Naturaleza y TECNOLOGÍA
Número Especial "Verano de la Investigación DCNE 2026"
ISSN 2007-672X
Universidad de Guanajuato

EVALUACIÓN DEL POTENCIAL DE LA VINAZA DE TEQUILA COMO MEDIO DE CULTIVO PARA EL CRECIMIENTO Y/O PRODUCCIÓN DE CONIDIOS DE *TRICHODERMA HARZIANUM*

Bruno Alejandro Jasso Estrada[a], Andrea Ortiz Rodríguez[a], Ricardo Omar Fernández Hernández[a], Alma Rosa Corrales Escobosa[a*]

[a]División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, Noria Alta s/n, CP. 36050 y Cerro de la Venada s/n, Pueblito de Rocha CP. 36040, Guanajuato, Gto. México. [*]alma_rce@ugto.mx

Resumen

En el presente estudio, se evaluó el crecimiento de *Trichoderma harzianum*, así como la producción de conidios usando vinaza de tequila (VT) al 50 % y 100 % como medio de cultivo, en condiciones estáticas y con agitación. La agitación favoreció una mayor obtención de biomasa, alcanzando un máximo de 0.87 ± 0.12 g en VT al 50 % después de 6 días de cultivo, así como el aumento del pH en el medio y la disminución significativa de la acidez total, la concentración de azúcares reductores, los compuestos fenólicos y la DQO. Este último parámetro alcanzó una remoción de hasta 6.0 g O_2 L^{-1} en VT al 50 % y 6.2 g O_2 L^{-1} en VT al 100 %. Por otro lado, en los cultivos estáticos se observó una mayor concentración de conidios por mililitro de cultivo en comparación con los cultivos en agitación, con un máximo de 3.70 ± 0.10 × 10^7 conidios mL^{-1} en VT al 100 % después de 6 días de cultivo. Los resultados indican que la vinaza de tequila posee potencial para el cultivo de *T. harzianum* y la valorización biotecnológica de este efluente agroindustrial.

Palabras clave: Trichoderma harzianum; vinaza de tequila; bioeconomía circular

EVALUATION OF THE POTENTIAL OF TEQUILA VINASSE AS A CULTURE MEDIUM FOR THE GROWTH AND/OR PRODUCTION OF CONIDIA OF *TRICHODERMA HARZIANUM*

Abstract

The growth of *Trichoderma harzianum* and conidia production were evaluated using 50 % and 100 % tequila vinasse (TV) as culture media under static and agitated conditions. Agitation promoted greater biomass production, reaching a maximum of 0.87 ± 0.12 g in 50 % TV after 6 days of cultivation, and increased the pH of the culture medium, while significantly reducing total acidity, reducing sugar concentration, phenolic compounds, and chemical oxygen demand (COD). COD removal reached 6.0 g O_2 L^{-1} in 50 % TV and 6.2 g O_2 L^{-1} in 100% TV. In contrast, static cultures showed a higher conidia concentration per milliliter of culture than agitated cultures, reaching a maximum of 3.7 ± 0.10 × 10^7 conidia mL^{-1} in 100 % TV after 6 days of cultivation. Overall, these findings demonstrate the potential of tequila vinasse as a culture medium for *T. harzianum* cultivation while supporting the biotechnological valorization of this agro-industrial effluent.

Keywords: Trichoderma harzianum; tequila vinasse; circular bioeconomy

1. Introducción

En la actualidad, la bioeconomía circular promueve la valorización de subproductos agroindustriales mediante procesos biotecnológicos, capaces de transformarlos en materias primas de valor agregado, con la finalidad de disminuir el impacto ambiental de los residuos generados durante los procesos de producción (Yaashikaa y col., 2022; Khanna y col., 2024).

En México, el crecimiento sostenido de la industria tequilera en la última década ha incrementado la generación de residuos agroindustriales asociados, entre los que destaca la vinaza de tequila (VT), un efluente líquido generado después de la fermentación y destilación del mosto. Se estima que por cada litro de tequila pueden producirse entre 10 y 12 L de VT (España-Gamboa y col., 2011; López-López y col., 2010; Zurita y col., 2022). Este residuo presenta un pH ácido (2.8–4.5), alta concentración de materia orgánica, conductividad eléctrica y nutrientes minerales. Su disposición inadecuada puede provocar acidificación y fitotoxicidad de los suelos, así como eutrofización de cuerpos acuáticos y disminución del oxígeno disuelto en ellos (España-Gamboa y col., 2011; Sulbarán-Rangel y Carreón-Álvarez, 2022).

Las características fisicoquímicas de la VT la convierten en un sustrato de interés con

potencial aplicación biotecnológica. Diversos estudios han demostrado su utilidad para el cultivo de bacterias, levaduras y hongos filamentosos, así como para la producción de biomasa y metabolitos de interés industrial (España-Gamboa y col., 2011; Díaz-Vázquez y col., 2022; Yaashikaa y col., 2022). *Trichoderma harzianum* es un hongo filamentoso de importancia agrícola, por su capacidad de control biológico de hongos fitopatógenos y por su capacidad para promover el crecimiento vegetal, mediante mecanismos como el micoparasitismo, la competencia por nutrientes y la producción de enzimas, metabolitos y fitohormonas (Harman y col., 2004; Zin y Badaluddin, 2020; Woo y col., 2014).

