



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA INSTITUTO
DE CIENCIAS

CENTRO DE AGROECOLOGÍA
MAESTRÍA EN MANEJO SOSTENIBLE DE AGROECOSISTEMAS

TESIS

**BIODECOLORACIÓN DE AZUL ÍNDIGO POR CEPAS
AUTÓCTONAS DE *Trichoderma harzianum***

PRESENTA

ISLAS BARRIENTOS MIGUEL ALEJANDRO

COMITÉ TUTORAL

DIRECTOR DE TESIS

POSDOCTORANTE, CENAGRO – ICUAP, BUAP.

DRA. AMPARO MAURICIO GUTIÉRREZ

CO-DIRECTOR DE TESIS

PI. TITULAR DEL CENTRO DE AGROECOLOGÍA – ICUAP, BUAP.

DR. OMAR ROMERO ARENAS

ASESORES

DR. NEMECIO VILLA RUANO

DR. JOSÉ FILOMENO CONRRADO PALAGUIRRE LEZAMA

DRA. MARÍA EUNICE DE ANDA REYES

Puebla, Pue., septiembre 2025



La presente tesis, titulada: **“BIODECOLORACIÓN DE AZUL ÍNDIGO POR CEPAS AUTÓCTONAS DE *Trichoderma harzianum*”**, realizada por el alumno **IBT Miguel Alejandro Islas Barrientos**, bajo la dirección del Comité Tutorial indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN
MANEJO SOSTENIBLE DE AGROECOSISTEMAS

COMITÉ TUTORIAL:

DIRECTORA: _____

Dra. Amparo Mauricio Gutiérrez

CO-DIRECTOR: _____

Dr. Omar Romero Arenas

ASESOR: _____

Dr. Nemesio Villa Ruano

ASESOR: _____

Dr. José F. Conrado Parraguirre Lezama

ASESORA EXTERNA: _____

Dra. María Eunice De Anda Reyes

REVISOR EXTERNO: _____

Dr. Carlos Alberto Contreras Paredes

Puebla, Pue., octubre de 2025.

Agradecimientos

Agradezco infinitamente a la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP) por haberme brindado la oportunidad de formar parte de esta prestigiosa institución, la cual ha sido fundamental en mi formación académica y como futuro investigador.

Mi más sincero agradecimiento al Centro de Agroecología de la BUAP por permitirme utilizar sus instalaciones para la realización de este trabajo de tesis. De manera especial, deseo reconocer al laboratorio 204 de hongos comestibles y patología vegetal, donde tuve la fortuna de conocer a personas maravillosas que enriquecieron tanto mi desarrollo académico como personal.

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT), a través del SECIHTI, por la beca de maestría concedida (CVU No. 1308965), cuyo apoyo económico fue indispensable para la ejecución de este proyecto de investigación.

Agradezco profundamente a mi directora de tesis, la Dra. Amparo Mauricio Gutiérrez, por su invaluable guía, su constante apoyo y la confianza que depositó en mí durante todo el desarrollo de este proyecto. Así mismo, extendo mi agradecimiento a mi co-director, el Dr. Omar Romero Arenas, quien confió en mi trabajo desde el principio y me abrió las puertas de su laboratorio, fue de las primeras personas que confió en mí y eso nunca lo olvidare, le agradezco tanto.

Mi gratitud también para la Dra. María Eunice de Anda Reyes, por su disponibilidad para resolver mis dudas, sus acertadas observaciones y el apoyo incondicional que siempre me brindó.

Finalmente, agradezco a los Drs. Nemesio Villa Ruano y José Filomeno Conrado Palaguirre Lezama por sus valiosas aportaciones y comentarios, los cuales enriquecieron significativamente este trabajo y ampliaron mis conocimientos. A cada uno de ellos, les expreso mi más profunda admiración.

Agradecimientos personales

Agradezco infinitamente a mi familia: a mi madre, quien siempre estuvo presente para apoyarme y motivarme en los momentos más desafiantes, encontrando siempre las palabras exactas de aliento; a mis padres, por su inquebrantable apoyo y por infundirme ánimos incluso cuando las circunstancias parecían más difíciles, gracias por nunca dejar que me rindiera; a mis hermanas, cuya motivación constante se reflejó tanto en sus palabras como en sus acciones; y a mi sobrino, quien fue fuente de inmensa alegría en mis días más estresantes.

A mis compañeros de maestría, pieza fundamental para hacer los días más amenos y las clases más divertidas. En especial, agradezco a mis mejores amigos Toño, Brandon, Adrián, César y Brenda, por siempre sacarme una sonrisa y motivarme a superarme. De manera muy especial, agradezco a mi mejor amiga Andrea, testigo de mi evolución y una persona que siempre creyó en mí, le agradezco infinitamente.

A mis compañeros del laboratorio Suriel, Kareem, Valeria, Hannia, Maricarmen y Josué, con quienes forjé una gran amistad. Les agradezco por su invaluable apoyo y el conocimiento que generosamente compartieron conmigo a lo largo de este trabajo.

A los participantes del Programa Delfín Janelly, Brayan, Miguel, Imanol, Mariana, Leo, Victoria, Carolina, Fernanda y Brenda, quienes se convirtieron en grandes amigos y me brindaron su ayuda incondicional durante el desarrollo de mi proyecto.

A Janeth, Dariana y Erick, por tener siempre la palabra correcta en el momento preciso, convirtiéndose poco a poco en pilares de amistad y apoyo.

A Alin Gabriela, por nunca permitir que me rindiera, por su amor, comprensión y por estar siempre a mi lado cuando más la necesité.

A mi mejor amigo Brayan, por ser quien constantemente me retaba a superarme a través de sus palabras y por confiar siempre en mi potencial.

Agradezco también a League of Legends, que se convirtió en mi espacio de desconexión y en una herramienta fundamental para gestionar el estrés a lo largo de este recorrido.

Finalmente, agradezco a cada una de las personas que, de una u otra forma, contribuyeron a la realización de este proyecto.

Resumen

La industria textil de mezclilla es una de las principales generadoras de contaminantes a través de sus efluentes; el contaminante de interés en nuestra investigación es el colorante azul índigo, caracterizado por su baja solubilidad, elevada estabilidad química y toxicidad. En la región de Tehuacán, Puebla, el uso de aguas residuales textiles para riego agrícola ha ocasionado una acumulación en los agroecosistemas, afectando los suelos y las fuentes hídricas de la región, lo que representa un riesgo ambiental. La presente investigación tuvo como objetivo evaluar la tolerancia y capacidad de biodecoloración del azul índigo por cepas autóctonas de *Trichoderma harzianum* aisladas de suelos agrícolas contaminados.

Se analizaron muestras de suelo y agua conforme a las normas NOM-021-SEMARNAT-2000 y NOM-230-SSA1-2002, encontrándose parámetros fisicoquímicos excedentes a los límites permisibles, además de detectarse concentraciones de azul índigo en agua y suelo. Se aislaron cinco cepas: tres del género *Trichoderma*, una del género *Fusarium* y la última del género *Aspergillus*. Las cepas aisladas fueron identificadas morfológica y molecularmente mediante la región ITS. Se seleccionaron únicamente las cepas de *Trichoderma harzianum* para realizar el ensayo de tolerancia al colorante azul índigo, el cual se llevó a cabo en medio PDA suplementado con diferentes concentraciones de azul índigo (0.05–0.20 g/L). Se determinó el porcentaje de inhibición de crecimiento radial (PICR), el número de esporas y su viabilidad.

La capacidad de biodecoloración se evaluó con las dos cepas más tolerantes de *Trichoderma harzianum* (TehAzo1 y TehAzo2), realizándose tres ensayos. En los tres se cuantificó el porcentaje de biodecoloración, la constante de biodecoloración (k) y el tiempo de vida media ($t_{1/2}$). El primer ensayo fue *in vitro* en medio mineral líquido (0.2 g/L de azul índigo), donde se determinó el producto de oxidación mediante análisis FTIR y HPLC, confirmándose la transformación del azul índigo a isatina como principal producto de oxidación. El porcentaje de biodecoloración alcanzado fue de $61.28\% \pm 0.779$ para la cepa TehAzo1 y de $74.29\% \pm 0.166$ para la cepa TehAzo2 a las 336 h. No hubo diferencias significativas entre las cepas. Se registraron k de 0.122 ± 0.039 para TehAzo1 y de 0.139 ± 0.035 para TehAzo2, con tiempos de vida media de 5.63 ± 0.703 y 4.97 ± 0.229 días, respectivamente. Además, se registraron

actividades enzimáticas de lacasa, veratril alcohol oxidasa y manganeso peroxidasa, siendo la mayor actividad enzimática la de la cepa TehAzo2.

El segundo ensayo, correspondiente a agua residual *ex situ*, se incluyó un tratamiento adicional (Cocultivo de las dos cepas). El porcentaje de biodecoloración alcanzado fue de $71.10\% \pm 1.792$ para TehAzo1, $79.78\% \pm 1.347$ para TehAzo2 y $68.55\% \pm 1.421$ para el cocultivo a las 336 h. Se observó una diferencia significativa entre los tratamientos, siendo el cocultivo el más bajo, mientras que entre TehAzo1 y TehAzo2 no se detectaron diferencias significativas. Los valores de k fueron de 0.141 ± 0.059 para TehAzo1, 0.157 ± 0.069 para TehAzo2 y 0.135 ± 0.075 para el cocultivo. El tiempo de vida media fue de 4.90 ± 0.629 , 4.38 ± 0.220 y 5.10 ± 0.239 días, respectivamente. Se registraron diferencias significativas entre las tres cepas, siendo TehAzo2 la mejor en comparación con los otros tratamientos.

Por último, en el ensayo de suelo modelo contaminado con azul índigo a nivel microcosmos se cuantificó la sobrevivencia de los hongos y el porcentaje de biodecoloración alcanzado. Ambas cepas lograron un $100\% \pm 0.001$ a las 336 h, sin diferencias significativas entre ellas. La cepa TehAzo1 presentó un valor de k de 0.404 ± 0.902 y la cepa TehAzo2 de 0.406 ± 0.826 , con tiempos de vida media de 1.71 ± 0.279 y 1.70 ± 0.390 días, respectivamente, sin diferencias significativas.

Estos resultados evidencian el potencial biotecnológico de *T. harzianum* autóctono para la micorremediación de efluentes y suelos contaminados con azul índigo, constituyendo una alternativa sostenible para su aplicación en la región de Tehuacán, Puebla.

Índice

Resumen.....	5
1. Introducción.....	14
2. Planteamiento del problema.....	16
3. Marco conceptual.....	17
3.1 Industria textil a nivel mundial.....	17
3.2 Industria textil en México.....	18
3.3 Industria textil de mezclilla en Tehuacán, Puebla.....	18
3.4 Afectaciones en los agroecosistemas por el riego de agua residual.....	19
3.5 Diversos factores que afectan la calidad de los agroecosistemas.....	20
3.6 Contaminantes en las aguas residuales de las industrias textiles.....	21
3.7 Toxicología de colorantes.....	23
3.8 Composición química del azul índigo.....	25
3.9 Toxicidad del azul índigo.....	26
3.10 Ruta de degradación de azul índigo.....	26
3.11 Tratamiento de las aguas residuales de las industrias textiles.....	27
3.12 Micorremediación.....	29
3.13 <i>Trichoderma</i> en la micorremediación de colorantes textiles.....	30
3.14 Generalidades de <i>Trichoderma</i>	31
3.15 Las actividades enzimáticas de <i>Trichoderma</i>	32
4. Justificación.....	34
5. Objetivos.....	35
5.1 Objetivo general:.....	35
5.2 Objetivos específicos:.....	35
7. Hipótesis.....	36
8. Metodología.....	37
8.1 Sitio de estudio.....	37

8.1.1	Caracterización física y química de agua y suelo de Tehuacán, Puebla.	38
8.1.2	Análisis de suelo	38
8.1.3	Análisis de agua.....	38
8.1.4	Determinación de la concentración de azul índigo en el suelo	38
8.1.5	Determinación de la concentración de azul índigo en el agua	39
8.2.1	Preparación de medio de cultivo nutritivo líquido.....	39
8.2.2	Preparación de placas con medio mineral enriquecido de malta	40
8.2.3	Conservación de los hongos aislados.....	41
8.3	Identificación de hongos aislados del suelo	41
8.3.1	Identificación microscópica	41
8.3.2	Identificación por la amplificación de secuencias intergénicas (ITS)	42
8.4	Pruebas de tolerancia de azul índigo	42
8.4.1	Viabilidad de esporas.....	44
8.5	Ensayos de biodecoloración de Azul índigo.....	44
8.5.1	Estimación de la constante de biodecoloración (k).....	45
8.5.2	Estimación del tiempo de vida media en la biodecoloración ($t_{1/2}$)	46
8.5.3	Curva de calibración de azul indigo	46
8.5.4	Curva de calibración de isatina.....	48
8.5.5	Análisis del producto de biodecoloración a través de FITR y HPLC	49
8.5.6	Determinación de actividades enzimáticas	50
8.5.6.1	Determinación de VAO	50
8.5.6.2	Determinación de Lacasas	50
8.5.6.3	Determinación de MnP	51
8.6	Ensayo de biodecoloración <i>ex situ</i> de agua residual textil contaminada con azul indigo.....	51
8.7	Ensayo de biodecoloración en suelo modelo contaminado con azul índigo a nivel microcosmo	52
8.8	Análisis de resultados	53

9.	Resultados	54
9.1	Análisis de agua.....	54
9.2	Análisis de suelo	56
9.3	Identificación de cepas.....	58
9.4	Tolerancia de las cepas de <i>Trichoderma</i>	60
9.5	Biodecoloración de las cepas TehAzo1 y TehAzo2	62
	Figura 13. Porcentaje de biodecoloración de <i>Trichoderma harzianum</i> cepa Tehazo1 a las 336 h de incubación a 28 °C.	62
9.6	Actividad enzimática de las cepas	72
9.7	Biodecoloración <i>ex situ</i> de agua residual textil contaminada con azul índigo por las cepas de <i>Trichoderma harzianum</i>	75
9.8	Ensayo de biodecoloración en suelo modelo contaminado con azul índigo a nivel microcosmos	80
10.	Discusión	84
11.	Conclusiones.....	92
12.	Bibliografía	93

Índice de tablas

Tabla 1. Límites máximos permisibles de contaminantes para la industria de pigmentos inorgánicos en las descargas de aguas residuales a cuerpos receptores (Ministerio de Desarrollo Social, 1995).....	23
Tabla 2. Límites máximos permisibles de contaminantes para las industrias de pigmentos orgánicos y colorantes en las descargas de aguas residuales a cuerpos receptores (Ministerio de Desarrollo Social, 1995).....	24
Tabla 3. Taxonomía de <i>Trichoderma spp</i> (Quevedo Jaramillo, 2022).	31
Tabla 4. Formulación del cultivo nutritivo líquido.	39
Tabla 5. Formulación de la solución de micronutrientes.	40
Tabla 6. Formulación del medio mineral enriquecido de malta.	41
Tabla 7. Diseño experimental de prueba resistencia de azul índigo.	43
Tabla 8. Formulación del cultivo nutritivo líquido para ensayo de biodecoloración..	45
Tabla 9. Resultados de análisis de agua de los dos caudales de la región comparados con los límites máximos permisibles dados por la NOM-001-SEMARNAT-1996.....	54
Tabla 10. Resultados del análisis de suelo de la zona de muestreo de acuerdo a la NOM-021 RECNAT2000.	56
Tabla 11. Identificación por amplificación de genes ITS de los hongos aislados en las zonas de estudio y morfología microscópica.....	58
Tabla 12. Prueba de tolerancia de las cepas fúngicas a azul índigo.	60
Tabla 13. Crecimiento de las cepas <i>Trichoderma harzianum</i> en diferentes concentraciones de azul índigo.....	61
Tabla 14. Tasa constante de biodecoloración (k) y tiempo de vida media ($t_{1/2}$) de la biodecoloración de azul índigo por los diferentes tratamientos de las cepas de <i>T. harzianum</i>	65
Tabla 15. Tasa constante de biodecoloración (k) y tiempo de vida media ($t_{1/2}$) del azul índigo <i>ex situ</i> en agua residual por las cepas de <i>Trichoderma harzianum</i>	79
Tabla 16. Tasa constante de biodecoloración (k), tiempo de vida media ($t_{1/2}$) y tasa de esporulación (μ) de la biodecoloración en suelo modelo contaminado por azul índigo	

a nivel microcosmo por los diferentes tratamientos de las cepas de *Trichoderma harzianum*. 83

Índice de figuras

Figura 1. Diagrama de procesos de contaminantes en aguas residuales textiles (Soriano, 2022).	22
Figura 2. Estructura química de azul índigo (Figueroa, 2022).....	25
Figura 3. Campos agrícolas en el Ejido de San Diego Chalma Tehuacán Puebla..	37
Figura 4. Curva de calibración de azul índigo.	47
Figura 5. Curva de calibración de isatina.	48
Figura 12. Árbol filogenético de las cepas de <i>Trichoderma harzianum</i>	59
Figura 13. Porcentaje de biodecoloración de <i>Trichoderma harzianum</i> cepa Tehazo1 a las 336 h de incubación a 28 °C.....	62
Figura 14. Porcentaje de biodecoloración de <i>Trichoderma harzianum</i> cepa TehAzo2 a las 336 h de incubación a 28 °C.....	63
Figura 15. Biodecoloración de azul índigo por las cepas de <i>Trichoderma harzianum</i> (TehAzo1) y (TehAzo2) a las 336 h de incubación a 28 °C.....	64
Figura 16. Producto de degradación del azul índigo de la cepa <i>Trichoderma harzianum</i> (TehAzo 1) a las 336 h.	66
Figura 17. Producto de degradación del azul índigo de la cepa <i>Trichoderma harzianum</i> (TehAzo 2) a las 336 h.	67
Figura 18. Espectros FT-IR de la biodecoloración de azul índigo por las cepas de <i>Trichoderma harzianum</i> . a) estándar de referencia de isatina; b) producto de biodecoloración por la cepa TehAzo1 y c) producto de biodecoloración por la cepa TehAzo2.....	68
Figura 19. Cromatogramas por HPLC de los productos de biodecoloración de azul índigo por <i>Trichoderma harzianum</i> . a) estándar de referencia de isatina; b) estándar de referencia de azul índigo; c) medio de cultivo sin inocular; d) producto de biodecoloración por la cepa TehAzo1 y e) producto de biodecoloración por la cepa TehAzo2.....	70
Figura 20. Actividad enzimática de Veratryl alcohol oxidasa por las cepas TehAzo1 y TehAzo2. (*):.....	72

Figura 21. Actividad enzimática de manganeso peroxidasa por las cepas TehAzo1 y TehAzo2. (*):	73
Figura 22. Actividad enzimática de Lacasas por las cepas TehAzo1 y TehAzo2. (*):	74
Figura 23. Biodecoloración <i>ex situ</i> de agua residual textil contaminada con azul índigo con la cepa <i>T. harzianum</i> TehAzo1	75
Figura 24. Biodecoloración <i>ex situ</i> de agua residual textil contaminada con azul índigo con la cepa <i>T. harzianum</i> TehAzo2.....	76
Figura 25. Biodecoloración <i>ex situ</i> de agua residual textil contaminada con azul índigo con cocultivo de las cepas de <i>Trichoderma harzianum</i> TehAzo1 y TehAzo2	77
Figura 26. Comparación de las tres cepas de <i>Trichoderma harzianum</i> en la biodecoloración <i>ex situ</i> de agua residual textil contaminada con azul índigo. (*): diferencia significativa con la prueba de Tukey ($p = 0.05$) a 336 h.....	78
Figura 29. Comparación de las dos cepas de <i>Trichoderma harzianum</i> en la biodecoloración en suelo modelo contaminado con azul índigo a nivel microcosmos.	82

1. Introducción

A nivel mundial, en los últimos años, se ha observado una preocupante degradación de suelos agrícolas debido a la disminución de la materia orgánica, la emisión de gases de efecto invernadero, la aplicación excesiva de fertilizantes, la erosión, la pérdida de diversidad genética, la acidificación, la salinización y la contaminación (Kopittke *et al.*, 2019). La constante degradación del suelo tiene consecuencias significativas, ya que reduce el rendimiento de los suelos contribuyendo a la pérdida del mismo. En México, también se sufre esta problemática, se estima que entre el 55% y el 90.7% de los suelos presenta algún tipo de degradación (Álvarez-Arteaga *et al.*, 2020). En particular, la contaminación del suelo es uno de los factores críticos que contribuyen a esta degradación y debe ser abordada de manera prioritaria. Los contaminantes liberados a los suelos como los hidrocarburos de petróleo, los metales pesados, los plaguicidas y diversos contaminantes emergentes, los cuales son perjudiciales para el medio ambiente causando graves impactos en los ecosistemas (Sales da Silva *et al.*, 2020). Uno de los contaminantes emergentes más relevantes en los últimos años son los colorantes de tipo textil, los cuales son liberados a través de sus efluentes por las industrias a través del proceso de lavado en prendas (Ramírez-Madriz, 2022). Una de las regiones más afectadas en México por este contaminante es la zona de Tehuacán, en el estado de Puebla. La cual tienen una grave contaminación en sus suelos causada por desechos de lavanderías textiles de mezclilla (Soriano, 2022); esta región es considerada una de las principales zonas de maquila de prendas de vestir de exportación a nivel nacional (Cervantes-Loera, 2022). La intensa actividad industrial tiene como resultado el desecho de aguas residuales, estas aguas residuales contienen diversos contaminantes como blanqueadores, detergentes y colorantes (González-Torres, 2019), el colorante con mayor presencia es el azul índigo. Este colorante se encuentra actualmente en numerosos cuerpos de agua residuales textiles en todo el mundo y representa una amenaza para la biodiversidad y el medio ambiente (Sánchez-Cerón, 2023). En muchas regiones el agua residual de la industria textil de mezclilla es usada para el riego de suelos agrícolas, lo que genera que los colorantes se bioacumulen y perjudiquen la fertilidad de los suelos (Zapata-Loaiza, 2022), se han documentado casos de afectaciones a la

salud de las personas expuestas a este tipo de contaminación (Slama *et al.*, 2021; Gallego-Ramírez *et al.*, 2022).

La contaminación del suelo por colorantes puede tener efectos adversos en la calidad de los cultivos y en la salud de los seres vivos debido a la toxicidad (Islam y Mostafa, 2019). Varios estudios han demostrado que la presencia de los colorantes en el ambiente puede generar diferentes efectos como la inhibición del crecimiento de microorganismos, además de un impacto visual negativo de las fuentes hídricas y cambios en los procesos biológicos como la fotosíntesis (Gallego-Ramírez *et al.*, 2022). La degradación del azul índigo es un proceso complejo y depende de varios factores; existen procesos físicos, químicos y biológicos los cuales son ocupados para su degradación (Slama *et al.*, 2021). Sin embargo, los procesos biológicos han destacado en los últimos años, los microorganismos del suelo, como hongos, tienen la capacidad de biodegradar colorantes y transformarlo en compuestos menos tóxicos (Bernal *et al.*, 2021).

