisiae* frente a *Colletotrichum*





**5-B.** *S. cerevisiae* frente a *Rhizopus* sp

**Anexo 6.** Base de datos de la evaluación de biomasa de la levadura *S. cerevisiae*

Repeticion	Tratamiento	Tiempo	Intensidad	bioTRA-2h	bioTRA-4h	bioTRA-6h	bioTRA-8h	bioTRA-10h	bioTRA-12h	bioTRA-24h	bioTRA-48h	bioTRA-72h
1	1	1	1	86,6	91,0	91,4	24,5	14,6	14,9	3,5	1,9	4,1
1	2	1	2	89,4	93,5	94,8	24,5	14,3	15,2	3,7	2,1	4,3
1	3	1	3	92,2	86,6	86,4	24,4	9,7	13,1	3,8	1,8	4,4
1	4	2	1	89,8	86,8	95,6	24,1	15,3	16,5	3,5	2,6	4,6
1	5	2	2	92,8	79,7	94,7	24,6	13,5	15,8	2,5	3,3	4,5
1	6	2	3	89,3	86,4	86,9	24,5	17,3	13,1	2,5	2,9	4,2
1	7	3	1	105,0	86,8	100,8	25,5	14,1	11,3	3,3	5,8	5,6
1	8	3	2	99,6	98,1	98,0	26,0	14,5	15,4	3,7	1,9	4,9
1	9	3	3	93,2	96,2	95,5	28,2	11,6	15,2	4,5	2,3	5,2
2	1	1	1	90,4	89,1	92,3	25,3	15,0	14,0	4,0	1,9	4,8
2	2	1	2	88	95,7	96,7	25,1	11,8	12,6	2,9	2,8	5,1
2	3	1	3	94	93,4	87,3	24,6	13,3	14,4	2,5	2	4,5
2	4	2	1	88,7	87,2	83,4	24,7	14,7	11,2	3,8	2,5	5,15
2	5	2	2	90,9	86,3	89,5	23,4	12,9	15,8	3,1	2,4	3,99
2	6	2	3	84,1	82,9	77,6	23,1	10,9	12,2	3	2,4	4,43
2	7	3	1	96,7	95,3	94,1	27,5	8,9	13,3	3,1	2,6	4,94
2	8	3	2	104,3	106,8	84,9	21,5	16,5	17	2,6	1,7	4,74
2	9	3	3	82,7	93	82,5	27,5	13,4	17,1	2,6	1,6	5
3	1	1	1	101,5	82	87,5	22,1	10,4	10	2,8	3,1	4,5
3	2	1	2	54,9	89,9	83,1	22,5	13,6	15,1	4	1,8	4,7
3	3	1	3	99,2	83,8	84	22,8	9,6	15,6	3,1	2,6	4,25
3	4	2	1	90,5	82,6	80,7	24,6	14,7	14,1	3,7	3,1	5,44
3	5	2	2	91,1	85,8	84,9	23,2	12	12,5	3,9	2,1	6,22
3	6	2	3	96,8	91,9	84	24,3	12,5	16,2	5	2	4,75
3	7	3	1	102,8	95,5	98	30,1	14,7	14,3	4,5	1,9	4,3
3	8	3	2	110,7	101	91,8	23,8	14,4	11,1	2,3	1,9	1,9
3	9	3	3	81,5	88,1	88,1	23,3	12,3	14,3	4,2	2	4,69
1	10			85,8	86,1	86	26,4	15,4	12,3	6,9	1,8	4,68
2	10			83,5	95,6	96,8	29,4	13,5	14,2	7,5	2,1	3,28
3	10			84,8	84,3	112,7	22,4	14,6	11,9	3,3	2,2	6,07

**Anexo 7.** Base de datos de la actividad Antagonista de la Levadura *S. cerevisiae* frente a patógenos

Repeticion	Tratamiento	Tiempo	Intensidad	Ant vs Col 3d	Ant vs Col 5d	Ant vs Col 7d	Ant vs riz 3d	Ant vs riz 5d	Ant vs riz 7d
1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
1	2	1	2	0	0	0	12,5	0	0
1	3	1	3	40	0	2	0	0	0
1	4	2	1	0	0	4	12,5	0	0
1	5	2	2	0	0	0	6	0	0
1	6	2	3	40	62,5	20	0	10	0
1	7	3	1	0	0	60	6	0	0
1	8	3	2	60	25	4	12,5	0	0
1	9	3	3	0	0	10	12,5	0	0
2	1	1	1	0	0	12	0	0	0
2	2	1	2	60	0	0	0	0	0
2	3	1	3	0	0	18	0	0	0
2	4	2	1	40	62,5	50	6	0	0
2	5	2	2	40	50	37	6	10	0
2	6	2	3	0	50	33,3	12,5	9	0
2	7	3	1	0	0	0	6	0	0
2	8	3	2	0	0	20	12,5	0	0
2	9	3	3	0	0	0	12,5	0	0
3	1	1	1	0	0	12	0	0	0
3	2	1	2	17	0	17	0	0	0
3	3	1	3	0	0	0	0	0	0
3	4	2	1	0	0	2	12,5	0	0
3	5	2	2	50	55	50	6	0	0
3	6	2	3	67	67	58,33	0	8	0
3	7	3	1	67	55,5	33,3	12,5	0	0
3	8	3	2	16	17	42	12,5	0	0
3	9	3	3	17	0	13,3	12,5	0	0
1	10			0	0	16	0	0	0
2	10			0	0	0	0	0	0
3	10			33	0	0	0	0	0