La producción industrial de *T. harzianum* emplea principalmente fuentes comerciales de carbono y nitrógeno, lo que representa una parte importante de los costos de producción (Mukherjee y col., 2013; Singh y col., 2019). Por ello, el uso de residuos agroindustriales como sustratos constituye una alternativa para reducir costos y favorecer la valorización de subproductos (Yaashikaa y col., 2022; Díaz-Vázquez y col., 2022). La producción de conidios de T. harzianum está influenciada por la composición nutricional del medio de cultivo, particularmente por las fuentes de carbono y nitrógeno (Rai y Tewari, 2016). En medios líquidos se han reportado concentraciones que varían ampliamente según la composición del medio; por ejemplo, Rai y Tewari (2018) obtuvieron desde 2.88×10^6 conidios mL^{-1} en caldo de papa hasta 4.34×10^9 conidios mL^{-1} en un medio de jaggery modificado, después de diez días de incubación. Asimismo, Torres y col. (2023) demostraron que la vinaza de caña de azúcar puede emplearse como medio para el crecimiento de *T. harzianum* bajo condiciones de agitación, obteniendo en vinaza al 50 % una producción de biomasa más de tres veces superior a la alcanzada en caldo YME (Yeast Malt Extract).

En el caso específico de la vinaza de tequila, Mejía-Gutiérrez y col. (2016) demostraron que los medios formulados a partir de vinazas de tequila permitieron el crecimiento de *T. harzianum* bajo condiciones de agitación (120 rpm), obteniendo un mayor crecimiento que en el medio Weidling empleado como control. Sin embargo, dicho estudio estuvo orientado a la producción de metabolitos con actividad inhibitoria contra *Phytophthora infestans* y no evaluó la producción de conidios. Por lo tanto, la

Número Especial "Verano de la Investigación DCNE 2026"
ISSN 2007-672X
Universidad de Guanajuato

información sobre el uso de VT como medio de cultivo para el crecimiento y la producción de conidios de *T. harzianum* aún es limitada, particularmente respecto al efecto de las condiciones estáticas y de agitación en ambos procesos.

Por consiguiente, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar el potencial de la VT como medio de cultivo para el crecimiento de *T. harzianum* y la producción de conidios bajo condiciones estáticas y con agitación, empleando VT al 50 % y 100 %. Adicionalmente, se determinaron el pH, la acidez total, los compuestos fenólicos totales, los azúcares reductores, el nitrógeno amoniacal y la DQO, con el propósito de evaluar los cambios fisicoquímicos asociados con el metabolismo del hongo durante el cultivo.

2. Metodología

2.1 Preparación de muestras

La VT utilizada en el experimento fue amablemente proporcionada por Tequilera Corralejo S.A. de C.V., fue pasada por filtros de fibra de vidrio con un tamaño de poro de 1.2 µm para eliminar sólidos suspendidos. Posteriormente, se prepararon dos concentraciones de trabajo: vinaza al 100 % y vinaza diluida al 50 % utilizando agua desionizada. Ambos medios fueron esterilizados en autoclave a 125 °C durante 20 min y almacenados hasta su utilización.

2.2 Cultivo de T. harzianum

La cepa de *T. harzianum* RSO045 utilizada en este estudio fue donada por el Dr. Rogelio Sosa, del Centro de Ciencias de Sinaloa (CCS), y se conservó en glicerol a −70 °C hasta su utilización. Previo a los experimentos, se obtuvieron conidios de la cepa mediante cultivo en agar papa-dextrosa (PDA). Los cultivos de *T. harzianum* se realizaron en matraces Erlenmeyer estériles de 125 mL, usando 50 mL de VT ya fuera al 50 o al 100 %. Se evaluó el crecimiento del hongo a los 3 y 6 días de cultivo, tanto en condiciones estática como con agitación a 150 rpm. Los cultivos se realizaron por duplicado inoculando una concentración inicial de 1×10^6 conidios mL^{-1} e incubando a 28 °C. Se realizó un control abiótico para cada uno de los tratamientos utilizando la misma muestra de VT bajo idénticas condiciones de cultivo.

2.3 Procesamiento de muestras

Al finalizar cada periodo de incubación, el contenido de cada matraz fue transferido a

Número Especial "Verano de la Investigación DCNE 2026"
ISSN 2007-672X
Universidad de Guanajuato

tubos de polipropileno de 50 mL previamente pesados y se centrifugaron a 5 000 × g durante 10 minutos. El sobrenadante fue recuperado y almacenado a −20 °C hasta la realización de los análisis fisicoquímicos (pH, azúcares reductores, compuestos fenólicos, índice de acidez y DQO). Para eliminar residuos de VT, el pellet obtenido se lavó tres veces con 10 mL de agua desionizada estéril, centrifugando a 5000 × g durante 10 min y eliminando la mayor cantidad de líquido en cada ocasión. Posteriormente se congeló a -20 °C durante 48 h y se eliminó la humedad por liofilización para la posterior determinación de biomasa y conteo de conidios.

2.4 Determinación de biomasa y concentración de conidios

La cantidad de biomasa obtenida en cada tratamiento se calculó por diferencia de masa al pesar los tubos de polipropileno con el hongo, al término del proceso de liofilización. Posteriormente, se adicionaron 5 mL de Triton X-100 al 0.05 % y luego se ajustó el volumen a 10 mL con agua desionizada estéril. Se incorporaron perlas de vidrio de 3 mm estériles y la suspensión se homogeneizó mediante agitación en un mezclador tipo vórtex durante 15 minutos o hasta observar uniformidad, seguida de sonicación durante 3 minutos para favorecer la dispersión de los conidios y la desagregación del micelio. Cuando fue necesario, la suspensión se diluyó con agua desionizada estéril para el conteo en la cámara de Neubauer, utilizando azul de metileno al 0.1 % para mejorar el contraste al microscopio (mezcla 1:1 muestra/solución de azul de metileno). Se cargaron 10 µL de muestra y la cuenta se realizó en el cuadro central, contando 10 de los 25 cuadros totales (0.2 x 0.2 mm cada uno) que lo conforman. Cada muestra se analizó por triplicado.