La micorremediación emerge como una opción prometedora para abordar la contaminación por azul índigo en suelos agrícolas. Algunos hongos presentes en estos suelos poseen la capacidad de biodegradar contaminantes (Rai y Vijayakumar, 2023). La utilización de diversas enzimas ha demostrado ser efectiva en la decoloración de colorantes sintéticos, sin generar intermediarios tóxicos. *Trichoderma* se postula como una fuente prometedora de estas enzimas al degradar sustratos lignocelulósicos (Hernández-Melchor *et al.*, 2019). El género *Trichoderma*, es reconocido por su habilidad para transformar diversos contaminantes y adaptarse fácilmente a ellos (Cruz-Apunte y Lincango-Tuquerres, 2021). Se espera que *Trichoderma* pueda prosperar en aguas residuales textiles y degradar el colorante azul índigo gracias a su maquinaria metabólica, que facilita la síntesis de una amplia variedad de enzimas (Daou *et al.*, 2021). Además, este género es reconocido por los múltiples beneficios que aporta a los suelos y es objeto de amplia investigación debido a su diversidad de aplicaciones en la agricultura (Companioni-González *et al.*, 2019). Siendo así *Trichoderma* un modelo de estudio para el proceso de micorremediación transformadora de azul índigo.

2. Planteamiento del problema

La industria textil en la producción de mezclilla, que involucra teñido, lavado y acabado, han desencadenado un problema ambiental en el mundo. En México la contaminación ha sido significativa donde una de las regiones más afectadas es Tehuacán, Puebla. Esta industria ha comprometido la seguridad hídrica de la zona de estudio a causa de la sobreexplotación de los mantos acuíferos y liberación de contaminantes a través de la descarga de aguas residuales que son reutilizadas para riego agrícola (Boix-Cruz *et al.*, 2023).

Las aguas residuales liberadas en su mayoría contienen colorantes y aditivos textiles que son tóxicos y no biodegradables (Núñez-Moreno *et al.*, 2023). Además, las aguas residuales liberadas son altamente alcalinas (Arbona-Cabrera *et al.*, 2022). Uno de los contaminantes de interés es el colorante azul índigo, ya que esta presenta en mayor proporción en la mayoría de descargas de aguas residuales.

Este contaminante no solo impacta negativamente el entorno natural de la región, sino que también genera una grave contaminación tóxica en las fuentes de agua locales y en los suelos (Barrios-Ziolo *et al.*, 2016).

Los métodos convencionales de remediación de aguas residuales textiles son a través de procesos físicos, químicos y biológicos los cuales reducen o eliminan los colorantes presentes en las aguas residuales. Sin embargo, estos métodos suelen tener limitaciones, técnicas o económicas. (Acosta-Torres *et al.*, 2018). Los métodos biológicos a través de enzimas producidas por hongos han tenido un buen resultado en el proceso de decoloración de este compuesto (Ziegler-Muñoz *et al.*, 2022). La micorremediación se presenta como una opción prometedora para la transformación del azul índigo en sistemas contaminados.

3. Marco conceptual

3.1 Industria textil a nivel mundial

La industria textil, a nivel mundial, representa un sector económico vital con un crecimiento constante a lo largo de los años. En general la industria textil a nivel global ha sido un motor económico esencial durante décadas, desempeñando un papel fundamental en la economía, representa el 2% del PIB mundial, con un valor de 3 billones de dólares (López, 2020). Este crecimiento constante ha impulsado la economía de numerosos países a nivel mundial, generando importantes ganancias económicas. Se destacan países como Estados Unidos y China, siendo este último el mayor productor textil en el mundo (Gallego-Ramírez *et al.*, 2022). Sin embargo, este crecimiento económico ha traído consigo problemas ambientales. La industria textil es catalogada como la segunda industria más contaminante en el mundo, pero no se le ha dado la importancia que esta merece y ha sido ignorada durante mucho tiempo. El sector textil es una industria compleja que involucra variados insumos de producción, por este motivo se generan una gran cantidad de residuos al final de su producción (Moazzem *et al.*, 2021; Slama *et al.*, 2021).

Uno de los desafíos ambientales más preocupantes se relaciona con las aguas residuales generadas, en la industria textil se genera más de 300 000 L de aguas residuales por tonelada de producto, las cuales causan grandes daños al ambiente y a la salud humana (Díaz-Córdova, 2021; Slama *et al.*, 2021). Más del 50% de las industrias textiles descargan sus aguas residuales a los ríos, sin realizar tratamientos previos o con tratamientos muy precarios. Además, la cantidad de agua que necesitan las fábricas para crear las prendas que habitualmente ocupamos como unos jeans necesitan un aproximado de 42 litros para la fabricación, esto por el proceso de teñido, lavado y acabado. Este uso excesivo de agua va más allá de la industria. En los hogares de la comunidad se estima que se gasta un aproximado de 21 litros de agua en el lavado de prendas (Sánchez y Uribe, 2018; Rincón-Restrepo y Sanabria-Guerrero, 2021).

Las aguas residuales de la industria textil contienen una mezcla diversa de contaminantes, entre los que destacan los colorantes; se estima que hasta un 50% de los colorantes utilizados en los procesos de teñido termina en las aguas

descargadas, las concentraciones de colorantes en las aguas residuales esta entre los 100 y 500 mg/L (Zaruma *et al.*, 2018).

El principal daño causado por el efluente de tinte industrial es la afectación a los cuerpos de agua, esta agua se propaga a grandes distancias causando daños a distintas formas de vida afectando la calidad de los cuerpos acuíferos y la salud de los suelos (Slama *et al.*, 2021). Los colorantes son muy recalcitrantes incluso en bajas concentraciones (>1 mg/L) (Slama *et al.*, 2021).

3.2 Industria textil en México

La industria textil en México ha experimentado una evolución significativa, se compone de alrededor de 20,000 empresas en su mayoría de pequeñas y medianas empresas, que desempeñan un papel crucial en la creación de empleos y en la economía local, la industria textil aporta el 3.2% del PIB del sector manufacturero siendo una de las actividades más importante entre las actividades económicas, el 85.7% de la producción de la industria textil lo concentran diez estados, México 22.4%, Puebla 16.9%, Hidalgo 12.6%, Ciudad de México 6.3%, Guanajuato 6% Coahuila de Zaragoza 7%, Tlaxcala 5.1%, San Luis potosí 4.1%, Querétaro 3.5%, Chihuahua 3.5% y el resto de estados 14.3% (Barboza y Tello, 2019; Villagómez *et al.*, 2020). Este crecimiento industrial trajo consigo problemas ambientales relacionados con las aguas residuales de las grandes y pequeñas industrias textiles. La producción textil genera una gran cantidad de aguas residuales los cuales terminan en cuerpos acuíferos, cerca de 80% de las aguas residuales son usadas para riego agrícola, representando un problema sanitario significativo (Mendoza-Retana *et al.*, 2021; Soriano, 2022).

3.3 Industria textil de mezclilla en Tehuacán, Puebla

La industria textil de mezclilla en Puebla, tuvo un auge de crecimiento transnacional de industrias textiles y del vestido en los años noventa. Los municipios más destacados fueron Puebla, Tehuacán, Huejotzingo-Textmelucan y Tezuitlán (Carstensen, 2019). El municipio que más destaca es la región de Tehuacán, este municipio es un importante centro de actividad textil. Esta región pasó de una sociedad completamente agrícola a un lugar de producción industrial textil (Requena *et al.*, 2019). Tuvo un rápido crecimiento de la producción, desempeño un papel

crucial en la economía local, generando empleo y riqueza. En el año 2000, tan solo 42,463 personas trabajaban en el ensamblaje de prendas de vestir en la industria maquiladora, pero este número aumentó a 282,755 empleados en este sector en años posteriores (Carstensen, 2019). Tehuacán es un municipio importante en cuestión de industria textil, este tipo de industria tiene un producto interno bruto de \$5,480,000,000 MX (Gobierno de México, 2023). Sin embargo, este cambio de actividad trajo consigo varios problemas, ahora se utilizaban volúmenes excesivos de agua, alrededor de 50 a 100 litros para cada kilogramo producido, alcanzando un punto alarmante de consumo de agua de hasta 150 mil millones de metros cúbicos por año (Díaz Córdova, 2021).

La concentración de la industria textil de mezclilla en Tehuacán tuvo un gran impacto negativo causando daños ambientales, particularmente en lo que respecta al acceso y uso de los recursos hídricos. La falta de regulación y control en el uso del agua por parte de las empresas textiles ha llevado a una sobreexplotación de los recursos hídricos en la región (Requena *et al.*, 2019). Además, las aguas residuales de estas textilerías contaminan significativamente los cuerpos de agua locales, lo que tiene un efecto perjudicial tanto en la calidad del agua como en la calidad de vida de los habitantes que dependen de estos recursos hídricos para actividades como la agricultura (Soriano, 2022).

3.4 Afectaciones en los agroecosistemas por el riego de agua residual

Los principales problemas de los efluentes industriales se encuentran en la presencia de color, sólidos disueltos y materiales refractarios como detergentes, contaminantes orgánicos y iones de metales pesados (Ortiz, 2021). De acuerdo a Abubacker y Kirthiga (2017), el riego con aguas residuales textiles causó una disminución de la materia orgánica y el contenido total de nitrógeno disponible en el suelo de estudio. Además, se encontró una alta concentración de metales pesados en las semillas de *Pennisetum typhoides*, esto indica que el suelo regado con estas aguas residuales a través del tiempo pierde su fertilidad. Esto también se reporta en otros estudios como el de Younas *et al.* (2020) donde se reporta que grandes volúmenes de efluentes liberados sin tratamiento puede causar efectos perjudiciales en los sistemas vivos afectando cuerpos de agua, biota acuática, vida terrestre, ganado y cultivos. También se reduce la fertilidad del suelo regado con efluentes textiles no tratados. Sin

embargo, lo reportado por García *et al.* (2020) en su estudio de alfalfa regada con agua residual de la industria textil, expone que el riego con estas aguas no genera afectaciones a la planta ni a la semilla, tampoco existe una acumulación significativa de metales pesados en la planta o suelo. Estas variaciones son de acuerdo a que cada industria textil contiene distintos tipos de contaminantes en sus efluentes que pueden perjudicar o no a los agroecosistemas en donde son vertidas (Giraldo *et al.*, 2023).

3.5 Diversos factores que afectan la calidad de los agroecosistemas

La calidad de la salud de los agroecosistemas puede verse comprometida por una serie de factores:

Prácticas Agrícolas Incorrectas. Las prácticas agrícolas incorrectas, como el cambio de uso de la tierra y la labranza inadecuada, provocan la degradación del suelo y la erosión. Esto afecta negativamente la calidad del suelo, disminuye la producción agrícola y tiene consecuencias ambientales perjudiciales para los agroecosistemas (Bustamante-Neira y Galarza-Villamar, 2022).

Urbanización. El proceso de urbanización conlleva un problema generalizado de pérdida de suelo en muchas regiones. A medida que las áreas urbanas se expanden, a menudo lo hacen a expensas de tierras que antes se utilizaban para la agricultura, áreas boscosas y cuerpos de agua (Ramón-González y Aguilar, 2021). Este fenómeno es observable en diversas partes del mundo, y sus efectos ambientales son significativos. La transformación de suelo rural en suelo urbano es un patrón común, con áreas que anteriormente eran tierras de cultivo ahora utilizadas para desarrollo residencial e industrial. Esta tendencia tiene repercusiones en la calidad del suelo y la biodiversidad (Guida Johnson *et al.*, 2020).

Desertificación. Es resultado de la actividad humana y en ocasiones, de cambios climáticos que perturban los ciclos naturales. La erosión hídrica y eólica, la sedimentación, la salinización y otros procesos naturales se aceleran o desencadenan por la intervención humana, llevando a la degradación del suelo (Lino-Villamar, 2023). La pérdida de suelo es un componente clave de la desertificación, con consecuencias económicas y ambientales. Esto incluye cambios en el uso del suelo, reducción de la productividad agrícola y de pastizales, y la deforestación.

Además, fenómenos climáticos, como fuertes vientos, promueven la erosión, contribuyendo a la degradación del suelo y a la afectación de los agroecosistemas (Guevara-Macías, 2020).

Contaminación. La industrialización y los avances tecnológicos han llevado a la contaminación y deterioro de los agroecosistemas, con la contaminación del suelo siendo un problema creciente debido a la liberación de contaminantes persistentes. Estos contaminantes, que incluyen sustancias químicas tóxicas, metales pesados y compuestos orgánicos, tienen un impacto negativo en la salud humana y el medio ambiente (Carliño *et al.*, 2021). La contaminación del suelo agrícola es a menudo el resultado de prácticas agrícolas inadecuadas, métodos inapropiados de eliminación de residuos líquidos, sólidos y contaminación externa. Esto lleva a la acumulación de sustancias químicas en el suelo que pueden llegar a la cadena alimentaria y las fuentes de agua, representando un riesgo para la salud humana y causando enfermedades (Leon-Rojas, 2021).

3.6 Contaminantes en las aguas residuales de las industrias textiles

Las aguas residuales de las industrias textiles contienen una amplia gama de contaminantes, entre los que se encuentran productos químicos tóxicos, aditivos, colorantes y diversos compuestos que resultan de los procesos de teñido, acabado y lavado de textiles como se muestra en la Figura 1 (Soriano, 2022).

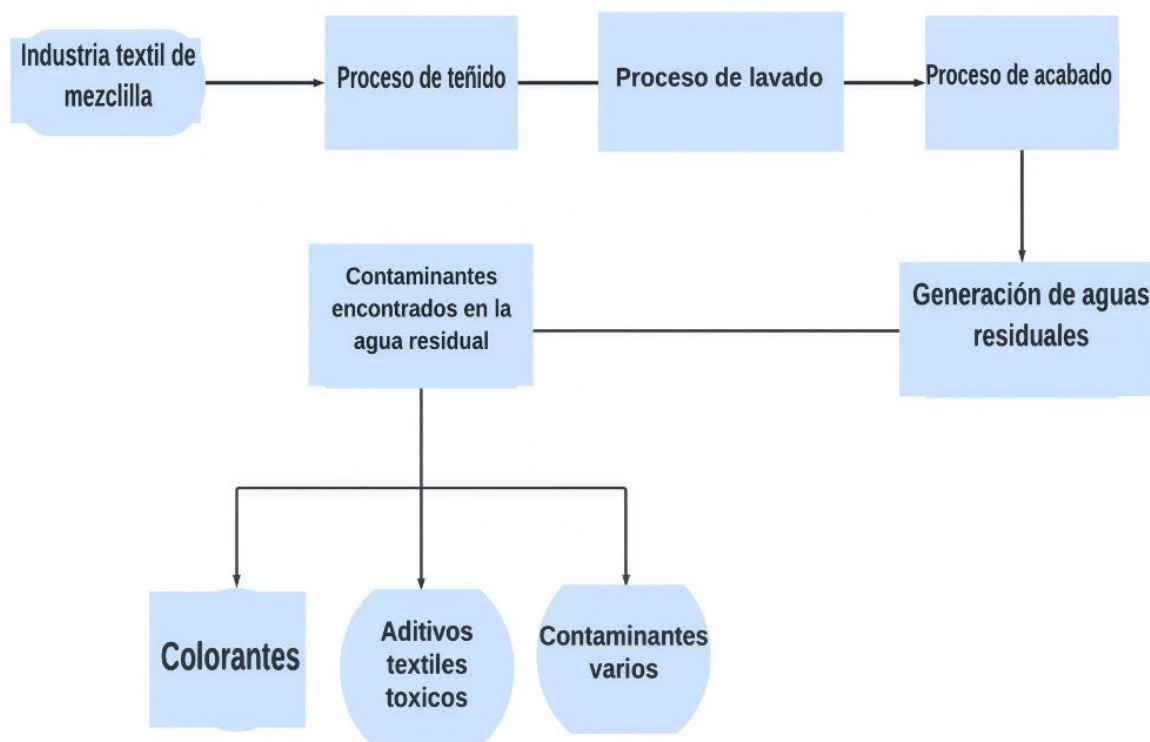


Figura 1. Diagrama de procesos de contaminantes en aguas residuales textiles (Soriano, 2022).

Los colorantes reactivos utilizados en la industria textil de mezclilla, como los azoicos, indigoides, antraquinona y ftalocianina, se han asociado con riesgos significativos para el medio ambiente y la salud humana. Estos colorantes reactivos son tóxicos, cancerígenos y mutagénicos, lo que los convierte en una amenaza para la salud (Hossen *et al.*, 2019). Su presencia en las aguas superficiales y subterráneas no solo afecta negativamente la biodiversidad acuática, sino que también plantea riesgos para la salud humana, causando enfermedades como dermatitis, irritación del tracto respiratorio y efectos alérgicos. Además, la presencia de estos colorantes reactivos en los cuerpos de agua reduce la penetración de la luz solar y el suministro de oxígeno, lo que afecta la calidad del agua y su capacidad para mantener la vida acuática (Barathi *et al.*, 2020). Los seres humanos y los animales que dependen de estos recursos hídricos corren un mayor riesgo de infecciones y enfermedades graves, incluyendo el cáncer, cuando se exponen a concentraciones más altas de estos tintes mutagénicos. En la región de Tehuacán, la descarga incontrolada de

efluentes textiles en los cuerpos de agua agrava la situación, se estima que cada empresa descarga un aproximado de 31 mil m³ de aguas residuales, estos compuestos químicos se esparcen en el medio ambiente, afectando la biodiversidad acuática y el crecimiento de las plantas (González Torres, 2019; Lemus, 2019). Las personas que viven cerca de estas industrias textiles se ven amenazadas por la degradación ambiental y la contaminación resultante (Soriano, 2022).

3.7 Toxicología de colorantes

La toxicología de colorantes se relaciona con los impactos negativos en el medio ambiente y la salud humana debido a la liberación de colorantes y pigmentos en aguas residuales. Estos compuestos presentan características tóxicas y persistentes, lo que dificulta su eliminación y transformación. La contaminación de cuerpos de agua con colorantes puede alterar los sistemas acuáticos al interferir con la penetración de la luz y contener partículas potencialmente tóxicas (Moazzem *et al.*, 2021). En México la Norma Oficial Mexicana NOM-065-ECOL-1994, establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a cuerpos receptores provenientes de las industrias de pigmentos y colorantes de acuerdo a las Tabla 1 y Tabla 2 (Ministerio de Desarrollo Social, 1995).

Tabla 1. Límites máximos permisibles de contaminantes para la industria de pigmentos inorgánicos en las descargas de aguas residuales a cuerpos receptores (Ministerio de Desarrollo Social, 1995).

Parámetro	Promedio diario	Instantáneo
pH (unidades de pH)	6 – 9	6 – 9
Demanda química de oxígeno (DQO) (mg/L)	100	150
Grasas y aceites (mg/L)	40	50
Sólidos sedimentables (ml/L)	1.0	2.0
Sólidos suspendidos totales (mg/L)	200	250

Tabla 2. Límites máximos permisibles de contaminantes para las industrias de pigmentos orgánicos y colorantes en las descargas de aguas residuales a cuerpos receptores (Ministerio de Desarrollo Social, 1995).

Parámetro	Promedio diario	Instantáneo
pH (unidades de pH)	6 – 9	6 – 9
Demanda química de oxígeno (DQO) (mg/L)	300	360
Grasas y aceites (mg/L)	40	50
Sólidos sedimentables (ml/L)	1.0	2.0
Sólidos suspendidos totales (mg/L)	200	250

Sin embargo, estos límites permisibles no son respetados por las industrias provocando una gran contaminación a causa de la grave toxicidad de los compuestos químicos ocupados en las industrias, los colorantes ocupados afectan visualmente las aguas residuales y presentan una alta toxicidad para los seres vivos que tienen contacto con estas (Gallego Ramírez *et al.*, 2022). Se han realizado varios estudios que muestran que los colorantes son muy tóxicos. En estos estudios, se evaluó su efecto en pequeños organismos acuáticos llamados *Daphnias*. Los resultados indicaron que una concentración de colorante entre 3.6 y 6.0 mg/L es suficiente para matar al 50% de las *Daphnias*. Estos efectos adversos generados en *Daphnias*, son suficientes para concluir los posibles daños e impactos sobre todos los ecosistemas que reciban aguas residuales textiles (Restrepo *et al.*, 2019). Estos estudios resaltan la importancia de evaluar y controlar la toxicidad de los colorantes en diversos sectores industriales. Los efectos de la toxicología de colorantes se extienden más allá de los organismos acuáticos, ya que también pueden tener efectos indirectos en la salud humana y en los organismos del suelo. Las personas pueden sufrir afectaciones en cerebro, riñón, hígado y corazón, también en los sistemas respiratorios, inmunológicos y reproductivos. Esto ocurre directamente a través de la inhalación o indirectamente a través de la cadena alimentaria (Slama *et al.*, 2021). En

la región de Tehuacán los índices de enfermedades hepáticas, los tumores malignos en estómago y cerebro se elevaron considerablemente por consecuencia de las descargas de aguas residuales de las industrias textiles (Lemus, 2019).

3.8 Composición química del azul índigo

El azul índigo, un compuesto químico fundamental en la industria textil, ha desempeñado un papel significativo en la coloración de textiles, especialmente en la producción de prendas de mezclilla. Su síntesis se atribuye a Adolf von Baeyer en Alemania en 1880, marcando el inicio de su uso generalizado en la industria textil debido a su excepcional resistencia a la decoloración (Watson y Penning, 1926). El azul índigo pertenece al grupo de colorantes conocidos como colorantes indígoles, los cuales se caracterizan por su insolubilidad y un compuesto de tipo indólico. El azul índigo, con fórmula química $C_{12}H_{10}O_2N_2$, es un polvo cristalino azul oscuro con un punto de fusión elevado, aproximadamente entre 390 y 392 °C. Su degradación es complicada debido a su estructura molecular plana y conjugada, posee anillos de benceno fusionados y una cadena de dobles enlaces (Figura 2). Es insoluble en agua, alcohol y éter debido a las fuertes fuerzas intermoleculares generadas por los puentes de hidrógeno, pero muestra solubilidad en cloroformo, nitrobenzono y ácido sulfúrico concentrado (Figueroa, 2022; González, 2023). En el estado sólido, el índigo se aglutina en una estructura polimérica en la que cada molécula de índigo se enlaza con cuatro moléculas circundantes. En disolventes no polares, el índigo se presenta como una molécula individual, mientras que, en disolventes polares, se produce una unión entre moléculas y la solución adquiere un tono azul (Figueroa, 2022).

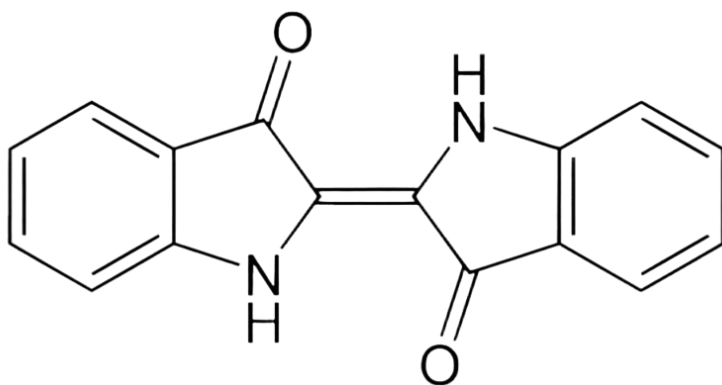


Figura 2. Estructura química de azul índigo (Figueroa, 2022).