**Anexos 8.** Frutos con signos/síntomas de antracnosis (*Colletotrichum sp.*)



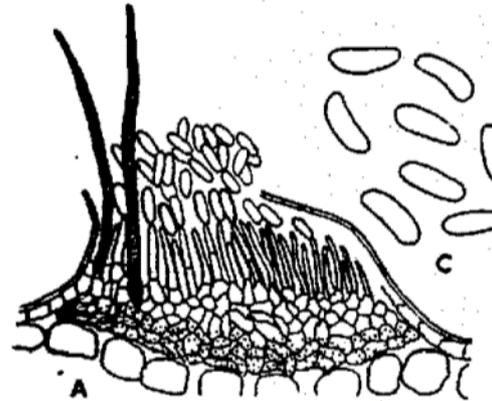
**Anexos 9.** Frutos con signos/síntomas de pudrición blanda (*Rizhopus sp.*)



**Anexo 10-** Crecimiento en caja Petri de *Rhizopus sp.*, (Izquierda de la imagen) y *Colletotrichum sp* (Derecha de la imagen) en medio PDA.



**10-B.** Identificación microscópica de *Colletotrichum* sp., de acuerdo a las características propuestas por Hunter (1998).



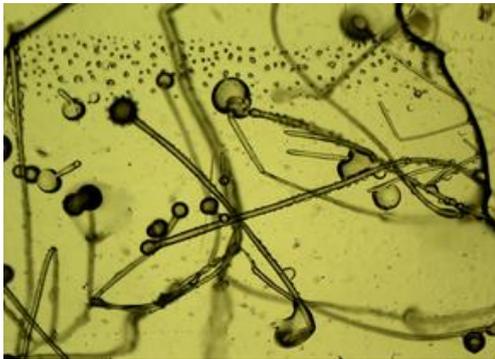
**Anexo 11.** Pudrición blanda en frutos papaya.



**11-A.** Crecimiento en caja petri de *Rhizopus* sp., en un medio con PDA



**11-B.** Identificación microscópica de *Rhizopus sp.*, de acuerdo a las características propuestas por la Sociedad Española de Microbiología (2014).



*Rhizopus sp.*

**Anexo 12.** Calibración y medición del campo electromagnético dado por la bobina de Helmholtz

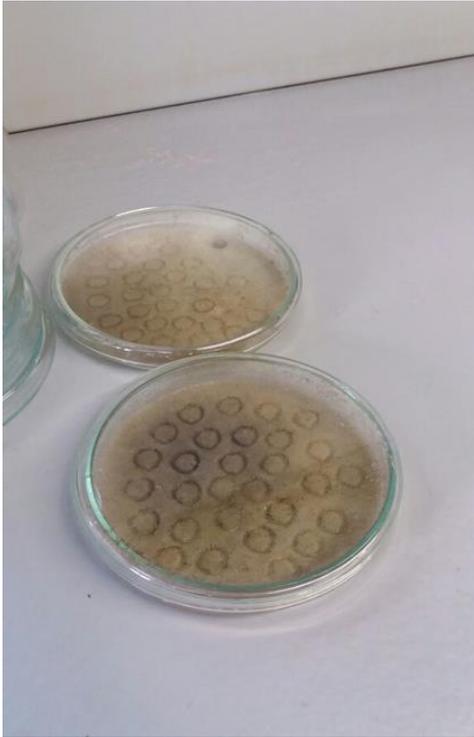


**Anexo 13.** Aplicación de los tratamientos a la levadura *S. cerevisiae*

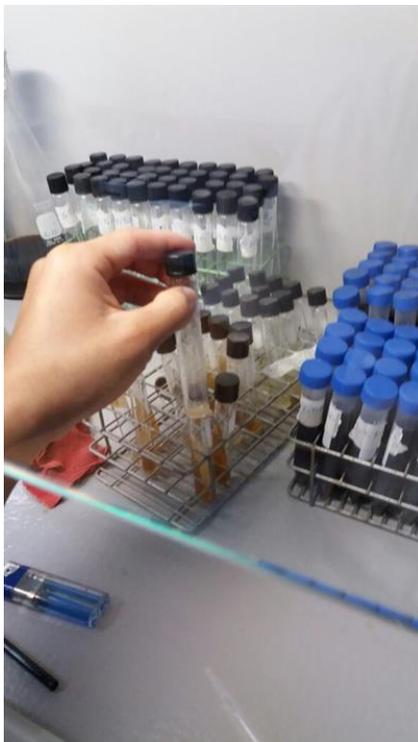


**Anexo 14.** Siembra de los patógenos en la caja petri





**Anexo 15. Evaluación de biomasa en la levadura *S. cerevisiae***



## 15-A. Espectrofotómetro



## Anexo 16. Cámara de Neubauer