La concentración de conidios se expresó como conidios por mililitro de cultivo (conidios mL^{-1}) y se calculó mediante la ecuación (1):

$$(\mathbf{1}) \quad Conidios\ mL^{-1} = \frac{C \times F_C \times FD \times V_r}{V_c}$$

Donde: C es el número de conidios contado; Fc es el factor de dilución de cámara; FD es el factor de dilución de la muestra; Vr es el volumen de resuspensión del liofilizado (10 mL) y Vc es el volumen de cultivo (50 mL).

2.5 Caracterización fisicoquímica de las muestras

El pH de las muestras se midió mediante el método potenciométrico de acuerdo con la

Número Especial "Verano de la Investigación DCNE 2026"
ISSN 2007-672X
Universidad de Guanajuato

NMX-AA-008-SCFI-2016 (Secretaría de Economía, 2016) mientras que la acidez total se determinó mediante titulación ácido-base conforme al protocolo descrito en NMX-AA-036-SCFI-2001 (Secretaría de Economía, 2001). La concentración total de compuestos fenólicos se obtuvo mediante el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu, de acuerdo con la metodología descrita por Magalhães y colaboradores (2010). Mientras que la concentración de azúcares reductores, nitrógeno amoniacal y DQO se obtuvieron usando modificaciones de los protocolos de Wood y col. (2012), Ruppersberg y col. (2017) y Kolb y col. (2017), respectivamente. En la determinación de nitrógeno amoniacal, la reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente durante 20 min. Para la determinación de azúcares reductores se utilizaron 20 µL de muestra y 180 µL de reactivo de DNS, calentando a 80 ºC durante 30 min. Mientras que, para la determinación de DQO, la determinación se realizó disminuyendo el volumen del reactivo de oxidación a 1.2 mL con una muestra de 300 µL en un tubo sellado en lugar de en un sistema de reflujo, determinando la cantidad de Mn remanente por medición de absorbancia a 510 nm.

2.6 Análisis estadístico

Los resultados se expresaron como media ± desviación estándar y fueron analizados mediante el software Minitab®. En todos los casos se realizó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk con un α=0.05. Para los datos que presentaron una distribución normal, se realizó la prueba de Bartlett para determinar la igualdad de varianzas y para los que no presentaban una distribución normal, la prueba de Levene, ambas con un α = 0.05. La comparación de medias se realizó mediante el análisis ANOVA, seguido de la prueba de Tukey (α=0.05) para los datos que presentaron homogeneidad de varianzas y la prueba de Welch, seguida de Games-Howell (α=0.05) en caso de no presentar homogeneidad de varianzas. La selección de las pruebas de comparación se realizó con base en el cumplimiento del supuesto de homogeneidad de varianzas y no en la magnitud visual de la dispersión de los datos.

3. Resultados y discusión

3.1 Producción de biomasa y conidios

La cantidad de biomasa generada presentó un aumento significativo entre los días 3 y 6 de incubación, tanto para cultivos estáticos como con agitación, sin diferencia significativa para las dos concentraciones de VT probadas (Tukey, α=0.05). La producción

Número Especial "Verano de la Investigación DCNE 2026"
ISSN 2007-672X
Universidad de Guanajuato

de biomasa se vio favorecida por la agitación, obteniendo un máximo de 0.87 ± 0.12 g en VT al 50 % bajo esta condición de cultivo, después de 6 días de incubación (Figura 1).

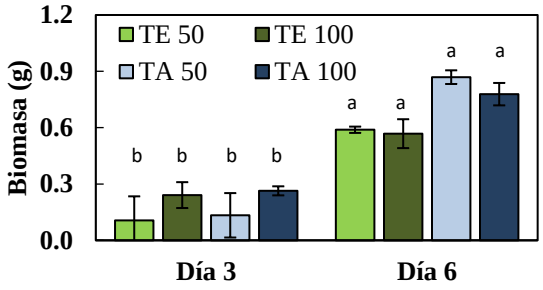


Figura 1. Biomasa de *T. harzianum* obtenida. TE 50: cultivo estático VT 50 %, TA 50: cultivo en agitación VT 50 %, TE 100: cultivo estático VT 100 %, TA 100: cultivo en agitación VT 100 %. Las medias que no comparten letra son significativamente diferentes, Tukey (α=0.05).

En cuanto a la producción de conidios, los cultivos estáticos presentaron concentraciones mayores que los cultivos con agitación en ambas concentraciones de VT y en los dos tiempos evaluados (Figura 2). En condiciones estáticas, la concentración aumentó de 1.65 ± 0.08 × 10^7 a 2.27 ± 0.10 × 10^7 conidios mL^{-1} entre los días 3 y 6 para VT al 50 %, mientras que para VT al 100 % aumentó de 2.62 ± 0.15 × 10^7 a 3.70 ± 0.10 × 10^7 conidios mL^{-1}. La mayor concentración de conidios se obtuvo, por tanto, en VT al 100 % bajo condiciones estáticas después de 6 días de incubación.