3.9 Toxicidad del azul índigo

El uso constante del azul índigo en el teñido de mezclilla textil ha causado un grave problema ambiental, en donde se utiliza de 3 a 12 g de tinte índigo para colorear un par de jeans azules (Trujillo-Reyes *et al.*, 2010). Solamente el 80 % del colorante se fija a la tela; el resto se descarga como residuo lo que es perjudicial para el medio ambiente (Wambuguh y Chianelli, 2008).

Estudios realizados en organismos acuáticos como el pez cebra (homología del >70% con genes humanos) demuestra la gran toxicidad de este colorante demostrando que tiene efectos teratogénicos, causando coagulación del huevo, desprendimiento de cola, edema del saco vitelino, edema pericárdico y flexión de la cola. Además, son genotóxicos causando cambios histológicos al organismo de estudio (Porkodi *et al.*, 2024).

Otro estudio realizado por Ayebidun y Ajibare (2023), demostró la alta toxicidad del azul índigo en el organismo *Oreochromis niloticus*. El organismo se sometió a concentraciones de 1.5, 2.0 y 2.5 mg/L. Se demostró que la concentración letal de azul índigo fue de 2.5 mg/L demostrando una degeneración de las células, lo que afectó el corazón, las branquias, el riñón y el bazo. Las repuestas conductuales de los organismos eran natación irregular, hiperventilación, movimiento rápido de opérculos e inquietud.

En general, los colorantes son potencialmente carcinogénicos y mutagénicos, tienen baja solubilidad en agua y son altamente lipofílicos, por lo tanto, se bioacumulan fácilmente en los organismos (Abdel y Mansour, 2016; Barakat *et al.*, 2011).

3.10 Ruta de degradación de azul índigo

El azul índigo ($C_{16}H_{10}O_2N_2$) es un colorante formado por dos anillos indólicos unidos por un doble enlace central ($-CH=CH-$), responsable de su coloración azul y su alta estabilidad química. Aunado a la baja solubilidad en agua dificulta su eliminación, convirtiéndolo en un contaminante persistente en el medio ambiente (Figuerola, 2022).

La degradación del azul índigo implica un proceso de oxidación en donde se realiza la ruptura del doble enlace conjugado y la posterior transformación de sus anillos aromáticos. El proceso de oxidación puede iniciarse mediante reacciones enzimáticas

cómo lacasas, peroxidases de manganeso (MnP) y peroxidases de lignina (LiP), presentes en diversos hongos ligninolíticos. Estas enzimas generan radicales libres que atacan el enlace central, dando lugar a productos intermedios como isatina ($C_8H_5NO_2$), un compuesto derivado de la ruptura del sistema indólico, y a su vez predecesor de otras moléculas como ácido antranílico ($C_7H_7NO_2$) o isatoico anhidrita, que pueden continuar degradándose hacia moléculas simples como CO_2 y H_2O . El proceso de oxidación también puede llevarse fotoquímicamente (Iuga *et al.*, 2012; Zhou *et al.*, 2023).

Estudios analíticos mediante técnicas como espectrometría de masas-masas (MS/MS) y cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (HPLC-MS) han permitido identificar no solo los productos de degradación como la isatina y el ácido antranílico, sino también nuevos compuestos intermedios con diferentes grados de oxidación. Estos productos incluyen derivados oxigenados y compuestos de menor peso molecular, lo cual sugiere la existencia de rutas de degradación adicionales más complejas (Mantzouris *et al.*, 2014; Witkoś *et al.*, 2015).

La ruta reductiva, por otro lado, el azul índigo al reducirse se forma leucoíndigo, una versión incolora y soluble que puede oxidarse nuevamente en contacto con oxígeno. Esta reacción implica una adición de electrones al doble enlace central ($-CH=CH-$), interrumpiendo su sistema conjugado y eliminando su cromoforicidad (Harriman, 2025).

3.11 Tratamiento de las aguas residuales de las industrias textiles

El tratamiento de aguas residuales textiles plantea un desafío debido a su falta de biodegradabilidad y alta toxicidad. El tratamiento es a través de procesos físicos, químicos y biológicos que reducen o eliminan los colorantes presentes en las aguas residuales. Sin embargo, los métodos actualmente disponibles presentan limitaciones, ya sea desde una perspectiva técnica o económica. En la mayoría de los casos, es necesario combinar los tipos de tratamientos para lograr una eliminación efectiva de los colorantes (Acosta Torres *et al.*, 2018).

El tratamiento de las aguas residuales industriales implica procesos como la adsorción, la filtración, el intercambio iónico, la oxidación, coagulación, la floculación, la ozonización, biológicos y combinados (Slama *et al.*, 2021).

a) Adsorción: Implica la unión de contaminantes a materiales adsorbentes, como carbón activado o alternativas más asequibles como arcilla de bentonita. Esto se logra a través de una alta área superficial de adsorbente y se ha investigado ampliamente (Arora *et al.*, 2020).

Las nanopartículas debido a su pequeño tamaño y alta superficie, se utilizan para adsorber los colorantes de las aguas residuales, con la posibilidad de ser regeneradas y reutilizadas. (Umar *et al.*, 2021).

b) Filtración: Involucra procesos de separación basados en membranas, como la ósmosis inversa, ultrafiltración y nanofiltración, para obtener agua reutilizable y colorantes reciclados (Liu *et al.*, 2020).

c) Intercambio iónico: Los adsorbentes de intercambio iónico se usan en aguas residuales para unir iones dañinos de carga opuesta y liberar iones de hidrógeno no dañinos. Esta técnica se emplea para eliminar colorantes reactivos y catiónicos. A pesar de su eficacia para eliminar contaminantes tóxicos y solubles, su uso es limitado debido a su alto costo (Hassan y Carr, 2018).

d) Oxidación: Los procesos de oxidación avanzada (AOP) se usan ampliamente para descomponer tintes textiles y otros contaminantes en aguas residuales. Estos métodos implican la generación de radicales activos en presencia de un catalizador, como en la reacción de Fenton que utiliza peróxido de hidrógeno y iones de hierro en un medio ácido. Este proceso puede generar subproductos peligrosos en caso de oxidación incompleta y formación de lodos (Anisuzzaman *et al.*, 2022).

e) Coagulación/floculación: La coagulación y floculación son métodos químicos simples para el tratamiento previo de aguas residuales con tintes textiles. Implican la adición de productos químicos cargados, como sulfato de aluminio y cloruro de hierro, para inducir la formación de partículas que se sedimentan y eliminan materiales insolubles en suspensión (Lu *et al.*, 2016).

f) Ozonización: El ozono se utiliza como un fuerte oxidante para eliminar compuestos tóxicos en aguas residuales textiles. Además de su capacidad de limpieza, el ozono en estado gaseoso no afecta el volumen de las aguas residuales ni genera lodos. Sin embargo, este proceso es sensible a factores como el pH, las sales y la temperatura, además de que puede liberar compuestos tóxicos (Slama *et al.*, 2021).

g) Tratamiento biológico: La biorremediación es un proceso natural que involucra una amplia variedad de microorganismos, como bacterias, hongos, algas y levaduras, presentes en las aguas residuales contaminadas (Zhao *et al.*, 2020,). Estos microorganismos pueden utilizar diversas técnicas, como adsorción, biosorción, bioacumulación, eliminación o mineralización, para convertir sustancias nocivas en productos no dañinos (Donkadokula *et al.*, 2020). Esta estrategia es respetuosa con el medio ambiente, segura, limpia y económica, y puede combinarse con otras tecnologías.

h) Tratamientos combinatorios: A menudo, se aplican varios pasos de tratamiento para obtener una descontaminación completa. Esto puede incluir tratamientos químicos seguidos de biodecoloración y, finalmente, procesos físicos para garantizar la eliminación total de contaminantes en las aguas residuales textiles (Aragaw, 2020).

3.12 Micorremediación

La micorremediación es un proceso efectivo para tratar aguas residuales textiles mediante el uso de hongos, que son altamente eficientes en la degradación de contaminantes orgánicos e inorgánicos. Los hongos utilizan múltiples mecanismos para transformar los compuestos contaminantes. Su maquinaria enzimática, es crucial para la degradación de tintes textiles, y su capacidad para adsorber colorantes los hace especialmente adecuados (Rai y Vijayakumar, 2023). Los hongos son excelentes degradadores debido a su crecimiento vigoroso, redes de hifas extensas, resistencia a las condiciones ambientales cambiantes y sistemas enzimáticos extracelulares. Utilizan diversas estrategias, como la biodecoloración, la biosorción y la bioconversión, para limpiar el entorno de contaminantes persistentes. Los hongos se están convirtiendo en herramientas valiosas para la remediación ambiental debido a sus grandes beneficios, diversos estudios han evaluado la reducción de contaminantes a través de esta técnica (Yadav *et al.*, 2021) (Mooralitharan *et al.*, 2021). La micorremediación ha demostrado una gran eficacia en la degradación de diversos contaminantes tales como pesticidas, herbicidas, insecticidas, metales pesados, colorantes y productos farmacéuticos (Mooralitharan *et al.*, 2021). Se debe entender que la micorremediación se puede aplicar tanto en suelos como agua. Los hongos más destacables ocupados son los hongos *Aspergillus sydowii*, *Aspergillus destruens* y *Trichoderma harzianum*, los cuales han sido ocupados para biorremediar

aguas residuales de biorrefinerías contaminadas y en degradación de diésel (Yadav *et al.*, 2021).

3.13 *Trichoderma* en la micorremediación de colorantes textiles

Entre los hongos utilizados en micorremediación, el género *Trichoderma* ha destacado por su versatilidad metabólica, crecimiento rápido, resistencia a condiciones ambientales adversas y capacidad para producir una amplia gama de enzimas extracelulares, especialmente lacasas, lignina peroxidasas y manganeso peroxidasas (Harman *et al.*, 2004; Nugroho *et al.*, 2023), las cuales permiten la degradación oxidativa de moléculas complejas, como los colorantes, transformándolos en compuestos menos tóxicos.

Trichoderma es un género de hongos filamentosos presente en suelos, donde actúa como descomponedor de materia orgánica y como organismo antagonista de fitopatógenos. Esta capacidad adaptativa, junto con su habilidad para colonizar medios contaminados, lo convierte en un excelente candidato para aplicaciones de micorremediación (Dahliaty *et al.*, 2025).

Diversos estudios han demostrado que especies como *T. asperellum*, *T. virens* y *T. harzianum* son capaces de biodecolorar eficientemente distintos tipos de colorantes textiles. Estos procesos pueden involucrar tanto la biosorción, como la biodecoloración enzimática, siendo esta última la más efectiva para la eliminación completa del compuesto (Dahliaty *et al.*, 2025; Sweety *et al.*, 2017). De acuerdo a Pay Casalla (2023) el hongo *Trichoderma* muestra una capacidad de degradación ante compuestos fenólicos, es capaz de degradar el rojo de fenol a través de las enzimas generadas por el hongo, las cuales son las responsables de descomponer el colorante.

En estos estudios, se ha observado que la actividad enzimática de lacasas puede ser inducida por la presencia del colorante, lo que sugiere un mecanismo de respuesta adaptativa del hongo al estrés químico (Nugroho *et al.*, 2023).

3.14 Generalidades de *Trichoderma*

El género *Trichoderma* (Tabla 3) pertenece al grupo de los ascomicetos, es conocido por su capacidad para degradar la celulosa a través su maquinaria enzimática. Este género abarca una amplia variedad de especies de hongos saprófitos comunes en suelos, originalmente se identificaron alrededor de 30 especies basándose en sus características morfológicas, sin embargo, en la actualidad se han identificado más de 100 especies de *Trichoderma* a través de técnicas moleculares y biotecnológicas (Companioni González *et al.*, 2019).

Tabla 3. Taxonomía de *Trichoderma spp* (Quevedo Jaramillo, 2022).

Nombre	<i>Trichoderma spp.</i>
Reino	Fungi
Filo	Ascomycota
Clase	Sordariomycetes
Orden	Hypocreales
Familia	Hypocreaceae
Género	<i>Trichoderma</i>

Las especies de *Trichoderma* comparten características como la presencia de micelio con septos simples en su fase vegetativa, la reproducción asexual mediante conidios y la capacidad de formar clamidosporas que les permiten sobrevivir en condiciones adversas. En particular, existen especies notables como *T. harzianum*, *T. viride*, *T. koningii* y *T. hamatum* los cuales son de importancia en la agricultura. Estas especies se caracterizan por su rápido crecimiento, alta producción de esporas y su capacidad para adaptarse a diversas condiciones de suelos agrícolas. Además, pueden actuar como endófitos en la rizosfera de las plantas, colonizando el sistema radicular y protegiendo a las plantas de patógenos (Quevedo-Jaramillo, 2022) (Bonifaz-Játiva y Rubio-Zurita, 2023). *Trichoderma* ejerce su acción contra los patógenos a través de

varios mecanismos, como la competencia por nutrientes, la producción de metabolitos antibióticos, el micoparasitismo y la estimulación del crecimiento y la resistencia de las plantas (Quevedo-Jaramillo, 2022).

El género *Trichoderma* se utiliza en aplicaciones agrícolas y de biorremediación debido a su capacidad para degradar contaminantes, controlar patógenos de plantas y estimular el crecimiento de las plantas. Este género es valioso porque ayuda a proteger las plantas y mejorar la salud del suelo de manera sostenible, minimizando la necesidad de productos químicos dañinos. Su resistencia a condiciones adversas y alta capacidad de esporulación lo hacen una opción eficaz y versátil en estas aplicaciones (Pessôa *et al.*, 2021).

Trichoderma es un grupo de hongos que se encuentra en el suelo y se caracteriza por su resistencia a diversos compuestos tóxicos, como metales pesados, sustancias químicas nocivas, e incluso pueden soportar amplias variaciones de temperatura. Estas propiedades hacen que *Trichoderma* sea una de las mejores opciones para la biorremediación de sustancias tóxicas. Además, diversas especies de *Trichoderma* han demostrado su capacidad como biocatalizadores para descomponer contaminantes orgánicos, incluyendo la descomposición de suelos contaminados con diésel (Cruz-Apunte y Lincango-Tuquerres, 2021). Estudios realizados destacaron a *Trichoderma*, como un género destacable en la biorremediación de contaminación por metales pesados como el cadmio. Estos hongos han mostrado la capacidad de capturar hasta el 96% del metal presente en su biomasa fúngica. Esta capacidad del hongo se basa en su composición de pared celular, que contiene diferentes polímeros con diversos grupos funcionales, lo que le permite unirse a los metales pesados. Estos hongos no degradan el metal, pero lo transforman de una forma de oxidación o complejo orgánico a otra y sea menos tóxico (Rodríguez-Villanueva, 2022).

3.15 Las actividades enzimáticas de *Trichoderma*

El género *Trichoderma* tiene la capacidad de producir una alta tasa de enzimas que ayudan a biorremediar diversos compuestos recalcitrantes como los colorantes, además este género tiene una gran ventaja. ya que es de fácil crecimiento, soporta variación de temperatura y en especial por su producción lítica, que es la etapa donde se producen enzimas extracelulares (Pay-Casalla, 2023; Soto-Cardona, 2023).

Trichoderma es capaz de producir una variedad de enzimas extracelulares como xilanasas, lacasas, pectinasas, peroxidasas y otras hidrolasas, que permiten la descomposición eficiente de componentes como la celulosa, hemicelulosa y lignina (Teo *et al.*, 2024).

Entre las especies más estudiadas se encuentra *Trichoderma reesei*, conocida por su elevada producción de celulasas y hemicelulasas. Esta especie ha demostrado la producción de enzimas como endoglucanasas, β -glucosidasas y xilanasas, tanto en medios con celulosa como con glucosa como fuente de carbono (Zhao *et al.*, 2023).

Por otro lado, *Trichoderma harzianum* también ha demostrado ser un excelente productor de enzimas lignocelulolíticas. Bajo condiciones óptimas de humedad, pH e inóculo, esta especie puede alcanzar altos niveles de actividad enzimática (Teo *et al.*, 2024). Además de enzimas hidrolíticas, *Trichoderma* puede producir enzimas oxidativas como las lacasas. Estas enzimas tienen un papel relevante en procesos de biorremediación, ya que son capaces de oxidar compuestos fenólicos, colorantes y otros contaminantes ambientales (Abd El-latif *et al.*, 2024).

4. Justificación

En los últimos años, se ha observado un aumento significativo en la pérdida de suelos agrícolas debido a la contaminación causada por una variedad de contaminantes los cuales incluyen sustancias químicas tóxicas como metales pesados, agroquímicos, hidrocarburos, colorantes, etc.

En Tehuacán, Puebla el problema actual radica en los productos químicos y tintes de la industria textil en la producción de mezclilla debido a las aguas residuales. El uso excesivo de estos compuestos en la industria textil de mezclilla ha dado lugar a la contaminación de suelos agrícolas, generando impactos directos en el rendimiento de los cultivos y poniendo en riesgo la salud de los productores.

Esta contaminación del suelo tiene el potencial de causar efectos adversos en los agroecosistemas, perjudicando la productividad de los cultivos, alterando la microbiota del suelo y afectando la salud de quienes trabajan en el campo.

La micorremediación de hongos autóctonos encontrado en los suelos agrícolas presenta un potencial de transformación de azul índigo para biorremediar los suelos contaminados por este colorante. En este sentido, el género *Trichoderma* es un candidato para la biorremediación en suelos agrícolas contaminados por azul índigo en la zona de Tehuacán. Se debe aprovechar el potencial biotecnológico de estos hongos en la degradación de contaminantes. Los resultados de este proyecto pueden ser fundamentales para el desarrollo de estrategias efectivas en el tratamiento de aguas residuales que son aprovechadas en el sector agrícola y la promoción de la sostenibilidad en la agricultura.

5. Objetivos

5.1 Objetivo general:

Evaluar la micorremediación a través de la biodecoloración de azul índigo mediante cepas de hongos del género *Trichoderma* autóctonos a nivel *in vitro* y *ex situ*.

5.2 Objetivos específicos:

1. Analizar mediante métodos físicos y químicos muestras de suelo y agua de la localidad de estudio contaminados con azul índigo bajo la normativa mexicana.
2. Aislar, identificar y caracterizar cepas de hongos presentes en los suelos agrícolas de Tehuacán, Puebla contaminados con azul índigo.
3. Evaluar la tolerancia de las cepas fúngicas a diferentes concentraciones de azul índigo bajo condiciones *in vitro*.
4. Evaluar el porcentaje de biodecoloración del azul índigo y las actividades enzimáticas (lacasas, veratril alcohol oxidasa y manageneso peroxidasa) por las cepas de *Trichoderma harzianum* bajo condiciones *in vitro*.
5. Evaluar la biodecoloración de azul índigo por las cepas fúngicas en aguas residuales provenientes de la industria textilera de Mezclilla bajo condiciones *ex situ*.
6. Evaluar la biodecoloración de azul índigo por las cepas fúngicas en suelo modelo agrícola a nivel microcosmos.

7. Hipótesis

Las cepas autoctónas del género *Trichoderma* biodecolorarán el azul índigo a través de la micorremediación *in vitro* y *ex situ*.

8. Metodología

8.1 Sitio de estudio

La zona de muestreo se ubica en Tehuacán, en el Estado de Puebla, México, con coordenadas de 18.43145° N y 97.35834° O (Figura 3). Tehuacán cuenta con un clima semiseco cálido, su temporada de lluvias es en verano; es el clima predominante en el área correspondiente al Valle de Tehuacán. La temperatura media anual en Tehuacán es entre 22°C y 18°C, la precipitación anual de 200 a 1,800 mm (Conabio, 2019).

En el área, se encuentran dos caudales de agua. Uno de ellos proviene de un pozo y se utiliza para uso común en la comunidad, mientras que el otro caudal corresponde a agua residual, principalmente destinada al riego de cultivos. Es una zona de cultivo de maíz, se riega periódicamente con el caudal de aguas residuales contaminadas con efluentes textiles.



Figura 3. Campos agrícolas en el Ejido de San Diego Chalma Tehuacán Puebla.

La vegetación predominante de la región es de tipo xerófila, con plantas adaptadas a las condiciones de sequía, como cactáceas, agaves y otras suculentas. Además, se pueden encontrar árboles como el mezquite y el huizache. Los cultivos principales en

la zona incluyen maíz, frijol, chile, tuna, maguey, hortalizas, entre otros (Conabio, 2019).

8.1.1 Caracterización física y química de agua y suelo de Tehuacán, Puebla.

Se llevaron a cabo las actividades de muestreo en la zona de estudio de acuerdo con las normativas establecidas Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000 para la toma de muestras de suelo y NOM-230-SSA1-2002 para la toma de muestras de agua.

8.1.2 Análisis de suelo

Las muestras de suelo (suelo impactado por la industria textil y suelo sin afectaciones industriales textiles) se analizaron de acuerdo con los parámetros de la Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT-2000: pH, CE (dS cm^{-1}), textura (%), materia orgánica (%), nitrógeno total (%), fósforo disponible (mg/kg), macronutrientes ($\text{cmol}(+) \text{kg}^{-1}$), micronutrientes (mg/kg) y elementos potencialmente tóxicos (mg/kg) (DOF, 2002).

8.1.3 Análisis de agua

Las muestras de agua (caudal de pozo y caudal impactado con aguas industriales textiles) se analizaron de acuerdo a los parámetros de la norma NOM-230-SSA1-2002: pH, conductividad eléctrica ($\mu\text{S/cm}$), coliformes fecales (NMP/100 mL), sólidos suspendidos totales, demanda bioquímica de oxígeno, demanda química de oxígeno, N-nitratos, N-nitritos, nitrógeno total Kjeldahl, nitrógeno total, fósforo total, sulfatos, sulfuros, arsénico, cobre y mercurio (mg/L) (DOF, 2005).

8.1.4 Determinación de la concentración de azul índigo en el suelo

Se recolectó 50 g de muestra de suelo contaminado, el suelo fue tamizado utilizando una malla número 16 (1.00 mm, pulg. 0.0394). Posteriormente, se colocó 1 g de suelo tamizado en un matraz de vidrio envuelto en papel aluminio y se añadieron 13.5 mL de agua destilada. La mezcla se sometió a agitación durante 30 minutos a 250 rpm. Este procedimiento se realizó por triplicado. Al finalizar la agitación, se filtró el contenido de cada matraz con un embudo y papel filtro (Whatman no.1). El filtrado

obtenido se centrifugó a 10,000 rpm durante 5 minutos. Finalmente, cada muestra se analizó en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 649 nm.

8.1.5 Determinación de la concentración de azul índigo en el agua

Se recolectó 50 mL de muestra de agua contaminada. La muestra se colocó en microtubos y se centrifugó a 10,000 rpm durante 5 minutos. Posteriormente, se realizó una dilución de la muestra en una proporción de 1:4. Cada muestra diluida se analizó por triplicado en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 649 nm.