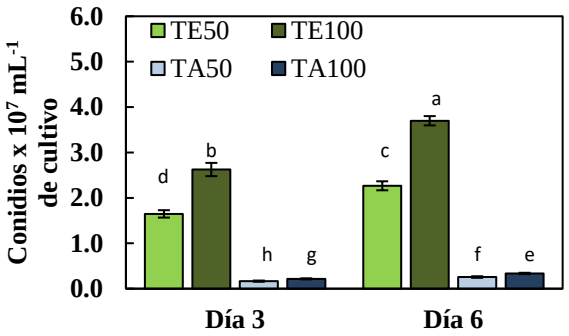


Figura 2. Concentración de conidios de *T. harzianum* obtenida bajo diferentes condiciones de cultivo. TE50: cultivo estático en VT al 50 %; TA50: cultivo con agitación en VT al 50 %; TE100: cultivo estático en VT al 100 %; TA100: cultivo con agitación en VT al 100 %. Los resultados se expresan como media ± desviación estándar. Las medias que no comparten letra son significativamente diferentes, Games-Howell (α=0.05).

En los cultivos con agitación se obtuvieron concentraciones menores, que van desde 1.7 ± 0.1 × 10^6 a 2.6 ± 0.2 × 10^6 conidios mL^{-1} para VT al 50 % a los días 3 y 6, respectivamente, y de 2.2 ± 0.1 × 10^6 y 3.4 ± 0.1 × 10^6 conidios mL^{-1} para VT al 100 %, a los 3 y 6 días, respectivamente. En contraste, los cultivos en agitación presentaron una mayor formación de micelio y, por tanto, una menor proporción de conidios por unidad de biomasa.

La mayor producción de biomasa observada bajo condiciones de agitación sugiere que esta condición favoreció el crecimiento vegetativo de *T. harzianum*. Este comportamiento es consistente con lo reportado por Torres y col. (2023), quienes reportaron 2.49 mg mL^{-1} de biomasa en vinaza de caña al 50 % frente a 0.73 mg mL^{-}

[1] en caldo YME, utilizado como medio de referencia. En el caso específico de la vinaza de tequila, Mejía-Gutiérrez y col., (2016) demostraron que los medios formulados a partir de vinazas procedentes de diferentes procesos de producción de tequila permitieron el crecimiento de *T. harzianum* bajo condiciones de agitación, con un mayor crecimiento que el observado en el medio Weidling empleado como control. Sin embargo, las diferencias en composición de la vinaza, la cepa utilizada, suplementación y condiciones de cultivo deben considerarse al comparar estos estudios.

En contraste con la producción de la biomasa, la concentración de conidios fue significativamente mayor en los cultivos $3.70 \pm 0.10 \times 10^7$ conidios mL^{-1} en VT al 100 %, después de 6 días de incubación. La producción de conidios de *T. harzianum* en medios líquidos depende de la composición y de las condiciones de cultivo. Rai y Tewari (2018), reportaron concentraciones desde 2.88×10^6 conidios mL^{-1} en caldo de papa hasta 4.34×10^9 conidios mL^{-1} en medio de *jaggery* modificado después de 10 días de incubación, con valores de 2.20×10^7 y 2.26×10^8 conidios mL^{-1} en medio selectivo para *Trichoderma* (TSM: *Trichoderma selective medium*) y caldo papa dextrosa (PDB), respectivamente.

La concentración máxima obtenida en VT en este estudio es comparable a la del medio selectivo para *Trichoderma* y mayor que la del caldo de papa, lo cual resulta relevante al tratarse de un efluente sin suplementación nutricional, aunque estas comparaciones deben tomarse con cautela por la diferencia de cepa, medio y tiempo de cultivo.

Por otra parte, Sala y col. (2021) evaluaron diferentes residuos agroindustriales como sustratos para la producción de conidios de *T. harzianum* mediante fermentación en estado sólido y reportaron producciones superiores a 5×10^9 conidios g^{-1} de materia seca utilizando bagazo cervecero, cáscara de papa y orujo de naranja. Aunque estos valores no son directamente comparables con los obtenidos en el presente estudio debido a las diferencias en el sistema de cultivo y en la forma de expresar la concentración de conidios, este antecedente muestra que distintos residuos agroindustriales pueden emplearse como sustratos para la producción de conidios de *T. harzianum.*

3.2 Variación del pH y acidez total durante el cultivo

Número Especial "Verano de la Investigación DCNE 2026"
ISSN 2007-672X
Universidad de Guanajuato

En la Figura 3 se muestran los valores de pH determinados en los sobrenadantes de cada uno de los tratamientos realizados. Para ambas concentraciones de VT se observaron diferencias significativas respecto a los controles y el valor inicial de pH al día 3 y 6 del experimento, para los cultivos con agitación y al día 6, para los cultivos estáticos (prueba de Tukey para VT 50 % y prueba de Games-Howell para VT al 100 %).

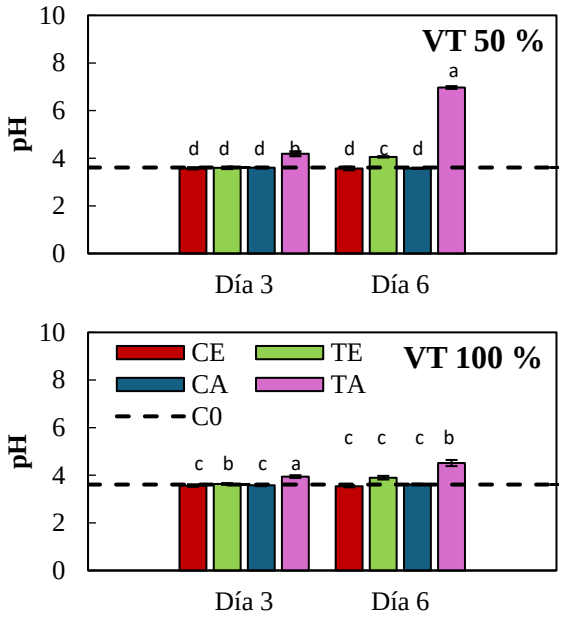


Figura 3. Variación de pH en VT por efecto del cultivo con *T. harzianum*. C0: valor inicial; CE: control estático; TE: cultivo estático de *T. harzianum;* CA: control en agitación; TA: cultivo en agitación. Las medias que no comparten letra son significativamente diferentes, VT 50 % Tukey (α=0.05), VT 100% Games-Howell (α=0.05).

El aumento de pH en ambas concentraciones de VT se ve favorecido por la agitación, alcanzando valores máximos de 7.0 ± 0.1 y 4.5 ± 0.1 para VT al 50 y 100 % respectivamente, siendo los valores iniciales de 3.6 ± 0.1 y 3.6 ± 0.1 en ambos casos.

En cuanto a la acidez total (Figura 4), para ambas concentraciones de VT se observó una tendencia consistente caracterizada por una disminución progresiva del índice de acidez en los tratamientos inoculados con *T. harzianum*, siendo este efecto más evidente bajo condiciones de agitación, con valores mínimos de 0.06 ± 0.01 g CO_3 L^{-1} para VT al 50 % y 1.95 ± 0.20 g CO_3 L^{-1} para VT al 100 %, mientras que los controles se mantuvieron sin una variación significativa (prueba de Games-Howell).

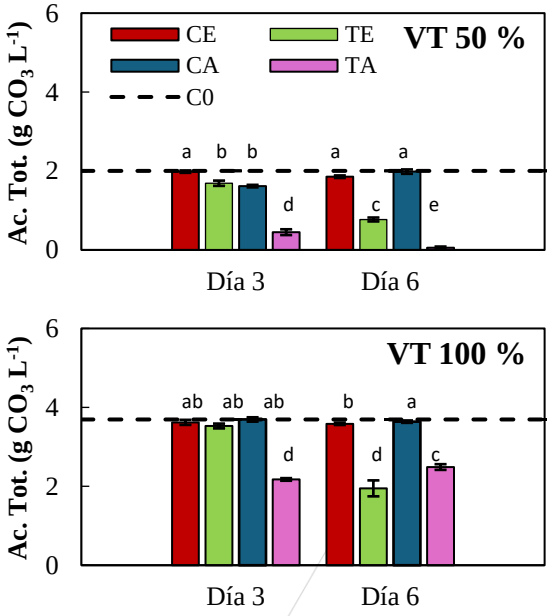


Figura 4. Variación de acidez total en VT por efecto del cultivo con *T. harzianum*. C0: valor inicial; CE: control estático; TE: cultivo estático de *T. harzianum;* CA: control en agitación; TA: cultivo en agitación. Las medias que no comparten letra son

significativamente diferentes, VT 50 % Tukey (α=0.05), VT 100% Games-Howell (α=0.05).

Estos resultados sugieren que el crecimientode *T. harzianum* favoreció la transformación o consumo de compuestos ácidos presentes en la vinaza, contribuyendo a la disminución de la acidez del medio, particularmente bajo condiciones de agitación, lo que concuerda con lo observado para el pH.

El cambio conjunto de ambos parámetros sugiere que durante el crecimiento del hongo se modificaron compuestos ácidos presentes en la VT.

3.3 Utilización de fuentes de carbono y nitrógeno

La Figura 5 muestra la concentración de azúcares reductores totales, siendo la concentración inicial de 1.3 ± 0.1 g L^{-1} y 2.8 ± 0.1 g L^{-1} para VT al 50 % y 100 %. Se observó una disminución significativa en los tratamientos con *T. harzianum* respecto a sus respectivos controles, tanto en la vinaza al 50 % como al 100 % (prueba de Tukey, α=0.05). Para los cultivos estáticos y con agitación, la mayor variación se observó al sexto día de incubación, lo que sugiere la utilización progresiva de estos compuestos como fuente de carbono para el crecimiento de *T. harzianum*. Al comparar ambas condiciones de cultivo, el mayor consumo de azúcares se observa en condiciones de agitación, lo que indica una mayor actividad metabólica asociada al crecimiento del hongo, alcanzando concentraciones residuales de 1.15 ± 0.05 g L^{-1} y 2.40 ± 0.10 g L^{-1} para los cultivos estáticos en VT al 50 y 100 % al día 6 del experimento y de 1.02 ± 0.06 g L^{-1} y 1.94 ± 0.05 g L^{-1} para los cultivos con agitación.