8.2 Aislamiento de hongos autóctonos

8.2.1 Preparación de medio de cultivo nutritivo líquido

Se llevó a cabo la preparación de medio de cultivo nutritivo líquido (Tabla 4) suplementado con micronutrientes (la formulación de micronutrientes se muestra en la Tabla 5). Se realizó diluciones mediante matraces de 50 ml de capacidad. La elaboración de este medio de cultivo es esencial para que los microorganismos presentes en la muestra se adapten de manera óptima al medio y, de esta manera, se pueda obtener un crecimiento más rápido y eficiente (Sánchez y Martínez, 2012). Los matraces se sometieron a un proceso de esterilización para garantizar la esterilidad del medio de cultivo.

Tabla 4. Formulación del cultivo nutritivo líquido.

Composición	g/L
NH₄NO₃	7
K₂HPO₄	1
KH₂PO₄	1
Malta	0.2
Micronutrientes	1 ml
Eritromicina 0.15 g/ml etanol al 96%	15 µL
Azul índigo	0.2 g/L
pH	5.6

Tabla 5. Formulación de la solución de micronutrientes.

Composición	g/L
MgSO₄ 7H₂O	4
FeSO₄ 7H₂O	0.2
CaCl₂ 2H₂O	0.2

Una vez esterilizados, se añadió 1 g de muestra de suelo al primer matraz. Se incubó a 28°C durante 7 días a 140 rpm. Se realizó un monitoreo diario para evaluar el crecimiento de los microorganismos presentes en la muestra y la precipitación del colorante en el medio de cultivo. La agitación constante a 140 rpm permitió la homogenización del medio de cultivo y estimuló el crecimiento de los microorganismos.

En el tercer día de incubación, se observó un aumento significativo en el crecimiento de microorganismos, en particular de hongos y actinomicetos. Este crecimiento se evidenció por la disminución progresiva del colorante en el medio de cultivo. Transcurridos los días establecidos, se procedió a transferir 1 ml del contenido del primer matraz al segundo matraz. Una vez transferido, se incubará a 28°C durante 7 días a 140 rpm. Durante este proceso se registró las observaciones pertinentes y se dejó el primer matraz en la incubadora a 28°C para que continúe su crecimiento.

En el tercer día, se observó un cambio en la coloración del medio del segundo matraz y se comenzó a notar la precipitación del colorante en la parte baja del mismo, indicando un crecimiento microbiano. Transcurrido los días, se procedió a transferir 1 ml del inóculo al tercer matraz al tercer matraz. El tercer matraz se incubó a 28°C durante 7 días a 140 rpm. Una vez concluido el proceso se procedió a sembrar directamente de los matraces en placas Petri con medio mineral enriquecido de malta.

8.2.2 Preparación de placas con medio mineral enriquecido de malta

Se realizó la preparación de placas Petri con medio mineral enriquecido de malta y eritromicina (Tabla 6) para aislar hongos del género *Trichoderma* hasta la obtención de cultivos axénicos (Sánchez Y Martínez, 2012).

Tabla 6. Formulación del medio mineral enriquecido de malta.

Composición	g/L
Extracto de Malta	20
KH₂ PO₄	0.5
MgSO₄ 7H₂O	0.5
NH₄ NO₃	0.5
Solución de micronutrientes	1 ml
pH	5.6
Eritromicina 0.15 g/ml etanol al 96%	1 ml
Agar	20

Durante un periodo de incubación de 7 días a 28°C. Una vez concluida la etapa de incubación, se procedió a agrupar los microorganismos con características morfológicas similares. En el caso de los hongos, se utilizó su estructura y color para su identificación y se les asignó una clave de identificación.

8.2.3 Conservación de los hongos aislados

Se empleó la técnica de crioconservación con glicerol descrita por Corredor (2002). Para ello, se añadió 1 mL de glicerol al 20% (v/v) previamente esterilizado y 500 µL en microtubos estériles de 2 mL. Posteriormente, se incorporó el cultivo esporulado de los hongos. Los microtubos fueron almacenados a -20°C para su conservación.

8.3 Identificación de hongos aislados del suelo

8.3.1 Identificación microscópica

Se llevó a cabo la técnica de microcultivos descrito por Arenas-Guzmán y Torres-Guerrero (2020) con el objetivo de identificar los hongos obtenidos.

La visualización de las estructuras reproductivas de cada hongo permitió una identificación considerando las características morfológicas como la estructura de hifa, forma y tamaño de esporangios y presencia o ausencia de clamidosporas.

Los microcultivos consistieron en la siembra de los hongos en PDA, para permitir la formación de estructuras reproductivas. Una vez formadas estas estructuras, se realizó la observación microscópica con ayuda de un portaobjetos y un cubreobjetos, esto con el fin de determinar la morfología y características de los hongos. Se cortó un fragmento de 1 cm² de agar PDA y fue colocado sobre un portaobjetos, se prosiguió a inocular por picadura en cada lado y fue cubierto con un cubreobjetos. Posteriormente fueron incubados a 28°C durante un periodo de tiempo de tres días. Una vez formadas las estructuras reproductivas de los hongos, se procedió a la observación microscópica utilizando un microscopio óptico. La identificación de los géneros de hongos se realizó comparando las características morfológicas de la colonia (textura, tipo de micelio, color, tipo de hifas) de acuerdo a la guía de identificación propuesta por Barnett y Hunter (2006).

8.3.2 Identificación por la amplificación de secuencias intergénicas (ITS)

Se realizó un aislamiento en placas Petri con medio PDA de los hongos seleccionados, los cuales fueron identificados a través de la amplificación y secuenciación de la región ITS. Las cepas seleccionadas se enviaron al servicio de secuenciación del Colegio de Posgraduados. La amplificación por PCR de la región ITS se realizó con los cebadores ITS5 (5'-GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G-3') e ITS4 (5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3') (White *et al.*, 1990).

Las secuencias obtenidas fueron sometidas a un análisis filogenético utilizando inferencia bayesiana. Las secuencias se depositaron en la base de datos del GenBank con número de accesoión PV707074, PV707075 y PV707076.

8.4 Pruebas de tolerancia de azul índigo

Las pruebas de tolerancia de azul índigo se llevaron a cabo con la técnica modificada de Gao y cols. (2023). Se realizó medio de cultivo PDA suplementado con azul índigo por triplicado. Se agregaron diferentes concentraciones de azul índigo: 0 (testigo), 0.05, 0.10, 0.15, y 0.20 g/L como se muestra en la Tabla 7. En donde se sembraron los hongos de interés para la investigación. Se utilizó papel celofán el cual se colocó entre el medio de cultivo y el inóculo del hongo esto con el fin de medir la biomasa seca al final del ensayo. El testigo permitió la comparación de las tasas de crecimiento de los hongos sembrados en las distintas concentraciones con colorante.

Las placas se incubaron a 28°C durante 7 días. Se realizó un monitoreo cada 24 h donde se tomarán mediciones del micelio para determinar el porcentaje de inhibición de crecimiento radial (PICR) (Martínez-Salgado *et al.*, 2021). Además, se calculó el porcentaje de viabilidad de esporas.

Para conseguir el cálculo de porcentaje de inhibición se implementó la Ecuación no. 1 indicada a continuación:

$$\% \text{ PICR} = \left(\frac{(\text{CR Testigo mm})(\text{CR Tratamiento mm})}{(\text{CR Testigo mm})} \right) \times 100$$

Tabla 7. Diseño experimental de prueba resistencia de azul índigo.

Cepas fúngicas	azul índigo [g/L]
TehAzo1	0 (Testigo)
TehAzo2	0 (Testigo)
TehAzo5	0 (Testigo)
TehAzo1	0.05
TehAzo2	0.05
TehAzo5	0.05
TehAzo1	0.10
TehAzo2	0.10
TehAzo5	0.10
TehAzo1	0.15
TehAzo2	0.15
TehAzo5	0.15
TehAzo1	0.20
TehAzo2	0.20
TehAzo5	0.20

8.4.1 Viabilidad de esporas

Una vez transcurridos los 7 días de incubación, se llevó a cabo la recolección de esporas aplicando 1 ml de agua estéril a una placa petri. Posteriormente, se realizaron diluciones seriadas hasta 10^{-4} . Se contaron las esporas utilizando una cámara de Neubauer y también fueron leídas a una longitud de onda de 610 nm en un espectrofotómetro.

Una vez concluido el recuento de esporas, se sembró cada dilución en medio de cultivo PDA a 28°C durante 7 días. Se realizó un monitoreo cada 24 h para el conteo de esporas totales germinadas, y se calculó la viabilidad de esporas de acuerdo a la ecuación no. 2.

$$\% \text{Viabilidad} = \left(\frac{\text{No. esporas germinadas tratamiento}}{\text{No. esporas germinadas testigo}} \right) \times 100$$

8.5 Ensayos de biodecoloración de Azul índigo

Se realizó en matraces de 125 ml con 50 ml de medio mineral líquido suplementado con azul índigo a 0.2 g/L (Tabla 8). Se prosiguió a inocular por triplicado de forma individual 3 discos de 10 mm de diámetro de solamente dos cepas estudiadas: TehAzo1 y TehAzo2. Los matraces inoculados se incubaron en agitación constante a 100 rpm a 28 °C durante 14 días. Matraces sin inocular fueron utilizados como control. Se realizó un monitoreo cada 24 h durante 14 días, en un espectrofotómetro con un rango de longitud de onda de 325 nm a 650 nm. El blanco correspondiente fue el medio de cultivo sin concentración de azul índigo. Además, se realizó a la par un monitoreo del producto de decoloración (isatina). Para visualizar los productos de decoloración se utilizó el espectrofotómetro, siguiendo la metodología de Tello-Burgos y colaboradores (2022). El pico del azul índigo se leyó a 649 nm y el pico del producto de degradación (isatina) se observó en un rango de 325 a 400 nm. Se verificó el producto de degradación isatina por medio Infrared spectroscopy (FT-IR) y a través de Cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC).

Tabla 8. Formulación del cultivo nutritivo líquido para ensayo de biodecoloración.

Composición	g/L
NH₄NO₃	7
K₂HPO₄	1
KH₂PO₄	1
Malta	0.2
Micronutrientes	1 ml
Azul índigo	0.2 g/L
pH	5.6

Para conseguir el cálculo de degradación en porcentaje se implementó la ecuación no. 3.

Ecuación no. 3:

$$\text{Biodecoloración} = \frac{(\text{Testigo}) - (\text{Tratamiento}) \times 100}{\text{Testigo}}$$

El análisis de las cinéticas de biodecoloración permite medir la velocidad, la eficiencia en el desarrollo de la biodecoloración de nuestro contaminante en el medio, además permite caracterizar la concentración remanente del colorante en el tiempo y predecir la cantidad en un tiempo futuro (Agarry y Latinwo, 2015).

Las cinéticas fueron expresadas de acuerdo a un modelo de regresión lineal. Se implementaron las ecuaciones no.4 y no.5

8.5.1 Estimación de la constante de biodecoloración (*k*)

Ecuación no.4

$$k = -\left(\frac{\ln C_t/C_o}{t}\right)$$

Donde:

C_t= Promedio de la concentración inicial del colorante

C_o= Promedio de la concentración residual del colorante

t= tiempo en días

8.5.2 Estimación del tiempo de vida media en la biodecoloración ($t_{1/2}$)

Ecuación no. 5

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k}$$

Donde:

k = constante de biodecoloración por día

8.5.3 Curva de calibración de azul indigo

Se realizó una curva de calibración de azul índigo a concentraciones de 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09, 0.1, 0.15, y 0.20 g/L (Figura 4). Las lecturas fueron realizadas por triplicado y leídas en un espectrofotómetro con una longitud de onda de 649 nm. El blanco utilizado fue medio de cultivo.

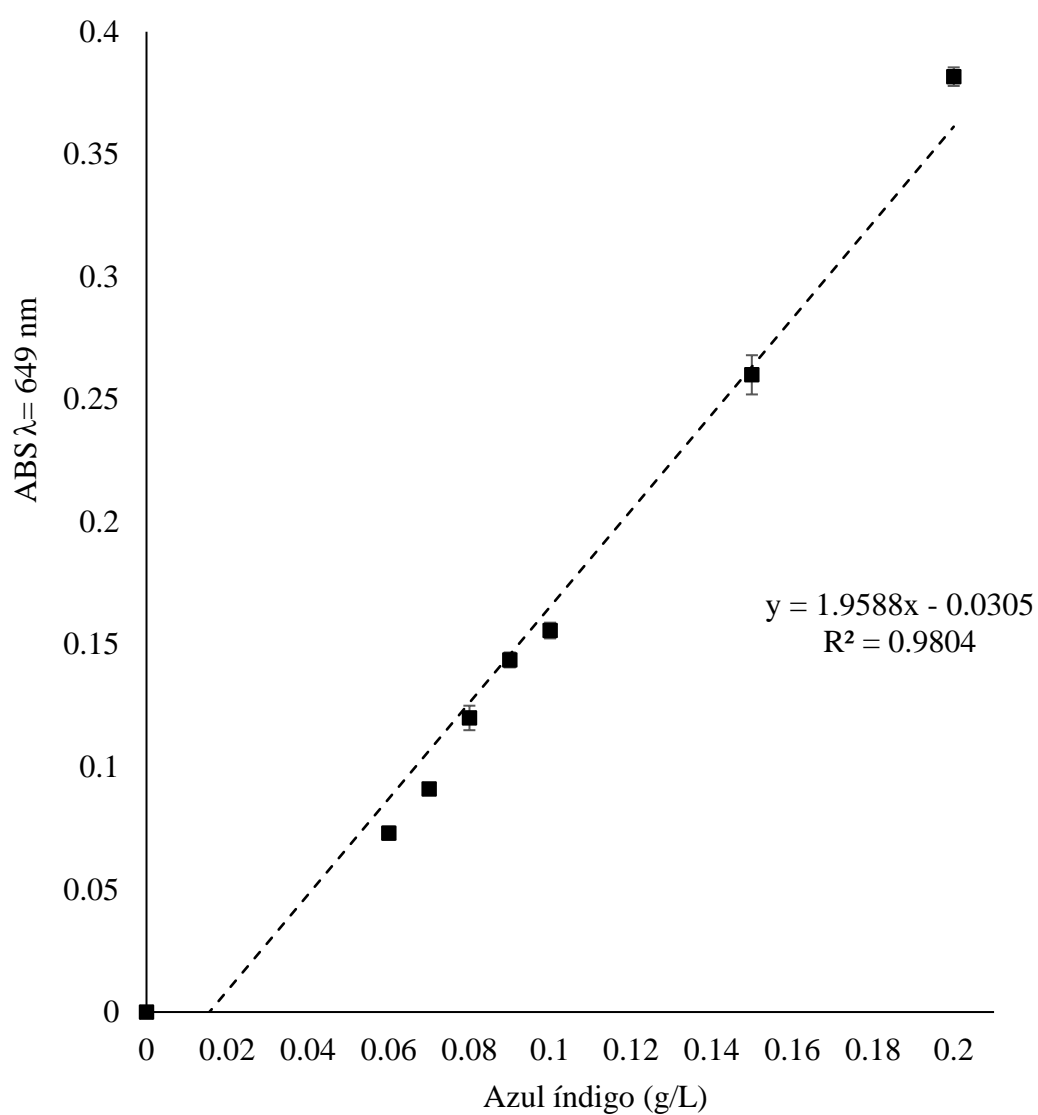


Figura 4. Curva de calibración de azul índigo.

8.5.4 Curva de calibración de isatina

Se realizó una curva de calibración de isatina a concentraciones de 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09, 0.1, 0.15, y 0.20 g/L (Figura 5). Las lecturas fueron realizadas por triplicado y leídas en un espectrofotómetro con una longitud de onda de 325 nm. El blanco utilizado fue medio de cultivo.

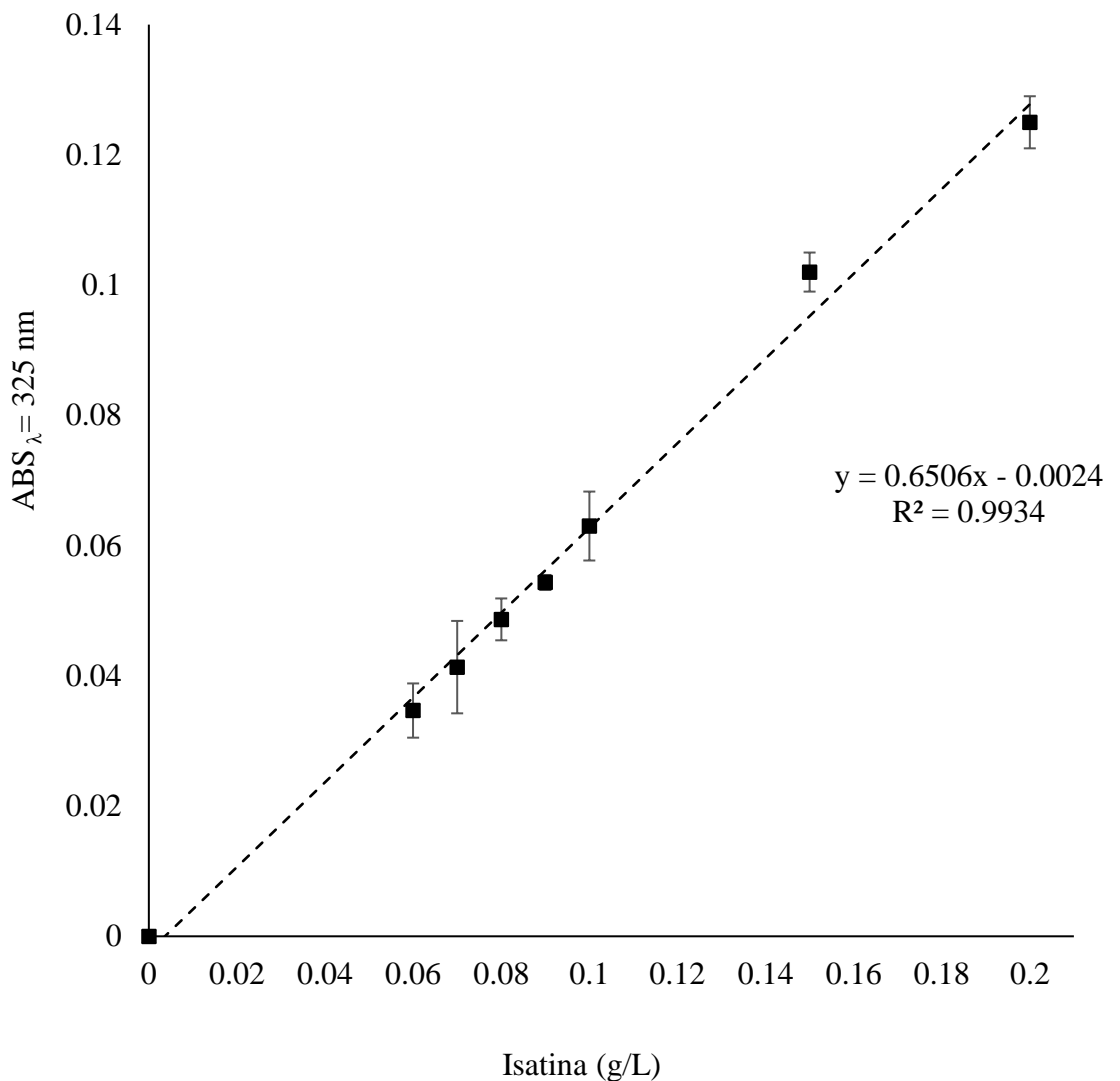


Figura 5. Curva de calibración de isatina.

8.5.5 Análisis del producto de biodecoloración a través de FITR y HPLC

Para el análisis del producto de degradación se emplearon dos técnicas analíticas: espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

Las muestras analizadas por FTIR fueron previamente filtradas utilizando papel Whatman No. 1 y posteriormente se secaron en una estufa a 50 °C durante 7 días. Una vez secas, fueron analizadas en un espectrofotómetro FTIR modelo 630 (Agilent Technologies), acoplado a un accesorio de reflectancia total atenuada (ATR), en un rango de espectro de 5000 a 650 cm^{-1} . También se analizaron los estándares internos de azul índigo e isatina con las mismas condiciones. Los espectros obtenidos fueron procesados y analizados mediante el software MicroLab.

Las muestras analizadas por HPLC fueron inicialmente filtradas con papel Whatman No. 1 y luego centrifugadas a 10,000 rpm durante 5 minutos. Posteriormente, las alícuotas del sobrenadante fueron filtradas nuevamente utilizando filtros de membrana de 0.2 μm (Whatman), y colocadas en viales para su análisis.

Las muestras fueron inyectadas en un sistema UltiMate 3000 HPLC (Thermo Scientific), equipado con una columna C18 (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm , 120 Å). La fase móvil empleada consistió en un sistema de elución en gradiente compuesto por eluyente A, correspondiente a una solución de 0.2 M de acetato de amonio en agua grado HPLC, y eluyente B, acetonitrilo grado HPLC. El análisis se realizó con un flujo constante de 1.0 mL/min, un volumen de inyección de 20 μL , y detección a una longitud de onda de 307 nm mediante un detector UV-Vis de arreglo de diodos (DAD). El gradiente de elución comenzó con 100 % de eluyente A, seguido de una transición a 40 % de eluyente A y 60 % de eluyente B a los 20 minutos, mantenido hasta los 30 minutos, para luego regresar a 100 % de eluyente A a los 32 minutos y finalizar a los 40 minutos con las mismas condiciones iniciales. Los tiempos de retención obtenidos se compararon con los de los estándares, los cuales fueron inyectados en las mismas condiciones. El procesamiento e interpretación de los cromatogramas se realizó mediante el software Chromeleon versión 6.8.

8.5.6 Determinación de actividades enzimáticas

Se cuantificaron tres tipos de enzimas: Veratryl Alcohol Oxidasas (VAO), Lacasas (Lac) y Manganese Peroxidasas (MnP). Cada 24 h se tomó una alícuota por triplicado de 2 ml por cada matraz para ser leída por UV-Vis. Al término de los 14 días se recolectó el micelio de cada matraz para determinar el peso seco constante, a través de un papel filtro Whatman No. 1, el micelio obtenido se secó con la ayuda de una estufa 50 °C durante 7 días. Posteriormente, el filtrado se centrifugó en microtubos de 2 ml durante 1 min a 10,000 rpm y fue almacenado a - 4 °C para la determinación de las actividades enzimáticas expresadas como Unidad enzimática (U) por gramo de micelio seco de acuerdo a la ecuación no. 4.

Ecuación no. 4:

Actividad enzimática específica=

$$\frac{(\text{ABS final}) - (\text{ABS inicial})(\text{volumen total de reacción (L)})}{(\text{Coeficiente de extinción molar})(\text{tiempo de reacción min.})(\text{Volumen de muestra (L)})(\text{Peso seco muestra (g)})}$$

8.5.6.1 Determinación de VAO

La mezcla de reacción se realizó a 25°C. Esta contenía 200 µL de 1mM de veratryl alcohol, 1600 µL de 0.25 M de buffer de tartrato de sodio pH 5 y 200 µL de extracto enzimático para un volumen final 2 ml. La oxidación del sustrato fue monitoreado a una absorbancia de 325 nm que corresponde a veratraldehído formado. Se reportó la actividad enzimática específica, expresada como Unidad enzimática (U) por gramo de micelio seco con un valor de coeficiente de extinción molar (ϵ)= 1.5533 mM VAO.