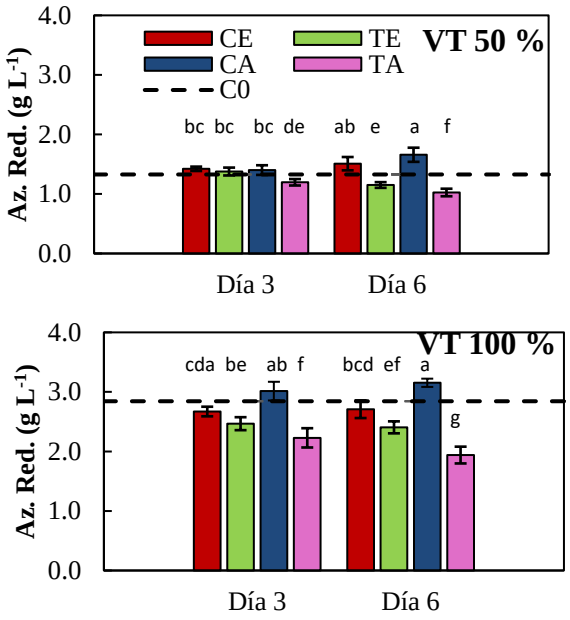


Figura 5. Variación de concentración de azúcares reductores en VT por efecto del cultivo con *T. harzianum*. C0: valor inicial; CE: control estático; TE: cultivo estático de *T. harzianum;* CA: control en agitación; TA: cultivo en agitación. Las medias que no comparten letra son significativamente diferentes, VT 50 % y VT 100 % Tukey.

Las concentraciones iniciales de nitrógeno amoniacal para VT al 50 % y 100 % fueron de 17.9 ± 1.4 mg L^{-1} y 36.8 ± 1.7 mg L^{-1}. Se

Número Especial "Verano de la Investigación DCNE 2026"
ISSN 2007-672X
Universidad de Guanajuato

encontró una disminución significativa de este parámetro tanto en los cultivos estáticos como con agitación, incluso desde los tres días de incubación, con respecto al valor inicial y a los controles para ambas concentraciones de VT (prueba de Tukey para 50% y Games-Howell para 100%, ambos α=0.05).

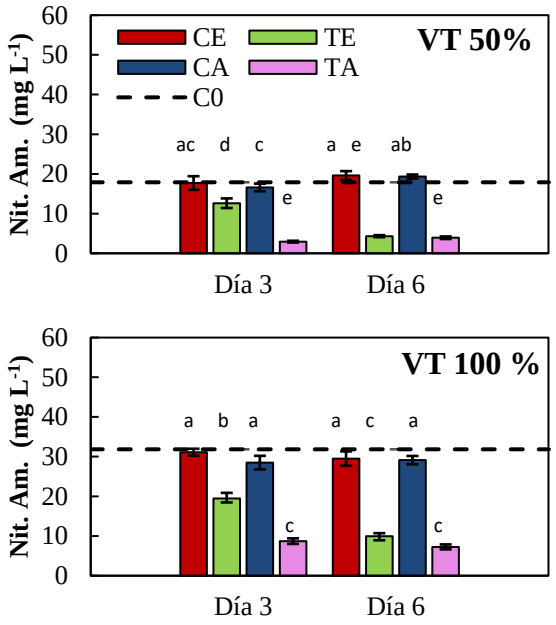


Figura 6. Variación de concentración de nitrógeno amoniacal en VT por efecto del cultivo con *T. harzianum*. C0: valor inicial; CE: control estático; TE: cultivo estático de *T. harzianum;* CA: control en agitación; TA: cultivo en agitación. Las medias que no comparten letra son significativamente diferentes, VT 50 % y VT Games–Howell (α = 0.05).

En cuanto a los controles de VT al 50 %, estos no mostraron diferencia con respecto al valor inicial, en el caso de los controles para VT al 100 % en cultivo estático al día 3 y 6 y en agitación únicamente al día 6, se observó una disminución significativa con respecto al valor inicial, la cual se atribuye a una pérdida por volatilización.

Al igual que con los azúcares reductores, las menores concentraciones se observaron al día 6 (VT 50 %: 3.9 ± 0.3 mg L^{-1} y VT 100 %: 7.9 ± 0.6 mg L^{-1}); sin embargo, en esta ocasión no existe una diferencia significativa entre los cultivos estáticos y con agitación, lo que indica que el metabolismo del nitrógeno amoniacal no se ve influenciado por las condiciones del cultivo.

La disminución de azúcares reductores y nitrógeno amoniacal indica que estos componentes de la VT fueron consumidos durante el crecimiento de *T. harzianum*. Este comportamiento coincide con lo reportado por Díaz-Vázquez y col., (2022), quienes emplearon levaduras en VT y obtuvieron que la biomasa microbiana es acompañada por la disminución de la carga de nitrógeno y DQO del efluente.

3.4 Cambios en compuestos fenólicos y demanda química de oxígeno

La concentración de compuestos fenólicos al inicio del experimento (VT 50 %: 0.67 ± 0.02 g L^{-1} y VT 100 %: 1.56 ± 0.03 g L^{-1}), presentó una disminución significativa al día 6 únicamente para los cultivos de *T.*

Número Especial "Verano de la Investigación DCNE 2026"
ISSN 2007-672X
Universidad de Guanajuato

harzianum con agitación, en ambas concentraciones de VT (prueba de Tukey para 50 % y Games–Howell para 100 %, α=0.05). Los resultados indican una mayor actividad metabólica favorecida por la agitación, al igual que con la variación de pH y consumo de azúcares reductores, alcanzando valores mínimos de 0.56 ± 0.02 y 1.22 ± 0.04 g L^{-1}, para vinaza al 50 y 100 % respectivamente, en agitación.