8.5.6.2 Determinación de Lacasas

La actividad de enzimática de Lacasa fue monitoreada por oxidación de 2,2'-azinobis, 3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonate (ABTS) a 25 °C y leída a 436 nm. La mezcla de reacción se realizó con el extracto enzimático 800 µL y 100 µL ABTS (0.5 mM concentración final en etanol) fueron diluidas con 100 µL de buffer de acetato de sodio 60 mM (pH 4.5). Será un volumen final de 2 ml. Se reportó la actividad enzimática

específica, expresada como Unidad enzimática (U) por gramo de micelio seco con un valor de $\epsilon = 0.7743$ mM Lac.

8.5.6.3 Determinación de MnP

La actividad enzimática de MnP fue determinada por la formación de complejos de Mn^{3+} -malonato a 25°C y leída a 610 nm. La mezcla de reacción se realizó con 1620 μ L de buffer de malonatos (malonato de sodio) 50 mM (pH 4.5) con 100 μ L $MnSO_4$ 1mM, 20 μ L de H_2O_2 0.1 mM, 200 μ L de extracto enzimático, 20 μ L rojo de fenol al 0.01%, 20 μ L lactato 25 mM y 20 μ L albúmina de huevo 0.1%. Para obtener un volumen final 2 ml. Se reporto la actividad enzimática específica, expresada como Unidad enzimática (U) por gramo de micelio seco con un valor de $\epsilon = 0.4062$ mM MnP.

8.6 Ensayo de biodecoloración *ex situ* de agua residual textil contaminada con azul indigo

Se recolectó agua residual textil proveniente de una industria textil, la cual fue almacenada en refrigeración a 4 °C hasta su uso en los ensayos. Se tomó 1 litro del agua recolectada la cual se sometió a centrifugación a 10,000 rpm durante 5 minutos para posteriormente ser filtrada utilizando papel filtro Whatman No. 1.

Una vez finalizado el proceso de filtración, al agua residual se le adicionó un 10% (v/v) de medio mineral líquido (ver Tabla 8), con el objetivo de suplementar nutrientes esenciales para favorecer el desarrollo de las cepas. Posteriormente, se distribuyó en 18 matraces Erlenmeyer con 50 mL de agua residual cada uno. Se procedió a inocular, por triplicado y de forma individual, el 1% (v/v) de cultivo de las cepas TehAzo1, TehAzo2 y de un cocultivo de ambas cepas (TehAzo1 y TehAzo2). Cada tratamiento incluyó sus respectivos controles negativos (matraces sin inoculación).

Las cepas TehAzo1 y TehAzo2 fueron previamente preinoculadas por separado en medio mineral líquido e incubadas durante 48 horas a 28 °C, en agitación constante a 100 rpm, con el fin de facilitar su adaptación al medio de agua residual.

Todos los matraces fueron incubados a 28 °C, con agitación constante a 100 rpm, durante un periodo de 14 días. Se realizó un monitoreo cada 48 horas mediante espectrofotometría UV-Vis, en un rango de longitud de onda de 649 nm. Para calcular el porcentaje de degradación, se aplicó la Ecuación No. 3.

El análisis de las cinéticas de biodecoloración fueron expresadas de acuerdo a un modelo de biodecoloración lineal. Se implementaron las ecuaciones no.4 y no.5

8.7 Ensayo de biodecoloración en suelo modelo contaminado con azul índigo a nivel microcosmo

Se pesaron 10 kg de suelo limpio previamente recolectado, el cual se tamizó utilizando un tamiz No. 10. Posteriormente, el suelo se distribuyó en bolsas de polipapel, colocando 250 g en cada una, y se sometió al proceso de tindalización. Una vez tindalizado, a cada bolsa se le adicionaron 14.28 mL de una solución de nitrato de potasio 0.1 M para compensar la falta de nitrógeno. Después, se contaminó con azul índigo a una concentración de 200 ppm. El suelo preparado fue transferido a frascos estériles, los cuales se cubrieron con papel aluminio para permitir el intercambio de oxígeno. Se procedió a realizar el conteo de esporas hasta llegar a las 10^8 . Una vez contadas las esporas se inoculó el 1% (v/v) por frasco. Se establecieron cinco tratamientos por triplicado en frascos: suelo contaminado con azul índigo inoculados con TehAzo1, TehAzo2 y sin inocular; y suelo no contaminado inoculado con TehAzo1, TehAzo2. Se incubaron durante 14 días a 28 °C.

Para la determinación de la biodecoloración de azul índigo, se tomó 1 g de suelo cada 48 h, el cual se colocó en 13.5 mL de agua tridestilada, con agitación constante a 250 rpm durante 30 minutos. Una vez terminado se filtró con papel Whatman No. 1 y el sobrenadante se centrifugó a 10,000 rpm por 5 minutos. Posteriormente, se midió la biodecoloración a través de UV-Vis a una longitud de onda de 649 nm mediante un espectrofotómetro. Para calcular el porcentaje de degradación, se aplicó la Ecuación No. 3.

El análisis de las cinéticas de biodecoloración fueron expresadas de acuerdo a un modelo de regresión lineal y se implementaron las ecuaciones no.4 y no.5.

Simultáneamente, se realizó el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC). Se tomó 1 g de suelo de cada frasco, se realizaron diluciones seriadas hasta 10^{-4} con agua tridestilada estéril y se sembraron 100 μ L en placas con PDA. Las placas fueron incubadas a 28 °C durante 48 h transcurrido el tiempo se procedió a contar las esporas germinadas que fueron consideradas como parámetro de sobrevivencia. También, se realizó una cinética de viabilidad de esporas determinando el número de

esporas germinadas durante los días de experimentación; se calculó la μ (tasa de esporulación) durante la fase exponencial del hongo experimental de acuerdo a la adaptación de la ecuación no. 6 (Madigan y col., 2001).

Ecuación no. 6

$$\mu = b \left[\frac{\log_{10} X_t - \log_{10} X_0}{m \cdot t} \right]$$

Donde:

b = ordenada al origen de la recta

X_0 = número inicial de esporas germinadas que han ocurrido durante el período de fase exponencial.

X_t = número final de esporas germinadas que han ocurrido durante el período de fase exponencial

m = Pendiente de la recta

t = horas de crecimiento en la etapa exponencial.

8.8 Análisis de resultados

Los datos generados se analizaron con el programa estadístico Statgraphics Centurion versión 16.1 para Windows. Se realizaron análisis de varianza de una y dos vías (ANOVA), según el diseño experimental correspondiente, y pruebas de comparación de medias múltiples de Tukey con un nivel de significancia de $p \leq 0.05$.

9. Resultados

9.1 Análisis de agua

Tabla 9. Resultados de análisis de agua de los dos caudales de la región comparados con los límites máximos permisibles dados por la NOM-001-SEMARNAT-1996.

Parámetro	Caudal de agua de pozo	Caudal de agua residual	NOM-001-SEMARNAT-1996. Límites máximos permisibles en aguas residuales
pH	7.8	7.2	5 – 10
Conductividad eléctrica (gs/cm)	1779	2000	No normado
Coliformes Fecales (NMP/100mL)	15	93	2000
Azul índigo (g/L)	N.D.	0.364	N.A.
Sólidos Suspendidos Totales (mg/L)	17	326.667	200
Demanda Bioquímica de Oxígeno (mg/L)	3.2	437.0	200
Demanda Química de Oxígeno (mg/L)	34	706	No normado
N-Nitratos (mg/L)	13.082	0.680	No normado
N-Nitritos (mg/L)	0.012	0.010	No normado
Nitrógeno Total Kjeldahl (mg/L)	0.500	78,042	No normado
Nitrógeno Total (N-Nitritos+N-Nitratos+ NTK) (mg/L)	13.594	78.732	60
Fósforo Total (mg/L)	0.25	10.89	30
Sulfatos (mg/L)	169.450	118.679	No normado
Sulfuros (mg/L)	0.100	163.758	No normado
Arsénico (mg/L)	0.0170	0.0134	0.4
Cobre (mg/L)	0.1000	0.1000	6.0
Mercurio (mg/L)	0.0010	0.0010	0.02

N.D.: no detectado; N.A.: no aplica

Los resultados de las muestras de agua (Tabla 9) se realizaron de acuerdo a la NORMA Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-1996 (DOF, 2022). Los resultados obtenidos en el análisis de los dos caudales de agua muestran una gran diferencia en la calidad del agua. El caudal de agua residual presenta niveles elevados de sólidos suspendidos totales (326.667 mg/L), demanda bioquímica de oxígeno (437.0 mg/L) y demanda química de oxígeno (706 mg/L), superando los límites permisibles establecidos por la NOM-001-SEMARNAT-1996, lo que indica una alta carga de contaminación orgánica y partículas. Además, el Nitrógeno Total (N-Nitritos + N-Nitratos + NTK) en el agua residual (78.732 mg/L) también excede el límite permitido (60 mg/L), esto por la contaminación de compuestos nitrogenados. En caso de los niveles de coliformes fecales y metales pesados en ambos caudales se encuentran dentro de los límites normativos. La concentración de azul índigo encontrada en agua fue 59 veces mayor que la dosis letal reportada por Restrepo *et al.* (2019) en *Daphnia*, lo que indica una grave afectación a los organismos acuáticos.

9.2 Análisis de suelo

Tabla 10. Resultados del análisis de suelo de la zona de muestreo de acuerdo a la NOM-021 RECNAT2000.

Parámetros	Control del suelo sin efectos de contaminación	Suelo impactado con pigmentos textiles	Clasificación de acuerdo a la NOM-021-RECNAT2000
pH	7.93	8.18	Medianamente Alcalino
CE (dS cm ⁻¹)	0.16	0.18	Efectos Despreciables
Textura (%) (arena: limo: arcilla)	53.0: 34.0: 13.0	54.0: 36.0: 10.0	N.A.
Materia orgánica (%)	8.51	8.61	Medio
Nitrogeno total (%)	0.68	0.70	Bajo
Fósforo disponible (mg/kg)	44.15	47.22	Alto
Azul índigo (g/L)	N.D.	0.083	N.A.
Macronutrientes (cmol (+) kg ⁻¹)			
Na	3.80	3.80	N.A.
K	1.04	1.04	N.A.
Ca	39.50	40.53	N.A.
Mg	5.41	6.41	N.A.
CIC	12.5	17.5	Media
Micronutrientes (mg kg ⁻¹)			
Cu	2.52	3.80	Adecuado
Fe	1118.9	40.53	Adecuado
Mn	26.58	6.41	Adecuado
Zn	9.08	1.04	Adecuado
Elementos potencialmente tóxicos (mg kg ⁻¹)			
Pb	6.90	3.40	Normal
Cd	0.28	0.38	Normal
Cr	1.99	2.3	N.A.
Ni	5.84	1.32	Normal

N.D.: no detectado; N.A.: no aplica

El resultado de la muestra de suelo impactado con pigmentos industriales de acuerdo a la NORMA Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT2000 (DOF, 2001) (Tabla 10) muestra que el suelo ha estado expuesto a aguas residuales de la industria textil de mezclilla ya que el pH del suelo es de 7.93, clasificado como medianamente alcalino. Esto puede ser consecuencia de la descarga de aguas residuales textiles (Arbona-Cabrera *et al.*, 2022). La conductividad eléctrica es de 0.16 ds/cm, lo cual indica una baja salinidad. El contenido de materia orgánica del suelo es del 8.51%, clasificado como medio. La textura del suelo, con 53.0% de arena, 34.0% de limo y 13.0% de arcilla, indica que es un suelo franco arenosa. El fósforo presenta un valor elevado de 44.15 mg/kg, clasificado como alto, lo cual podría deberse a los detergentes y agentes blanqueadores utilizados en la industria textil que son ricos en fosfatos (Garnica-Subiabre, 2023). El nitrógeno total es bajo, con un valor de 0.68%.




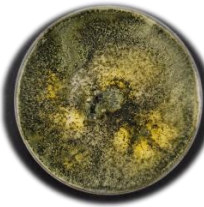






La capacidad de intercambio catiónico (CIC) de 12.5 cmol(+)/kg, clasificada como media, sugiere una moderada capacidad del suelo para retener y liberar nutrientes,

En cuanto a la presencia de metales pesados estos no son significativos. El cobre (2.52 mg/kg), hierro (1118.9 mg/kg), manganeso (26.58 mg/kg) y zinc (9.08 mg/kg) están en niveles adecuados, los niveles son normales de cadmio (0.28 mg/kg), plomo (6.90 mg/kg) y níquel (5.84 mg/kg). La concentración de cromo (1.99 mg/kg) tampoco es significativa.

La concentración de azul índigo en el suelo (0.083 g/L) es 4 veces menor que la concentración en el agua (0.364 g/L). Sin embargo, esta concentración sigue estando por encima de la dosis letal reportada en varios estudios relacionados con este contaminante (Restrepo *et al.*, 2019; Slama *et al.*, 2021).

9.3 Identificación de cepas

Tabla 11. Identificación por amplificación de genes ITS de los hongos aislados en las zonas de estudio y morfología microscópica.

Aislado	Morfología microscópica	Morfología macroscópica	Afilación Filogenética	% Identidad	UFC g ⁻¹ suelo seco
TehAzo1			<i>Trichoderma harzianum</i>	100	1.45 ±1.6
TehAzo2			<i>Trichoderma harzianum</i>	100	0.10 ±0.6
TehAzo3			<i>Aspergillus fischeri</i>	100	0.39 ±0.6
TehAzo4			<i>Fusarium spp.</i>	100	0.01 ±0.01
TehAzo5			<i>Trichoderma harzianum</i>	100	0.01 ±0.01

En la zona de estudio se aislaron e identificaron cinco hongos los cuales se describieron de acuerdo a su morfología macroscópica y microscópica.

De acuerdo a las características morfológicas coloniales se encontraron que las cepas TehAzo1, TehAzo2 y TehAzo5 presentan características de color verdoso y micelio rugoso similares al género *Trichoderma*. Las otras dos cepas TehAzo3 y TehAzo4 tenían una estructura y color diferente (Tabla 11).

La morfología microscópica nos muestra conidióforos, fiálides y conidios similares a los reportados en el género *Trichoderma* para las cepas TehAzo1, TehAzo2 y TehAzo5. la cepa TehAzo3 corresponde al género *Aspergillus* por presentar conidióforos, conidios y esporangio. Finalmente, la cepa TehAzo4 corresponde al género *Fusarium* por presentar macroconidias, clamidosporas y conidióforos (Tabla 9).

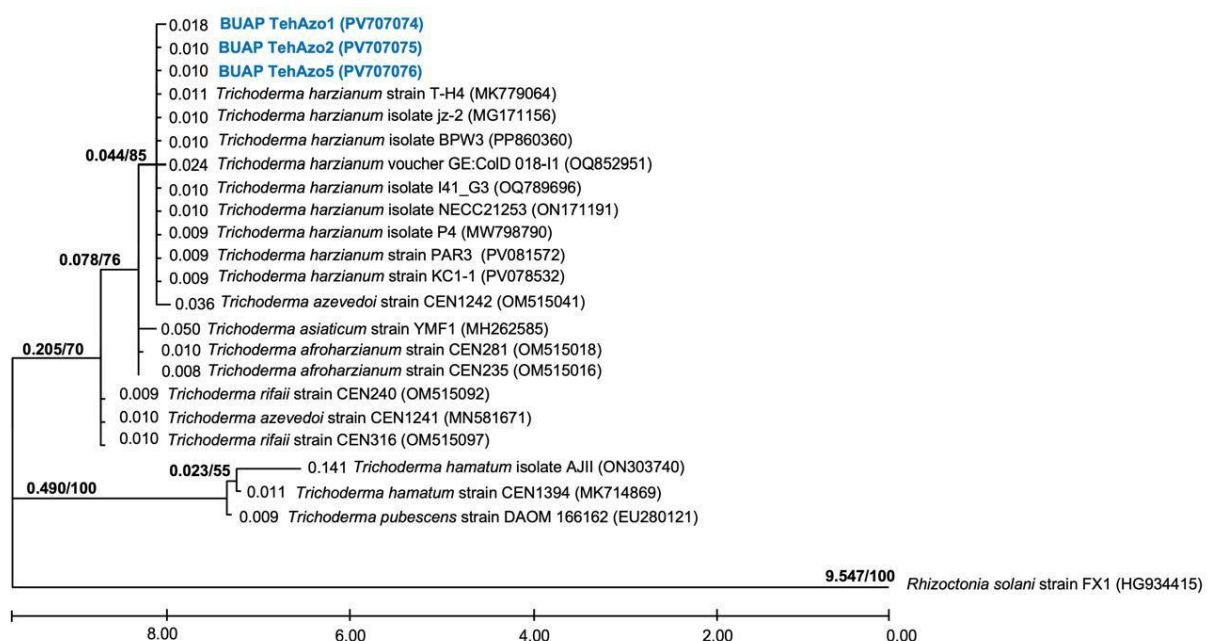


Figura 12. Árbol filogenético de las cepas de *Trichoderma harzianum*

La identificación por morfología microscópica fue comprobada a través del análisis de las secuencias ITS para las cinco cepas aisladas (Tabla 11). De acuerdo al análisis bayesiano (Figura 12) las cepas TehAzo1, TehAzo2 y TehAzo5 corresponden al *Trichoderma harzianum*. Además, tienen un 100% de similitud en sus secuencias de acuerdo al alineamiento realizado con la herramienta BLAST en la base de datos del GenBank. La cepa TehAzo3 corresponde a *Aspergillus fischeri* con 100% de similitud y TehAzo 4 corresponde al género *Fusarium*

9.4 Tolerancia de las cepas de *Trichoderma*

Tabla 12. Prueba de tolerancia de las cepas fúngicas a azul índigo.
















Cepa fúngica	Concentración de azul índigo (g/L)	No. esporas ($\times 10^6 \text{ ml}^{-1}$)	Viabilidad de esporas (%)	PICR (%)	Peso micelar (mg)
<i>T. harzianum</i>	0 (Control)	4.55 ± 0.050^b	100 ± 0.001^a	NA	376 ± 0.461^a
TehAzo1					
	0.05	3.21 ± 0.005^{fg}	72.00 ± 2.646^b	2.65 ± 0.455^a	363 ± 0.577^a
	0.10	3.18 ± 0.005^{fg}	69.33 ± 2.517^b	11.18 ± 1.290^c	296 ± 0.577^{abc}
	0.15	3.17 ± 0.015^g	68.67 ± 1.528^b	24.54 ± 2.180^f	250 ± 0.346^{bcd}
	0.20	3.16 ± 0.010^g	67.67 ± 1.528^b	38.08 ± 0.415^g	230 ± 0.001^{bcd}
<i>T. harzianum</i>	0 (Control)	4.77 ± 0.075^a	100 ± 0.001^a	NA	390 ± 0.173^a
TehAzo2					
	0.05	3.41 ± 0.010^c	71.33 ± 0.577^b	4.20 ± 0.498^{ab}	310 ± 0.100^{ab}
	0.10	3.36 ± 0.010^{cd}	70.33 ± 0.577^b	5.84 ± 0.240^b	236 ± 0.230^{bcd}
	0.15	3.30 ± 0.001^{de}	68.33 ± 2.082^b	11.00 ± 0.620^c	213 ± 0.152^{cd}
	0.20	3.26 ± 0.020^{ef}	66.00 ± 2.000^b	20.84 ± 0.510^e	203 ± 0.152^{cd}
<i>T. harzianum</i>	0 (Control)	2.31 ± 0.010^h	100 ± 0.001^a	NA	323 ± 0.404^{ab}
TehAzo5					
	0.05	1.41 ± 0.015^i	44.67 ± 3.055^c	5.90 ± 0.098^b	263 ± 0.251^{bcd}
	0.10	1.21 ± 0.010^j	37.33 ± 2.082^d	18.07 ± 0.396^d	240 ± 0.346^{bcd}
	0.15	0.885 ± 0.015^k	27.67 ± 3.215^e	35.90 ± 0.865^g	206 ± 0.208^{cd}
	0.20	0.690 ± 0.010^l	21.33 ± 3.215^f	40.99 ± 0.948^h	183 ± 0.057^d

Los valores representan la media \pm desviación estándar. PICR: Porcentaje de inhibición al azul índigo. Medias con letras diferentes en la columna, indican diferencias significativas con la prueba de Tukey ($p = 0.05$). NA: No aplica.

La cepa *Trichoderma harzianum* TehAzo2 presento el 20.40 % \pm 0.80 de inhibición (PICR) a altas concentraciones de azul índigo, siendo la cepa más resistente, además de que su viabilidad de esporas también fue alta (66.1% \pm 0.21). Las otras dos cepas TehAzo1 y TehAzo5 presentaron un porcentaje de inhibición de 38.14% \pm 0.239 y

40.32% \pm 0.549 respectivamente y una viabilidad de 69.4% \pm 0.333 y 21.4% \pm 0.333. Siendo TehAzo5 la cepa menos resistente a comparación de las otras dos cepas (Tabla 12).

Tabla 13. Crecimiento de las cepas *Trichoderma harzianum* en diferentes concentraciones de azul índigo.

Cepa	Testigo	0.5 g/L	0.10 g/L	0.15 g/L	0,20 g/L
TehAzo1					
TehAzo2					
TehAzo5					

El crecimiento de las cepas *Trichoderma harzianum* TehAzo1, TehAzo2 y TehAzo5 se evaluó a diferentes concentraciones de azul índigo (Tabla 13). A concentraciones bajas, como 0.05 y 0.10 g/L, el crecimiento micelial fue normal, sin alteraciones significativas en la morfología ni en la velocidad de desarrollo. Sin embargo, a concentraciones más altas, como 0.15 y 0.20 g/L, se observó una disminución notable en el crecimiento del micelio. Asimismo, el micelio presentó una reducción en la coloración verde y un crecimiento no uniforme.

9.5 Biodecoloración de las cepas TehAzo1 y TehAzo2

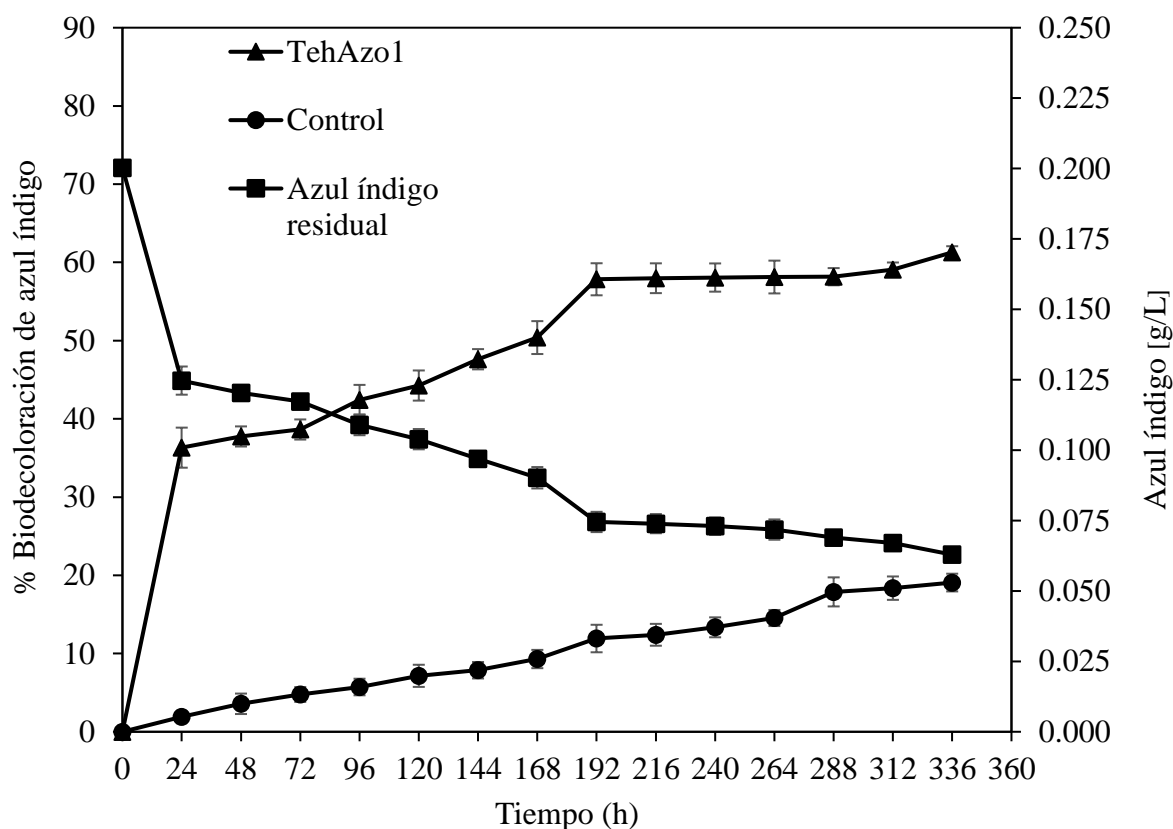


Figura 13. Porcentaje de biodecoloración de *Trichoderma harzianum* cepa Tehazo1 a las 336 h de incubación a 28 °C.

La curva correspondiente a la cepa *Trichoderma harzianum* TehAzo1 (Figura 12) mostró una biodecoloración constante del azul índigo a lo largo del tiempo. Inicialmente, a las 24 h, se observó una degradación del $36.32\% \pm 2.561$. El punto máximo se alcanzó a las 336 h, donde logró decolorizar el $61.28\% \pm 0.779$ del colorante. Esto resultó en una disminución de la concentración de azul índigo en el medio de cultivo, que inicialmente era de 0.20 g/L, a $0.0629 \text{ g/L} \pm 0.001$ a las 336 h. Aunque el control también experimentó una degradación química mínima, esta no fue significativa en comparación con la biodecoloración observada con la cepa TehAzo1.

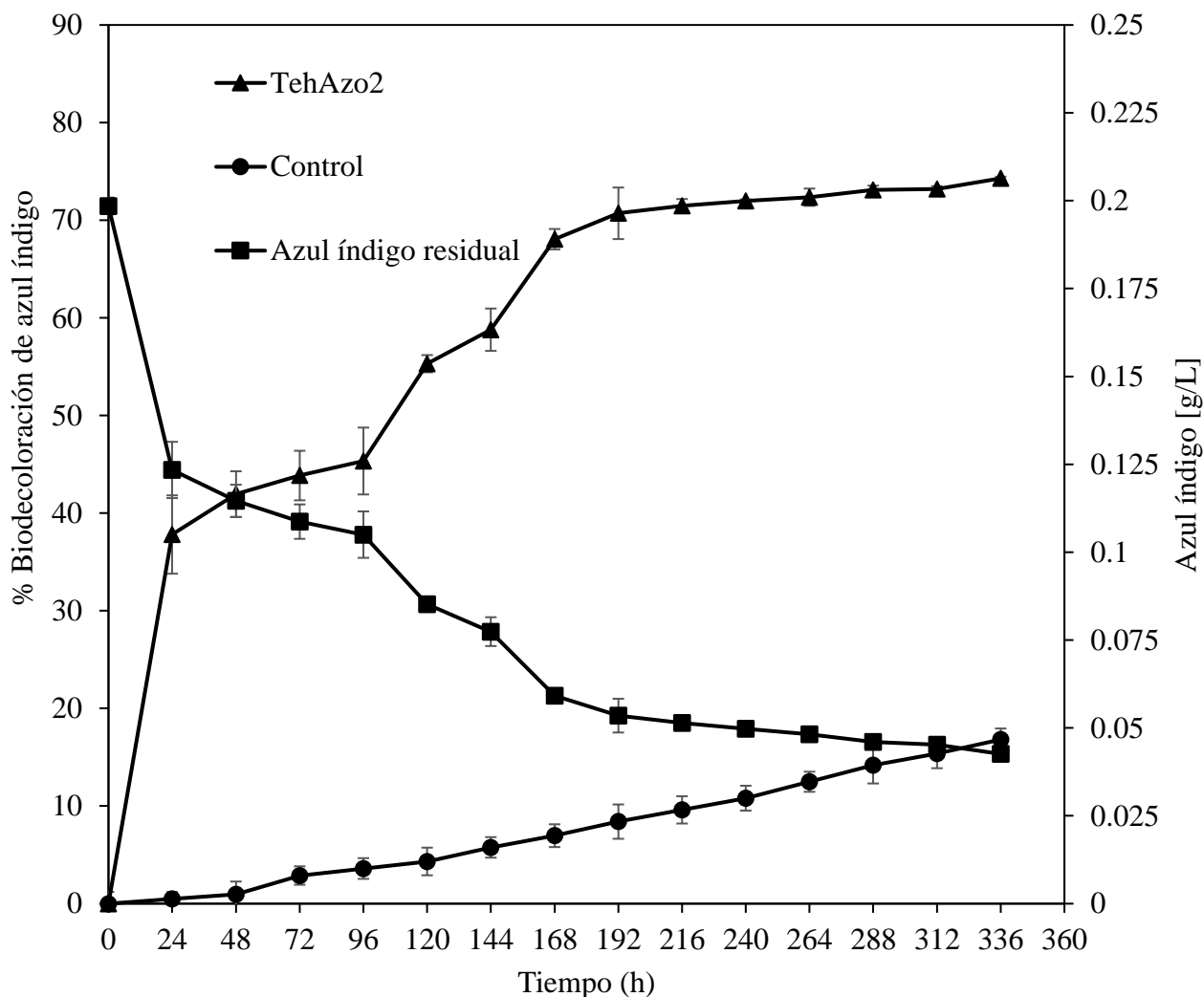


Figura 14. Porcentaje de biodecoloración de *Trichoderma harzianum* cepa TehAzo2 a las 336 h de incubación a 28 °C.

La curva correspondiente a la cepa *T. harzianum* TehAzo 2 (Figura 14) mostró una biodecoloración constante del azul índigo a lo largo del tiempo. Inicialmente, a las 24 h, se observó una degradación del 37.81% ± 4.011. El punto máximo de biodecoloración se alcanzó a las 336 h, con un 74.29% ± 0.166 de descolonización del colorante. Esto resultó en una disminución de la concentración de azul índigo en el medio de cultivo, que inicialmente era de 0.20 g/L, a 0.0426 g/L ± 0.001 a las 336 h. Después de este punto, la degradación continuó, pero en valores mínimos. El

control también experimentó una degradación química mínima, pero esta no fue significativa en comparación con la biodecoloración observada con la cepa TehAzo 2.

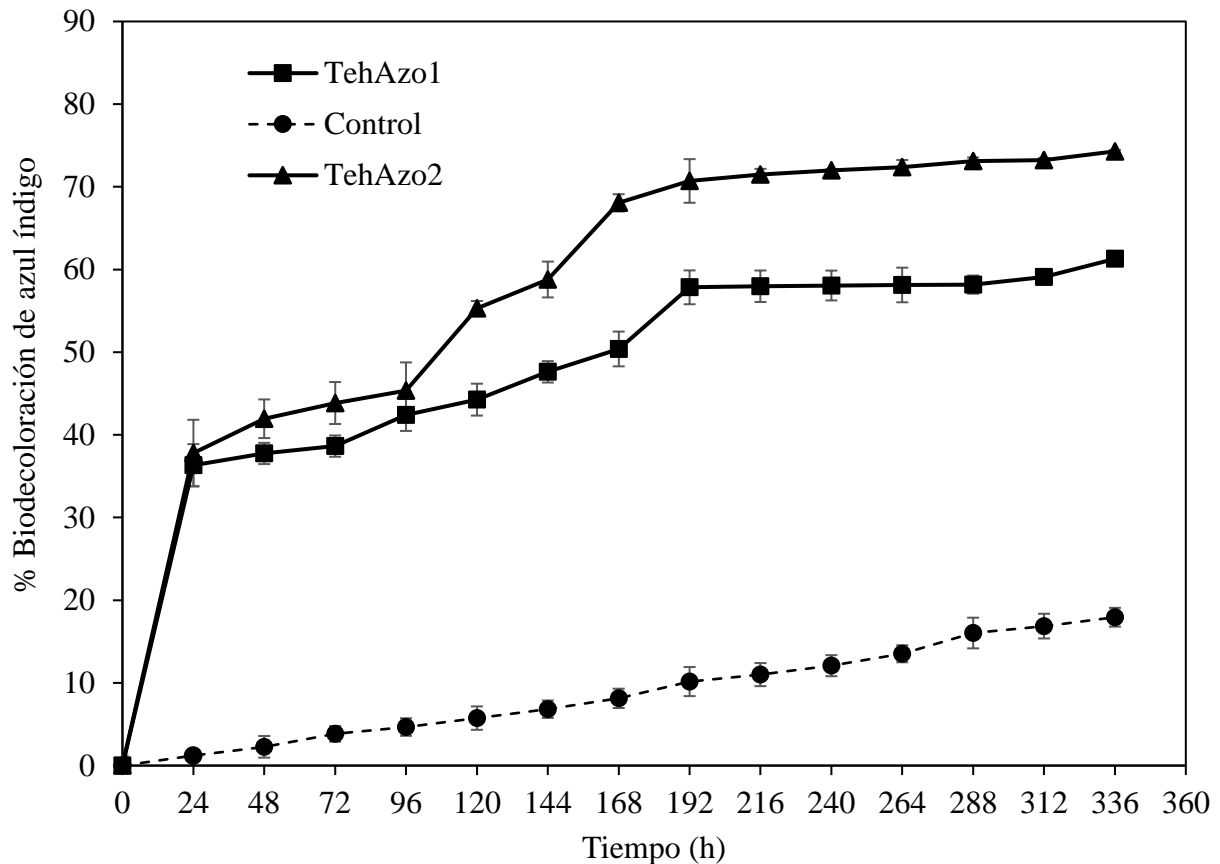


Figura 15. Biodecoloración de azul índigo por las cepas de *Trichoderma harzianum* (TehAzo1) y (TehAzo2) a las 336 h de incubación a 28 °C.

Ambas cepas de *Trichoderma harzianum*: TehAzo1 y TehAzo2 (Figura 15), tuvieron un comportamiento constante en la decoloración del azul índigo. La cepa TehAzo2 mostró una eficiencia de decoloración, alcanzando una degradación del $74.29\% \pm 0.166$ a las 336 h y una reducción de la concentración del azul índigo de 0.20 g/L a $0.0426 \text{ g/L} \pm 0.001$. En comparación, la cepa TehAzo1 alcanzó su máximo de degradación del $61.28\% \pm 0.779$ a las 336 h, reduciendo la concentración a $0.0629 \text{ g/L} \pm 0.001$. No se observaron diferencias significativas en la capacidad de biodecoloración entre las dos cepas según un análisis de comparación de medias

(prueba de Tukey, $p \leq 0.05$). Ambas cepas mostraron una biodecoloración efectiva a las 336 h. El control mostró una degradación química mínima del $17.94\% \pm 1.132$, en comparación con las cepas.

La Tabla 14 muestra los parámetros cinéticos y el porcentaje de biodecoloración del azul índigo alcanzados por las cepas *Trichoderma harzianum* TehAzo1 y TehAzo2, comparados con un control sin inoculación.

El control presentó una tasa constante de biodecoloración (k) de 0.080 por día y un tiempo de vida media ($t_{1/2}$) de 8.57 días, con apenas un $17.94\% \pm 1.132$ de biodecoloración. Lo que indica que la degradación química que sufre es muy lenta.

En comparación, la cepa TehAzo1 alcanzó una k de 0.122 por día, lo que acortó el $t_{1/2}$ a 5.63 días, logrando un $61.28\% \pm 0.779$ de biodecoloración. Este aumento es significativamente mayor respecto al control.

La cepa TehAzo2 mostró mejor desempeño, con una k de 0.139 por día y un $t_{1/2}$ de solo 4.97 días, alcanzando $74.29\% \pm 0.166$ de biodecoloración.

Se observaron diferencias significativas en la tasa constante de biodecoloración (k) y tiempo de vida media entre los tratamientos según un análisis de comparación de medias (prueba de Tukey, $p \leq 0.05$). Siendo TehAzo2 la cepa con una mejor constante de biodecoloración reduciendo la vida media del contaminante.

Tabla 14. Tasa constante de biodecoloración (k) y tiempo de vida media ($t_{1/2}$) de la biodecoloración de azul índigo por los diferentes tratamientos de las cepas de *T. harzianum*.

Tratamientos	k (día ⁻¹)	$t_{1/2}$ (días)	Biodecoloración (%)	Valor R^2	Ecuación de la regresión lineal
Control	0.080 ± 0.022^a	8.57 ± 0.140^a	$17.94\% \pm 1.132^a$	0.991	$y = -0.0003x + 0.9974$
TehAzo1	0.122 ± 0.039^b	5.63 ± 0.703^b	$61.28\% \pm 0.779^b$	0.764	$y = -0.0009x + 0.8359$
TehAzo2	0.139 ± 0.035^c	4.97 ± 0.229^c	$74.29\% \pm 0.166^b$	0.806	$y = -0.0011x + 0.8281$

Los valores representan la media \pm desviación estándar; control: medio sin inocular; k : constante de biodecoloración; $t_{1/2}$: tiempo de vida media de la biodecoloración del azul índigo; R^2 : coeficiente de la regresión lineal. Medias con letras diferentes en la columna, indican diferencias significativas con la prueba de Tukey ($p = 0.05$).

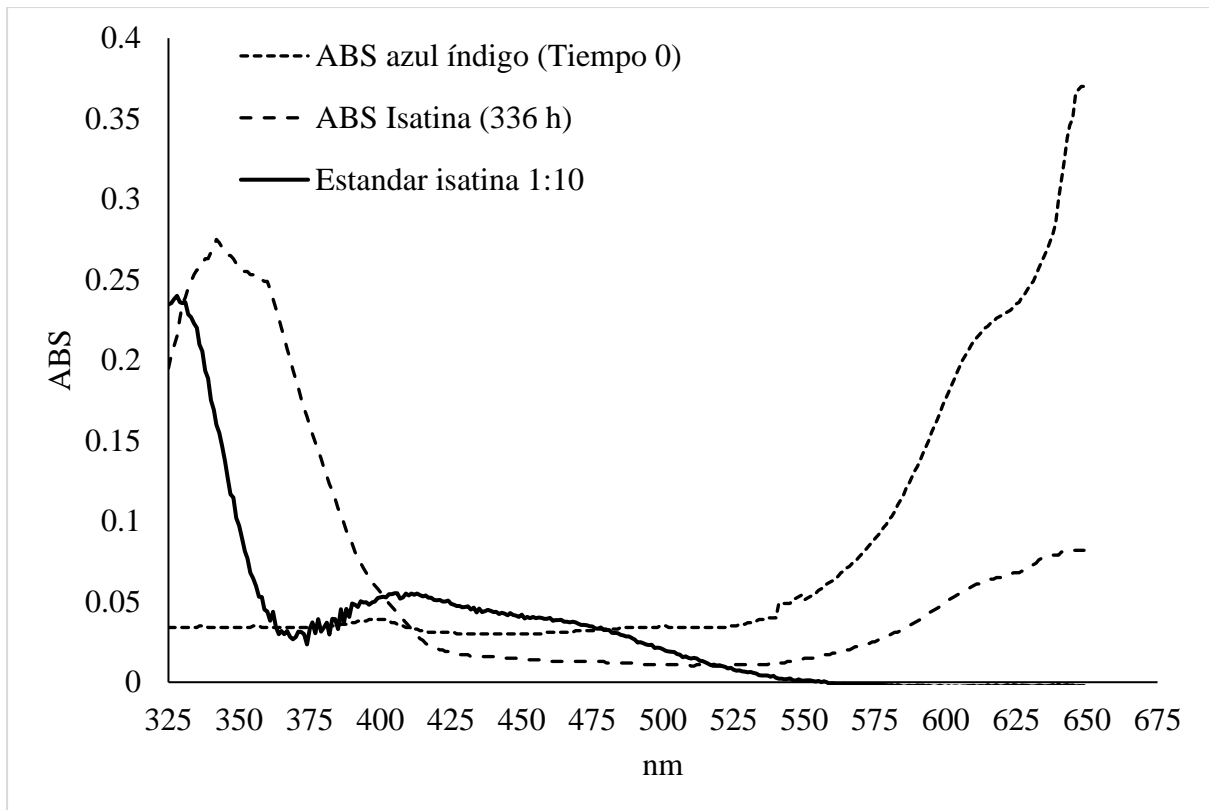


Figura 16. Producto de degradación del azul índigo de la cepa *Trichoderma harzianum* (TehAzo 1) a las 336 h.

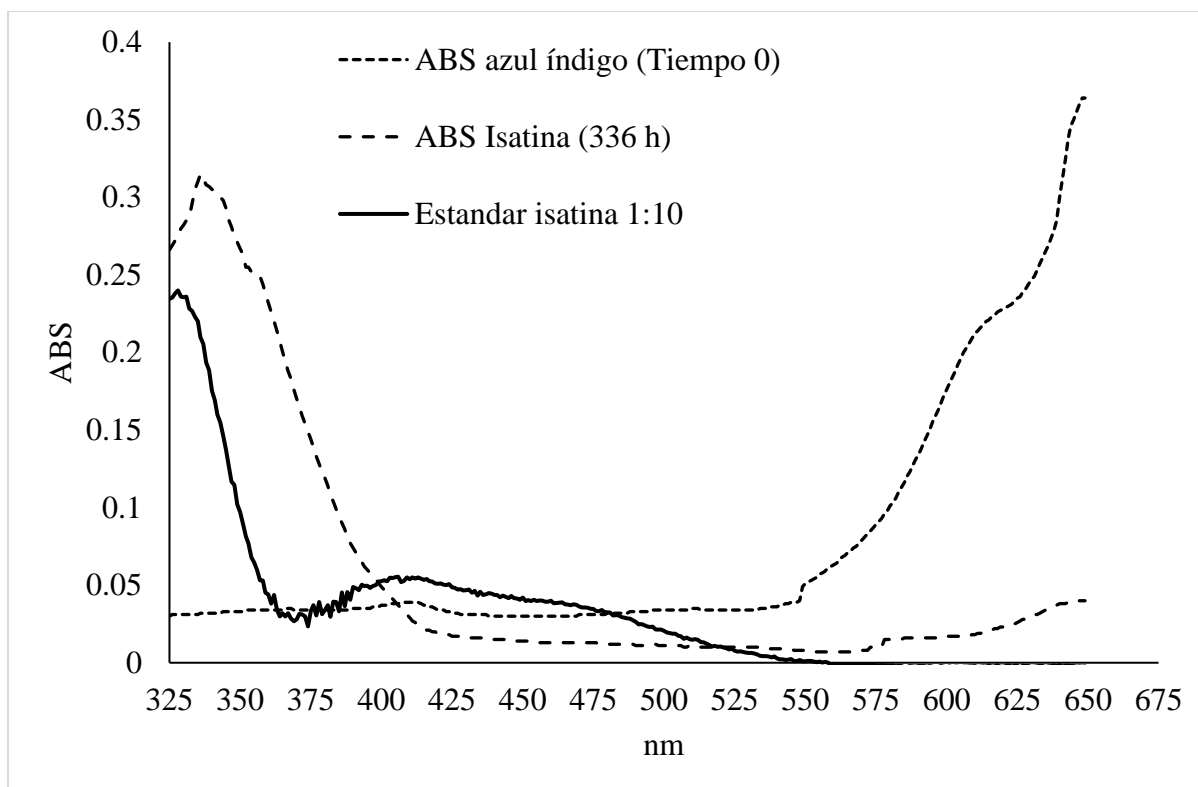


Figura 17. Producto de degradación del azul índigo de la cepa *Trichoderma harzianum* (TehAzo 2) a las 336 h.

Las cepas de *Trichoderma harzianum* TehAzo 1 y TehAzo 2 llevaron a cabo una decoloración efectiva del azul índigo, convirtiéndolo en isatina mediante un proceso de oxidación (Tello Burgos *et al.*, 2022). Las dos cepas llegaron al punto máximo a las 336 h; el producto de degradación, isatina, en TehAzo 1 (Figura 16) se detectó a una longitud de onda de 342 nm con una absorbancia de 0.324. Mientras que la cepa TehAzo 2 (Figura 17); el producto de degradación, isatina, se detectó a una longitud de onda de 336 nm con una absorbancia de 0.375. Aunque el azul índigo todavía estaba presente en el espectro de ambas cepas a una longitud de onda de 649 nm, su absorbancia era significativamente menor que la del control. Esto indica que gran parte del azul índigo fue transformado en isatina.