Los valores iniciales de DQO medidos para la VT al 50 y 100 % fueron de 17.1 ± 0.1 y 35.4 ± 1.6 g O_2 L^{-1}, respectivamente. Para ambas concentraciones de VT, la mayor remoción de DQO ocurrió para los cultivos con agitación, alcanzando valores mínimos de 11.1 ± 0.5 y 29.2 ± 1.1 g O_2 L^{-1}, para VT al 50 y 100 %, desde el día 3 del experimento, sin diferencia significativa al día 6 (Games-Howell, α=0.05).

La reducción de la DQO indica el aprovechamiento por parte del hongo de diversas fracciones orgánicas presentes en el medio, (APHA, 2023), mientras que disminución de los compuestos fenólicos, considerados una de las fracciones más recalcitrantes de los efluentes agroindustriales (Krastanov y col., 2013; España-Gamboa y col., 2011), sugiere procesos de transformación o detoxificación mediados por enzimas oxidativas extracelulares como lacasas y peroxidasas.

Un comportamiento similar fue reportado por Teymennet-Ramírez y col., (2025) durante el cultivo de *Trametes sanguineus* en VT al 50, 70 y 100 %. Después de 10 días de cultivo, observaron disminuciones de 60-68 % en compuestos fenólicos y de 22-36 % de DQO, coincidiendo con una elevada actividad de lacasa, con un máximo de actividad al día 5 en la VT al 50 %. Aunque se trata de un hongo diferente, estos resultados apoyan la participación de mecanismos enzimáticos oxidativos en la disminución de compuestos fenólicos durante el cultivo del hongos filamentosos en VT.

A pesar de las disminuciones observadas, la DQO residual fue de 11.1 ± 0.5 y 29.2 ± 1.1 g O_2 L^{-1} para VT al 50 y 100 %, respectivamente. Por lo tanto, estos resultados no permiten considerar que la vinaza después del cultivo sea adecuada para su descarga directa o aplicación al suelo; sería necesario evaluar un tratamiento adicional y realizar ensayos específicos de toxicidad o fitotoxicidad.

4. Conclusiones

T. harzianum creció en vinaza de tequila al 50 % y 100 %, demostrando que este residuo puede emplearse como sustrato para el cultivo del hongo. El crecimiento del hongo produjo cambios significativos en la composición de la VT, evidenciados por la reducción de la DQO, los compuestos fenólicos, los azúcares reductores y el nitrógeno amoniacal, así como por el aumento del pH y la disminución de la acidez total. La agitación favoreció la producción de biomasa, alcanzando un máximo de 0.87 ± 0.12 g en VT al 50 % después de 6 días de cultivo y una mayor transformación de la materia orgánica, mientras que las condiciones estáticas promovieron la formación de conidios, alcanzando una concentración máxima de $3.70 \pm 0.10 \times 10^7$ conidios mL^{-1} en VT al 100 % después de 6 días de cultivo. En conjunto, los resultados indican que la vinaza de tequila posee potencial para el cultivo de *T. harzianum* y la valorización biotecnológica de este efluente agroindustrial. Este trabajo amplía la información disponible sobre la producción de conidios de T. harzianum en vinaza de tequila al comparar condiciones estáticas y de agitación.

Agradecimientos

Se extienden los agradecimientos a la Tequilera Corralejo S.A. de C.V. por las muestras de vinaza proporcionadas y a la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) por el apoyo otorgado a los proyectos CBF-2025-G-383 y LN-2025-C-9.

Referencias bibliográficas

APHA. (2023). Standard methods for the examination of water and wastewater (24th ed.). American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation.

Díaz-Vázquez, D., Orozco-Nunnelly, D. A., Yebra-Montes, C., Senés-Guerrero, C., & Gradilla-Hernández, M. S. (2022). Using yeast cultures to valorize tequila vinasse waste: An example of a circular bioeconomy approach in the agro-industrial sector. Biomass and Bioenergy, 161, 106471. https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2022.106471

España-Gamboa, E. I., Mijangos-Cortés, J. O., Barahona-Pérez, L. F., Domínguez-Maldonado, J. A., Hernández-Zárate, G., & Alzate-Gaviria, L. M. (2011). Vinasses: Characterization and treatment. Waste Management & Research, 29(12), 1235–

1250. https://doi.org/10.1177/0734242X1038731

Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., & Lorito, M. (2004). Trichoderma species—Opportunistic, avirulent plant symbionts. Nature Reviews Microbiology, 2(1), 43–56. https://doi.org/10.1038/nrmicro797

Mejía-Gutiérrez, M. A., Mateos-Díaz, J. C., Vega-Rodríguez, A. D., Asaff-Torrez, A., & Arellano-Plaza, M. (2016). Evaluation of tequila vinasses as a substrate for the fermentative production of *Trichoderma harzianum* inhibitors against the phytopathogen *Phytophthora infestans*. En Sustainable and Integrated Use of Agave: III International Symposium on Agave (pp. 163–168). CIATEJ/CONACYT/Agared. ISBN 978-607-97421-6-4.

Khanna, M., Zilberman, D., Hochman, G. y col., An economic perspective of the circular bioeconomy in the food and agricultural sector. Commun Earth Environ 5, 507 (2024). https://doi.org/10.1038/s43247-024-01663-6

Kolb, M., Bahadir, M., & Teichgräber, B. (2017). Determination of chemical oxygen demand (COD) using an alternative wet chemical method free of mercury and dichromate. Water Research, 122, 645–654. https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.06.034

Krastanov, A., Alexieva, Z., & Yemendzhiev, H. (2013). Microbial degradation of phenol and phenolic derivatives. Engineering in Life Sciences, 13(1), 76–87. https://doi.org/10.1002/elsc.201100227

López-López, A., Davila-Vazquez, G., León-Becerril, E., Villegas-García, E., & Gallardo-Valdez, J. (2010). Tequila vinasses: generation and full-scale treatment processes. Reviews in Environmental Science and Bio/Technology, 9(2), 109–116. https://doi.org/10.1007/s11157-010-9204-9

Magalhães, L. M., Santos, F., Segundo, M. A., Reis, S., & Lima, J. L. F. C. (2010). Rapid microplate high-throughput methodology for assessment of Folin-Ciocalteu reducing capacity. Talanta, 83(2), 441–447. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.09.042

Mukherjee, P. K., Horwitz, B. A., Herrera-Estrella, A., Schmoll, M., & Kenerley, C. M. (2013). Trichoderma research in the genome era. Annual Review of Phytopathology, 51, 105–129. https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102353

Rai, D., & Tewari, A. K. (2016). Evaluation of different carbon and nitrogen sources for

better growth and sporulation of T. harzianum (Th14). Journal of Agricultural Biotechnology and Sustainable Development, 8(8), 67–70. https://doi.org/10.5897/JABSD2016.0262

Rai, D., & Tewari, A. K. (2018). Effect of different media on growth and sporulation of Trichoderma harzianum (Th 14). Trends in Biosciences, 11(42), 4175–4177.

Ruppersberg, H. S., Goebel, M. R., Kleinert, S. I., Wünsch, D., Trautwein, K., & Rabus, R. (2017). Photometric Determination of Ammonium and Phosphate in Seawater Medium Using a Microplate Reader. Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology, 27(2), 73–80. https://doi.org/10.1159/000454814

Sala, A., Vittone, S., Barrena, R., Sánchez, A., & Artola, A. (2021). Scanning agro-industrial wastes as substrates for fungal biopesticide production: Use of Beauveria bassiana and Trichoderma harzianum in solid-state fermentation. Journal of Environmental Management, 295, 113113. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113113

Secretaría de Economía. (2016). NMX-AA-008-SCFI-2016. Análisis de agua—Medición de pH en aguas naturales, residuales y residuales tratadas—Método de prueba (cancela a la NMX-AA-008-SCFI-2011). Diario Oficial de la Federación. https://platiica.economia.gob.mx/normalizacion/nmx-aa-008-scfi-2016/

Secretaría de Economía. (2001). NMX-AA-036-SCFI-2001. Análisis de agua—Determinación de acidez y alcalinidad en aguas naturales, residuales y residuales tratadas—Método de prueba (cancela a la NMX-AA-036-1980). https://platiica.economia.gob.mx/normalizacion/wp-content/uploads/sites/2/PDF_Normas_Publicas/nmx-aa-036-scfi-2001.pdf

Singh, B. N., Dwivedi, P., Sarma, B. K., Singh, G. S., Patel, J. S., & Singh, H. B. (2019). A novel function of N-signaling in plants with special reference to Trichoderma interaction influencing plant growth, nitrogen use efficiency, and cross talk with plant hormones. 3 Biotech, 9(3), 109. https://doi.org/10.1007/s13205-019-1638-3

Teymennet-Ramírez, K. V., García-Morales, S., Hernández-Fernández, O., & Barrera-Martínez, I. (2025). Detoxification of tequila vinasse by Trametes sanguineus: a biotechnological approach to laccase

production and water reuse in seedling growth. Environmental Science and Pollution Research, 32(54), 30087–30098. https://doi.org/10.1007/s11356-025-36377-5

Torres, M. A., Valdez, A. L., Angelicola, M. V., Raimondo, E. E., Pajot, H. F., & Nieto-Peñalver, C. G. (2023). Vinasse as a substrate for inoculant culture and soil fertigation: Advancing the circular and green economy. Science of the Total Environment, 887, 164014. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.164014

Woo, S. L., Ruocco, M., Vinale, F., Nigro, M., Marra, R., Lombardi, N., Pascale, A., Lanzuise, S., Manganiello, G., & Lorito, M. (2014). Trichoderma-based products and their widespread use in agriculture. The Open Mycology Journal, 8(1), 71–126. https://doi.org/10.2174/1874437001408010071

Wood, I. P., Elliston, A., Ryden, P., Bancroft, I., Roberts, I. N., & Waldron, K. W. (2012). Rapid quantification of reducing sugars in biomass hydrolysates: Improving the speed and precision of the dinitrosalicylic acid assay. Biomass and Bioenergy, 44, 117–121. https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2012.05.003

Yaashikaa, P. R., Kumar, P. S., Varjani, S., & Saravanan, A. (2022). Valorization of agro-industrial wastes for biorefinery process and circular bioeconomy: A critical review. Bioresource Technology, 343, 126126. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126126

Zin, N. A., & Badaluddin, N. A. (2020). Biological functions of Trichoderma spp. for agriculture applications. Annals of Agricultural Sciences, 65(2), 168–178. https://doi.org/10.1016/j.aoas.2020.09.003

Zurita, F., Tejeda, A., Montoya, A., Carrillo, I., Sulbarán-Rangel, B., & Carreón-Álvarez, A. (2022). Generation of tequila vinasses, characterization, current disposal practices and study cases of disposal methods. Water, 14(9), 1395. https://doi.org/10.3390/w14091395