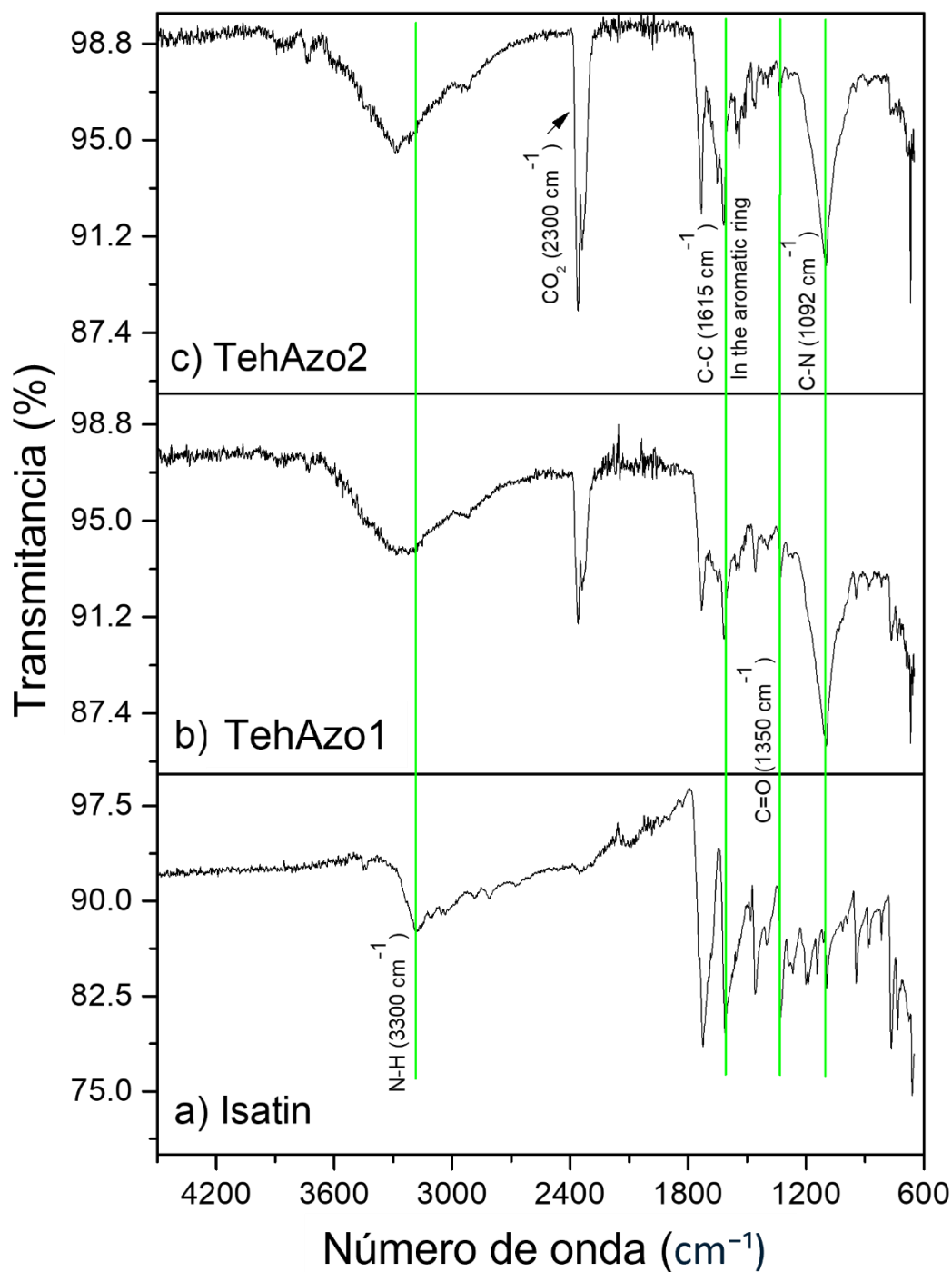


Figura 18. Espectros FT-IR de la biodecoloración de azul índigo por las cepas de *Trichoderma harzianum*. a) estándar de referencia de isatina; b) producto de biodecoloración por la cepa TehAzo1 y c) producto de biodecoloración por la cepa TehAzo2.

La Figura 18 presenta los espectros FT-IR correspondientes a la biodecoloración de azul índigo, se observa el estándar de isatina y los productos de biodecoloración por las cepas *Trichoderma harzianum* TehAzo1 y TehAzo2. En el espectro del estándar

de isatina (a) se observan bandas características e intensas a 3300 cm^{-1} (vibración de N–H), 1615 cm^{-1} (vibraciones C=C en anillos aromáticos), 1350 cm^{-1} (vibración de C=O de grupos cetona), así como señales adicionales en 1092 cm^{-1} (C–N) asociadas a deformaciones de enlaces. Los espectros correspondientes a las cepas TehAzo1 (b) y TehAzo2 (c) presentan bandas muy similares al patrón de isatina, destacando señales en 1626 cm^{-1} (vibraciones C=C en anillos aromáticos), $1356\text{--}1368\text{ cm}^{-1}$ (vibración de C=O de grupos cetona), $1087\text{--}1096\text{ cm}^{-1}$ (C–N) y $937\text{--}942\text{ cm}^{-1}$. Estas bandas sugiere la ruptura del doble enlace central (–CH=CH–) del azul índigo, lo que divide la molécula en dos unidades de anillo indólico. Cada unidad sufre oxidación para formar el grupo carbonilo (C=O) característico de la isatina. Este proceso conserva la mayor parte de los grupos funcionales del índigo, en especial el sistema aromático.

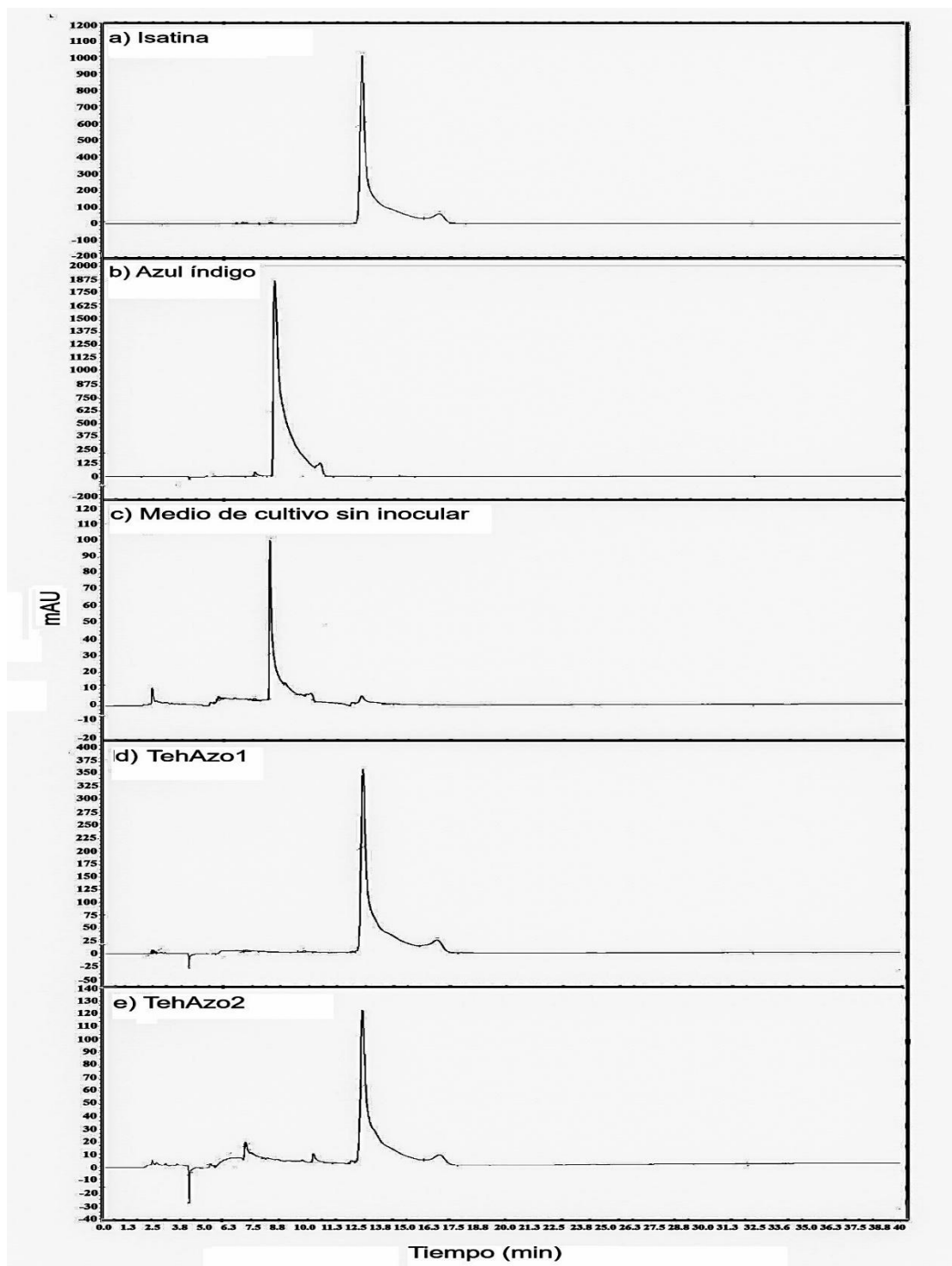


Figura 19. Cromatogramas por HPLC de los productos de biodecoloración de azul índigo por *Trichoderma harzianum*. a) estándar de referencia de isatina; b) estándar de referencia de azul índigo; c) medio de cultivo sin inocular; d) producto de biodecoloración por la cepa TehAzo1 y e) producto de biodecoloración por la cepa TehAzo2.

La Figura 19 presenta los cromatogramas obtenidos mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) para los productos resultantes del proceso de biodecoloración del azul índigo llevado a cabo por las cepas *Trichoderma harzianum* TehAzo1 y TehAzo2. El cromatograma del estándar de isatina (a) mostró un pico característico a un tiempo de retención de 12.5 min, mientras que el estándar de azul índigo (b) presentó un pico de retención a 8.8 min. En el control (c), correspondiente al medio inicial sin inocular, se detectó un pico en 8.4 min, confirmando la presencia del azul índigo en el medio inicial. En contraste, los cromatogramas obtenidos para las cepas TehAzo1 (d) y TehAzo2 (e) no mostraron el pico correspondiente al azul índigo, pero sí presentaron tiempos de retención a 13.1 min (TehAzo1) y 12.8 min (TehAzo2), tiempos muy similares al estándar de isatina. La ausencia del pico del azul índigo en los tratamientos con TehAzo1 y TehAzo2, junto con la aparición de picos de tiempo de retención similares al estándar de isatina, confirma la biotransformación del colorante hacia su principal producto de degradación la isatina.

9.6 Actividad enzimática de las cepas

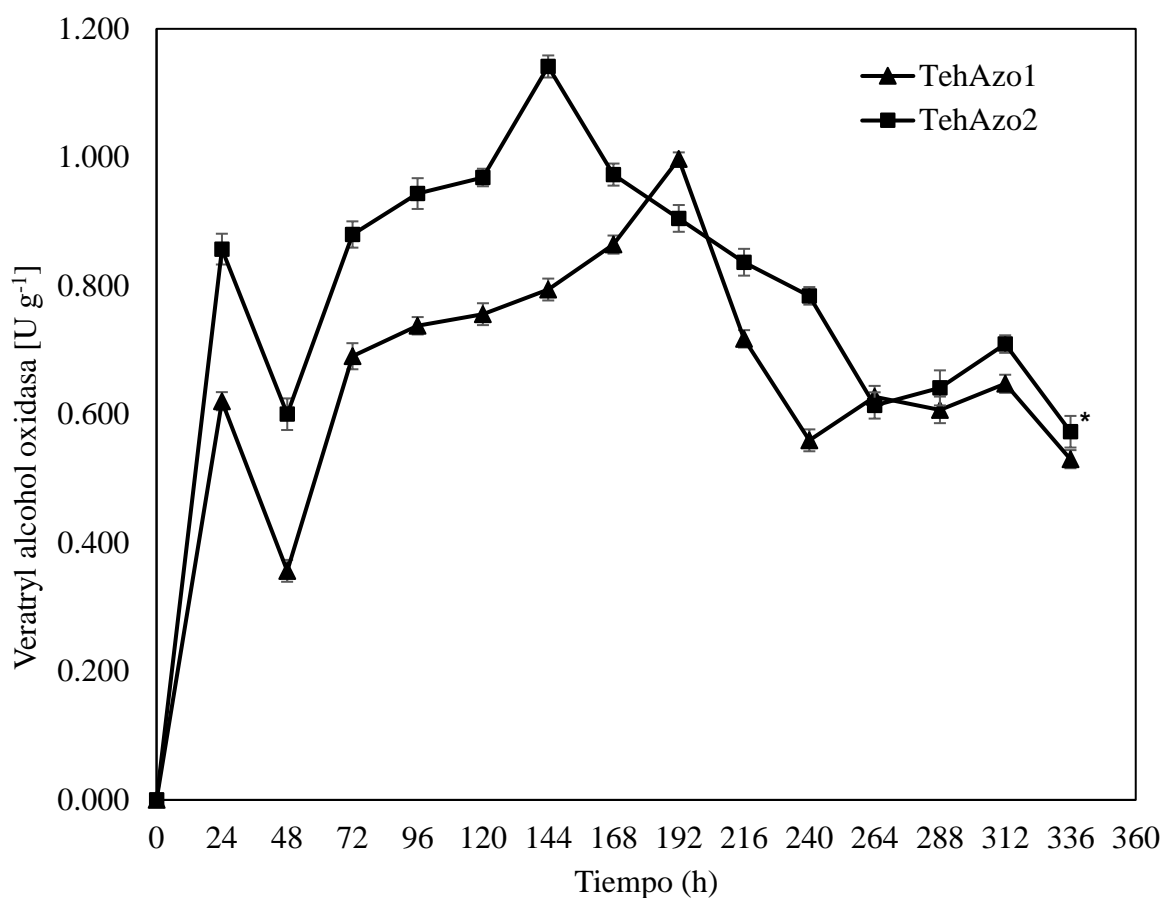


Figura 20. Actividad enzimática de Veratryl alcohol oxidasa por las cepas TehAzo1 y TehAzo2. (*): diferencia significativa con la prueba de Tukey ($p = 0.05$) a 336 h.

Las cepas TehAzo1 y TehAzo2 mostraron una actividad enzimática específica constante de la VAO durante las 336 h (Figura 20). El pico máximo de la cepa TehAzo1 se alcanzó a las 192 h presentando una actividad enzimática específica de $0.997 \text{ U g}^{-1} \pm 0.010$. Mientras, para la cepa TehAzo2 alcanzó una actividad enzimática específica de $1.141 \text{ U g}^{-1} \pm 0.017$ a las 144 h. La cepa TehAzo2 presentó una mayor actividad enzimática específica en menor tiempo.

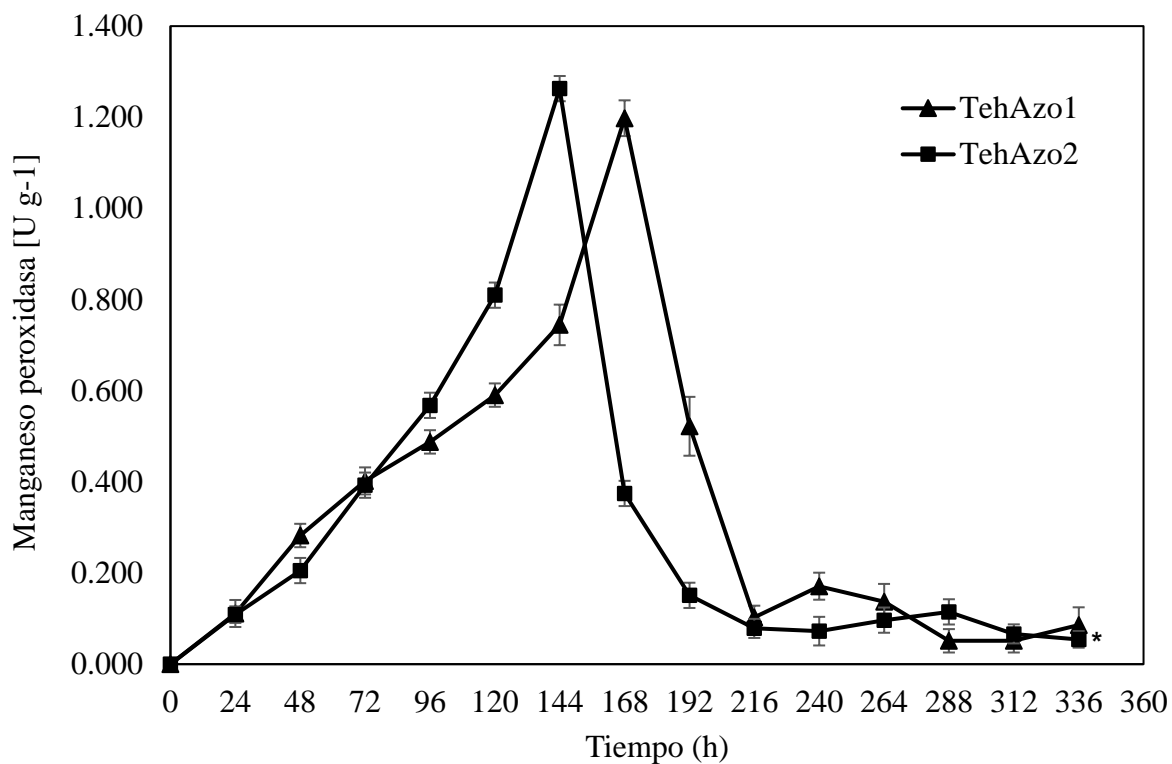


Figura 21. Actividad enzimática de manganeso peroxidasa por las cepas TehAzo1 y TehAzo2. (*): diferencia significativa con la prueba de Tukey ($p = 0.05$) a 336 h.

La actividad enzimática de MnP (Figura 21) no fue constante durante 336 h. Ambas cepas iniciaron su actividad enzimática a las 48 h y decayeron a las 216 h. La actividad enzimática mayor $1.198 \text{ U g}^{-1} \pm 0.039$ de la cepa TehAzo1 se alcanzó a las 192 h. Mientras que para la cepa TehAzo 2 la actividad enzimática mayor $1.263 \text{ U g}^{-1} \pm 0.028$ se alcanzó a las 144 h. La enzima MnP de la cepa TehAzo2 fue la más alta de las tres enzimas cuantificadas.

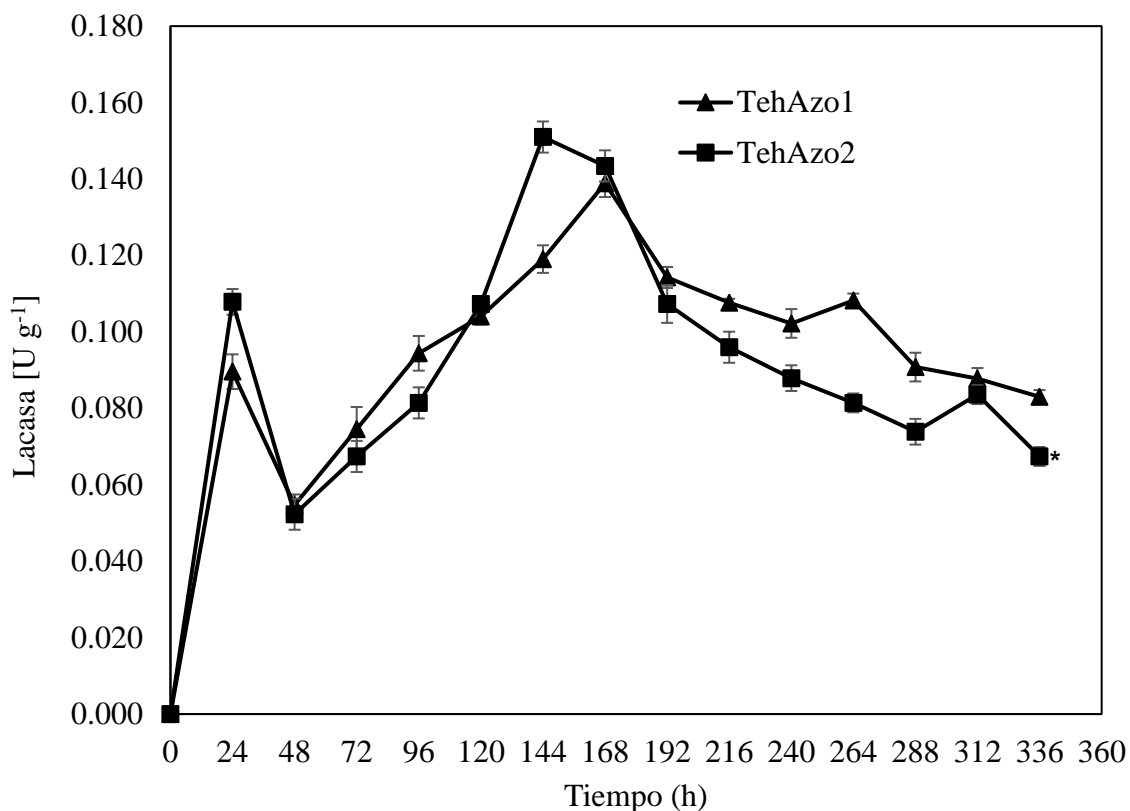


Figura 22. Actividad enzimática de Lacasas por las cepas TehAzo1 y TehAzo2. (*): diferencia significativa con la prueba de Tukey ($p = 0.05$) a 336 h.

Las cepas TehAzo1 y TehAzo2 mostraron actividad constante de la enzima Lac (Figura 22) durante los 336 h. La actividad enzimática máxima $0.139 \text{ U g}^{-1} \pm 0.003$ por la cepa TehAzo 1 fue a las 168 h. Mientras la cepa TehAzo 2 presento una actividad máxima de $0.151 \text{ U g}^{-1} \pm 0.004$ a las 144 h. La enzima Lac fue la más baja cuantificada para las dos cepas.

Se observaron diferencias estadísticamente significativas en las tres enzimas analizadas entre las cepas TehAzo1 y TehAzo2. En todos los casos, TehAzo2 mostró una mayor actividad enzimática en menor tiempo, destacándose como la cepa con mejor desempeño. La prueba de comparaciones múltiples de Tukey confirmó que TehAzo2 supera significativamente a TehAzo1 en la actividad enzimática de cada enzima evaluada ($p \leq 0.05$).

9.7 Biodecoloración *ex situ* de agua residual textil contaminada con azul índigo por las cepas de *Trichoderma harzianum*

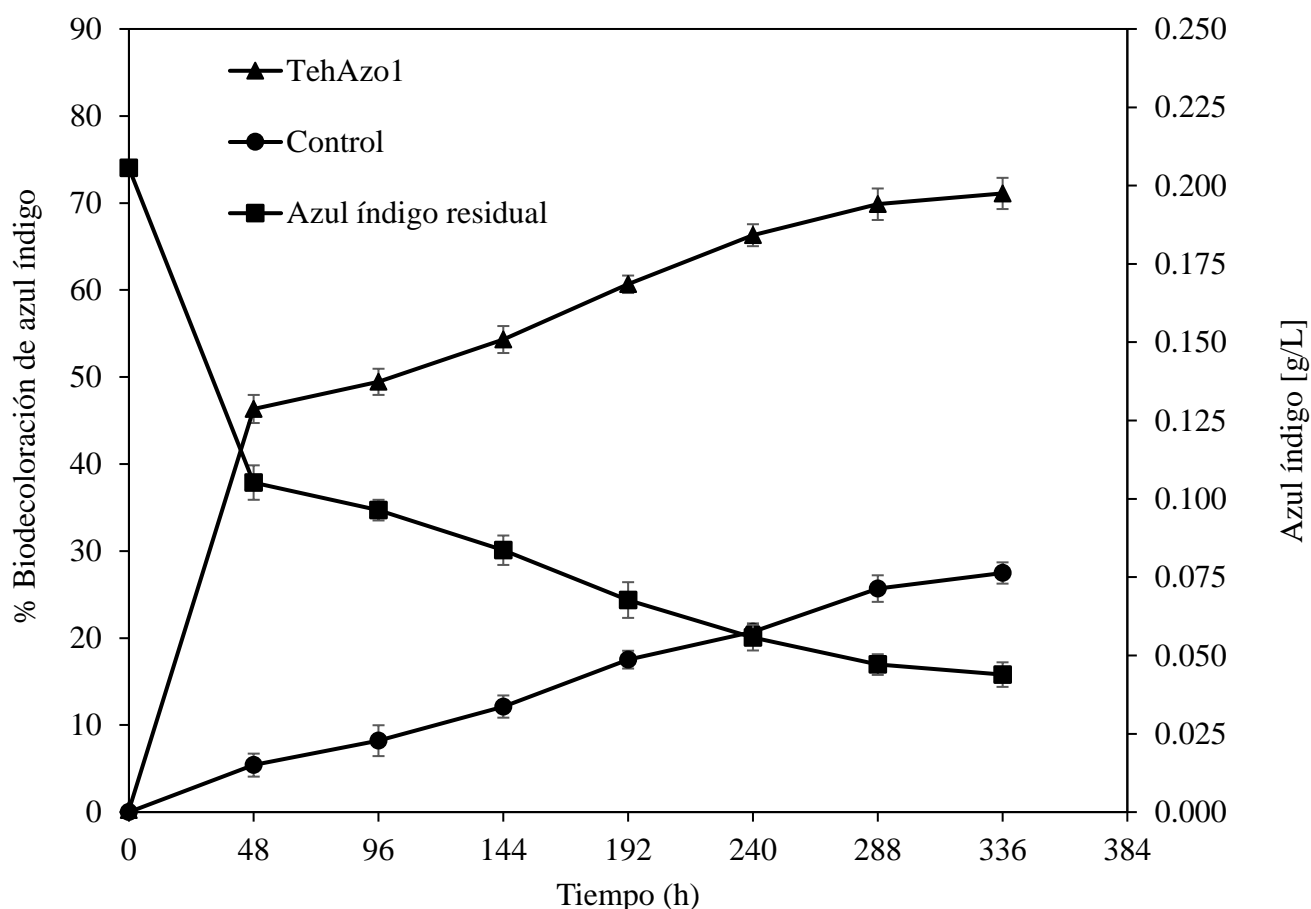


Figura 23. Biodecoloración *ex situ* de agua residual textil contaminada con azul índigo con la cepa *T. harzianum* TehAzo1

La curva correspondiente a la cepa *T. harzianum* TehAzo1 (Figura 23) mostró una biodecoloración de azul índigo en agua residual a lo largo del tiempo. Inicialmente, a las 48 h se observó una biodecoloración del 46.33% ± 1.614. El punto máximo se alcanzó a las 336 h, con una capacidad de biodecoloración del 71.10% ± 1.792; y una disminución de la concentración inicial de azul índigo de 0.20 g/L a 0.0439 g/L ± 0.003. El control también mostró una degradación química-biológica 27.48% ± 1.223 por la presencia de microorganismos en el agua residual, esta no fue significativa en comparación con la biodecoloración observada con la cepa TehAzo1.

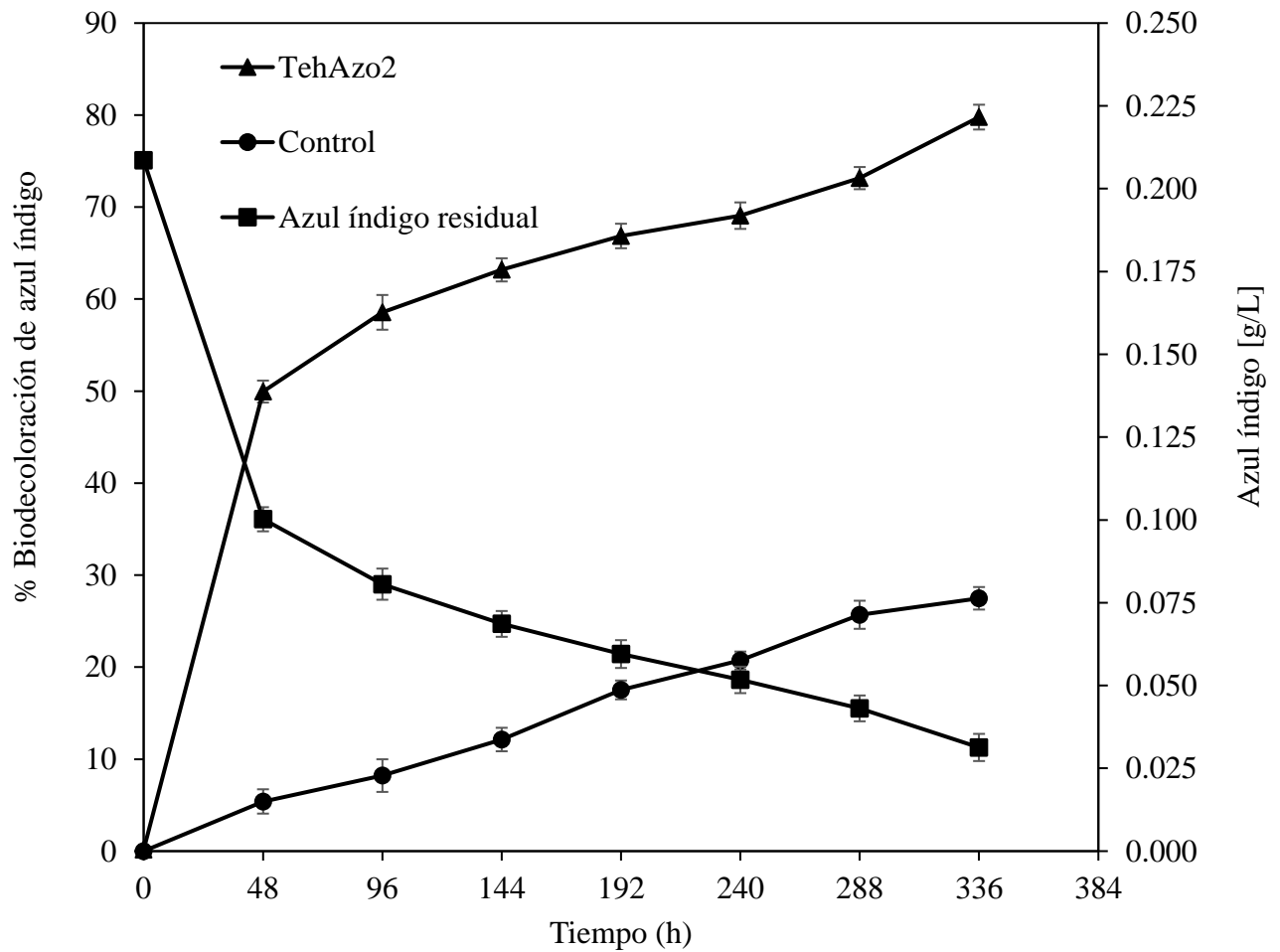


Figura 24. Biodecoloración *ex situ* de agua residual textil contaminada con azul índigo con la cepa *T. harzianum* TehAzo2

La cepa *T. harzianum* TehAzo2 (Figura 24) mostró una biodecoloración constante del azul índigo en agua residual a lo largo del tiempo. Inicialmente, a las 48 h, se observó una biodecoloración del $49.95\% \pm 1.195$. El punto máximo de biodecoloración se alcanzó a las 336 h, con un $79.78\% \pm 1.347$ y una concentración residual $0.0313 \text{ g/L} \pm 0.004$ de azul índigo.

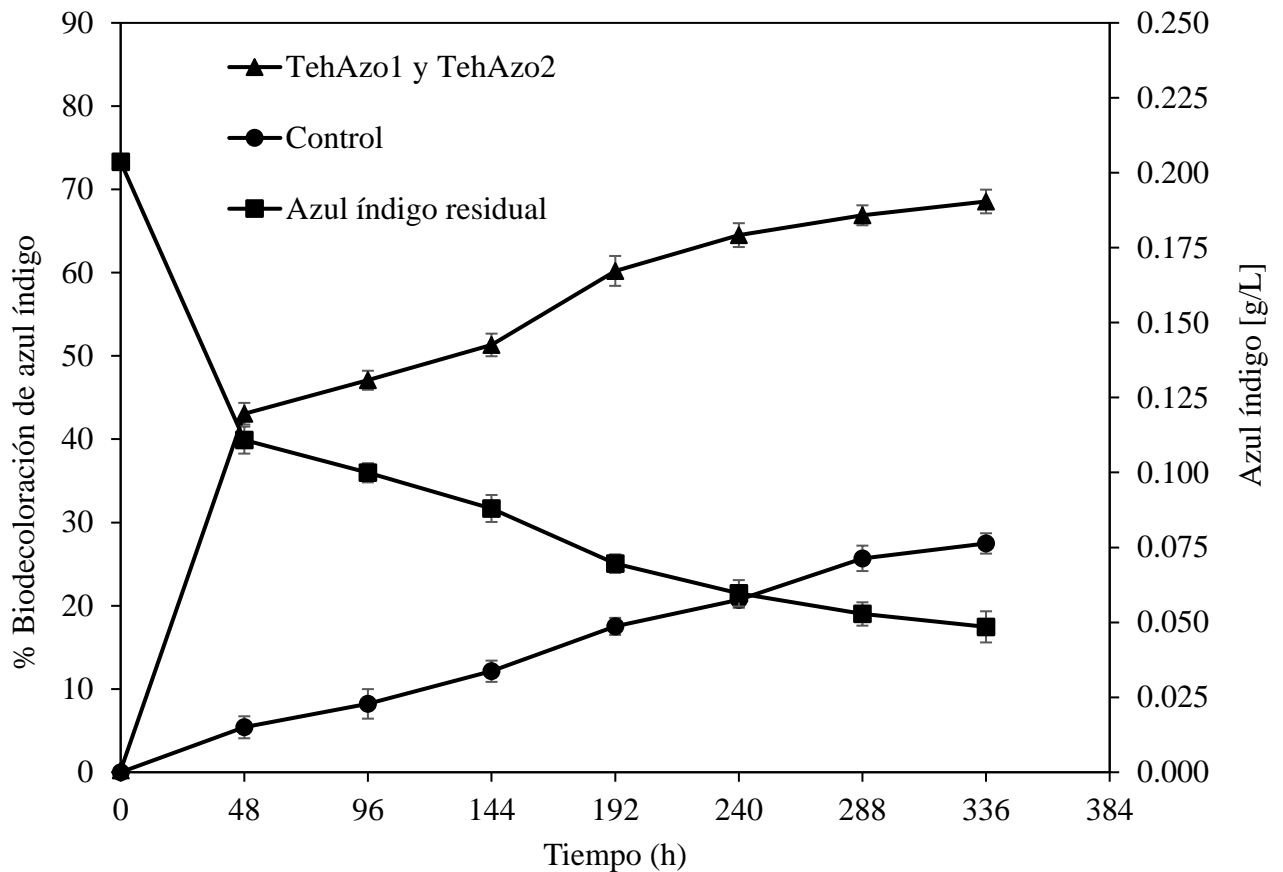


Figura 25. Biodecoloración *ex situ* de agua residual textil contaminada con azul índigo con cocultivo de las cepas de *Trichoderma harzianum* TehAzo1 y TehAzo2

El cocultivo de *T. harzianum* con las cepas TehAzo1 y TehAzo2 (Figura 25) mostró una biodecoloración constante del azul índigo en agua residual. Inicialmente, a las 48 h se observó una biodecoloración del 43.06% \pm 1.302. El punto máximo de biodecoloración se alcanzó a las 336 h, con un 68.55% \pm 1.421 de biodecoloración del colorante y una concentración residual de 0.0485 g/L \pm 0.005 de azul índigo. El cocultivo mostró ser 14.08% menos eficiente que la cepa TehAzo2 y 3.59% menos eficiente que la cepa TehAzo1.

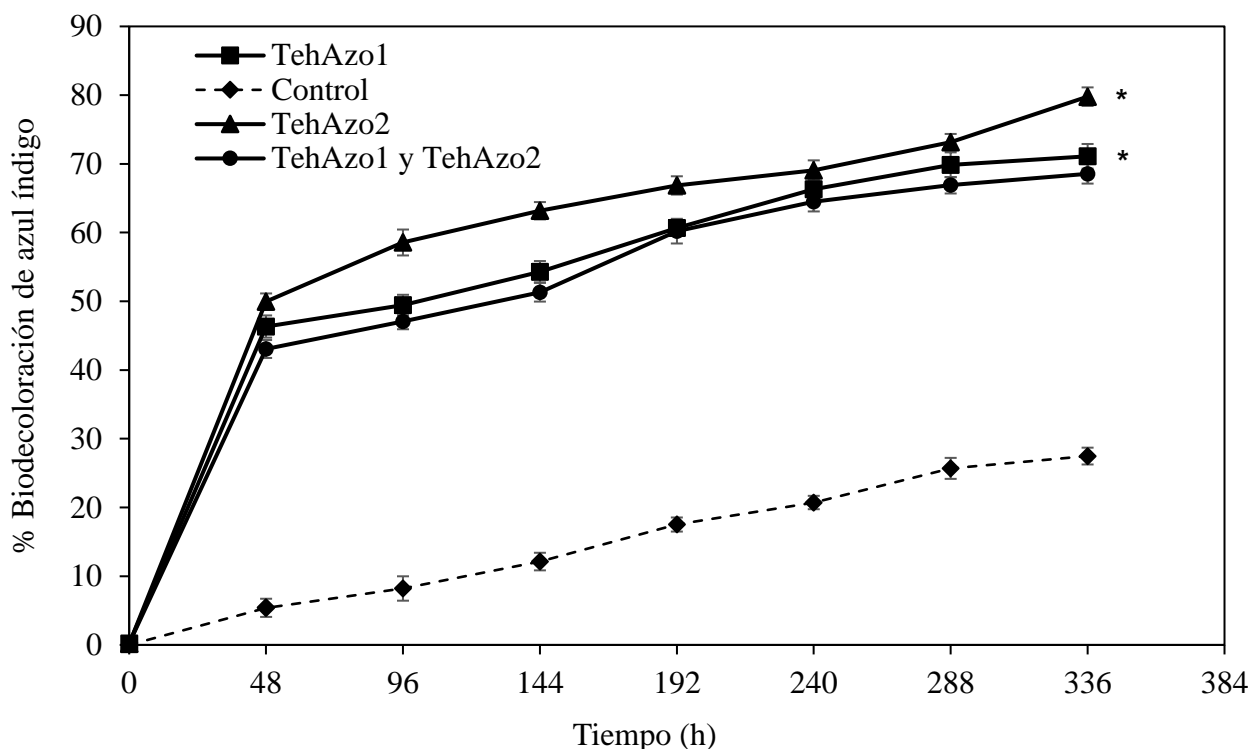


Figura 26. Comparación de las tres cepas de *Trichoderma harzianum* en la biodecoloración *ex situ* de agua residual textil contaminada con azul índigo. (*): diferencia significativa con la prueba de Tukey ($p = 0.05$) a 336 h.

Los tres tratamientos de las cepas de *Trichoderma harzianum* en la biodecoloración de azul índigo en agua residual (Figura 26), tuvieron un comportamiento constante en la biodecoloración del azul índigo. La cepa TehAzo2 mostró una eficiencia de biodecoloración, alcanzando una degradación del $79.78\% \pm 1.347$ a las 336 h y una reducción de la concentración del azul índigo de 0.20 g/L a $0.0313 \text{ g/L} \pm 0.004$. Seguido, de la cepa TehAzo1, la cual alcanzó su máximo de biodecoloración del $71.10\% \pm 1.792$ a las 336 h, reduciendo la concentración a $0.0439 \text{ g/L} \pm 0.003$. Por, último, el cocultivo de las dos cepas alcanzó su máximo de biodecoloración del $68.55\% \pm 1.421$ a las 336 h, reduciendo la concentración a $0.0485 \text{ g/L} \pm 0.005$. Demostrando que el último tratamiento fue el menos efectivo que las cepas individuales en la biodecoloración del azul índigo.

De acuerdo al análisis estadístico, se observó una diferencia significativa entre los tratamientos, siendo el cocultivo el más bajo. Los tratamientos de TehAzo1 y TehAzo2

no mostraron diferencias significativas en la capacidad de biodecoloración de acuerdo a un análisis de comparación de medias (prueba de Tukey $p \leq 0.05$). El control mostró una mínima degradación química-biológica del $27.48\% \pm 1.223$.

La Tabla 15 muestra los parámetros cinéticos y el porcentaje de biodecoloración del azul índigo alcanzados por los tratamientos de *T. harzianum* TehAzo1, TehAzo2 y el cocultivo de las dos cepas comparados con un control sin inoculación. El control presentó una tasa constante de biodecoloración (k) de 0.085 por día y un tiempo de vida media ($t_{1/2}$) de 8.13 días, y un $27.48\% \pm 1.223$ de biodecoloración. Lo que indica una degradación química-biológica baja con respecto a los tratamientos inoculados. Por otro lado, la cepa TehAzo1 alcanzó una k de 0.141 por día, lo que acortó el $t_{1/2}$ a 4.90 días, logrando un $71.10\% \pm 1.793$ de biodecoloración. Este aumento es significativamente mayor respecto al control. La cepa TehAzo2 mostró mejor desempeño, con una k de 0.157 por día y un $t_{1/2}$ de solo 4.38 días, alcanzando $79.78\% \pm 1.348$ de biodecoloración. Por último, el cocultivo presentó menor capacidad de biodecoloración ($68.55\% \pm 1.421$) en comparación con los monocultivos, con un valor de k de 0.135 por día y un $t_{1/2}$ de 5.10. Se observaron diferencias significativas en la tasa constante de biodecoloración (k) y tiempo de vida media entre los tratamientos según un análisis de comparación de medias (prueba de Tukey, $p \leq 0.05$). Siendo la cepa TehAzo2 con una mejor constante de biodecoloración reduciendo la vida media del contaminante en aguas residuales de origen textil.

Tabla 15. Tasa constante de biodecoloración (k) y tiempo de vida media ($t_{1/2}$) del azul índigo *ex situ* en agua residual por las cepas de *Trichoderma harzianum*.

Tratamientos	k (día ⁻¹)	$t_{1/2}$ (días)	Biodecoloración (%)	Valor R ²	Ecuación de regresión lineal
Control	0.085 ± 0.062^a	8.13 ± 0.108^a	$27.48\% \pm 1.223^a$	0.993	$y = -0.0005x + 0.9974$
TehAzo 1	0.141 ± 0.059^b	4.90 ± 0.629^b	$71.10\% \pm 1.793^b$	0.773	$y = -0.0012x + 0.8476$
TehAzo 2	0.157 ± 0.069^c	4.38 ± 0.220^c	$79.78\% \pm 1.348^b$	0.744	$y = -0.0013x + 0.8262$
Cocultivo	0.135 ± 0.075^d	5.10 ± 0.239^d	$68.55\% \pm 1.421^c$	0.782	$y = -0.0012x + 0.8567$

Los valores representan la media \pm desviación estándar; control: agua residual sin inocular; k : constante de biodecoloración; $t_{1/2}$: tiempo de vida media de la biodecoloración del azul índigo; R²: coeficiente de la regresión lineal. Medias con letras diferentes en la columna, indican diferencias significativas con la prueba de Tukey ($p = 0.05$).

9.8 Ensayo de biodecoloración en suelo modelo contaminado con azul índigo a nivel microcosmos

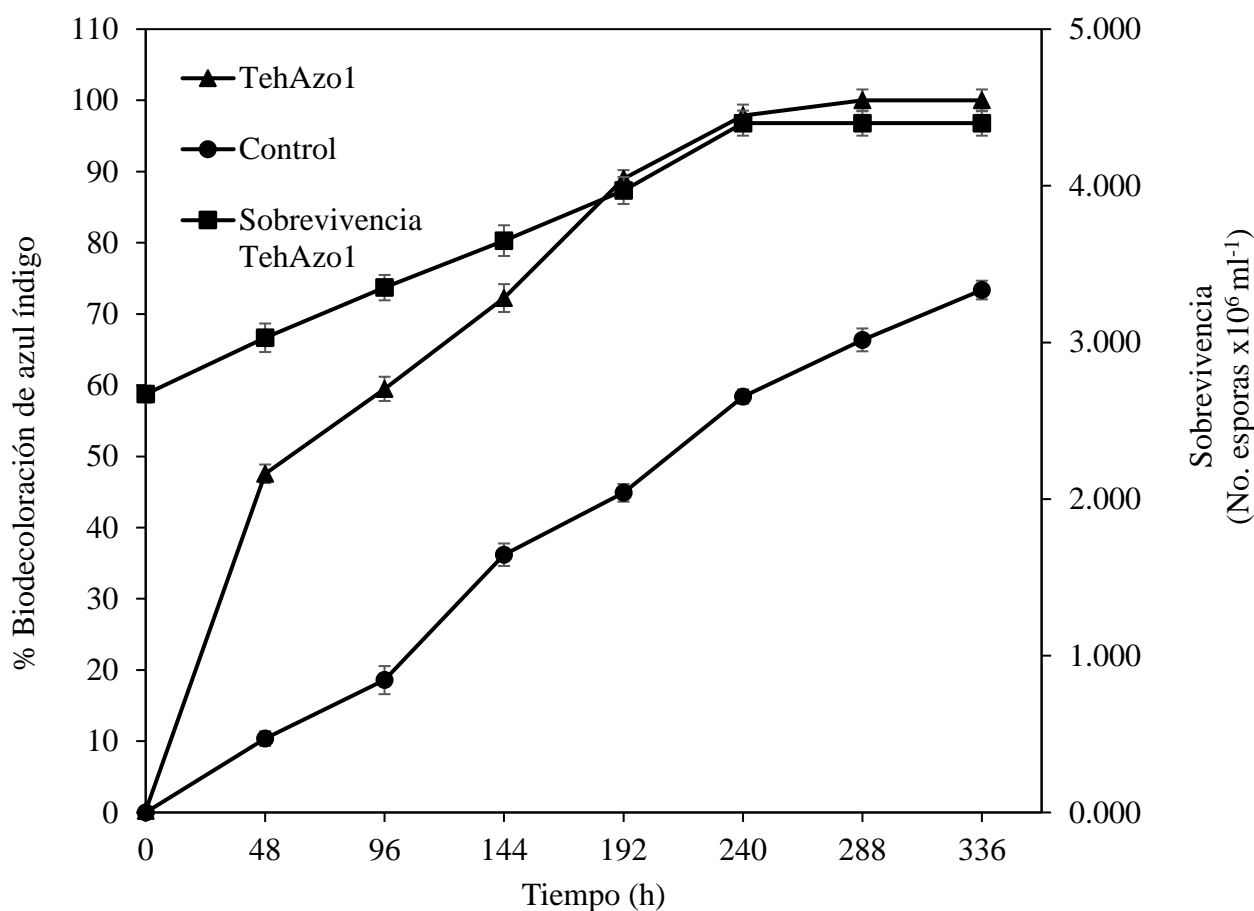


Figura 27. Biodecoloración de azul índigo en suelo modelo contaminado a nivel microcosmos por *T. harzianum* TehAzo1.

El ensayo de biodecoloración en suelo modelo tinalizado contaminado con azul índigo por la cepa *T. harzianum* TehAzo1 (Figura 27), mostró una biodecoloración a través del tiempo. A las 48 h se observó una biodecoloración del 47.56% ± 1.304. El punto máximo se alcanzó a las 336 h con una biodecolorización del 100% ± 0.001 que corresponde a 0.20 g/L de azul índigo. El control también experimentó una degradación del 73.36% ± 1.313 al término del ensayo, esta biodecoloración se atribuye a la flora nativa del suelo que resistió las condiciones de temperatura durante la tinalización del suelo. La sobrevivencia de la cepa TehAzo1 aumentó a través del tiempo, con una producción final de 4.40 x10⁶ ml⁻¹ esporas viables al término del experimento por lo que el colorante no afectó la tasa de esporulación.

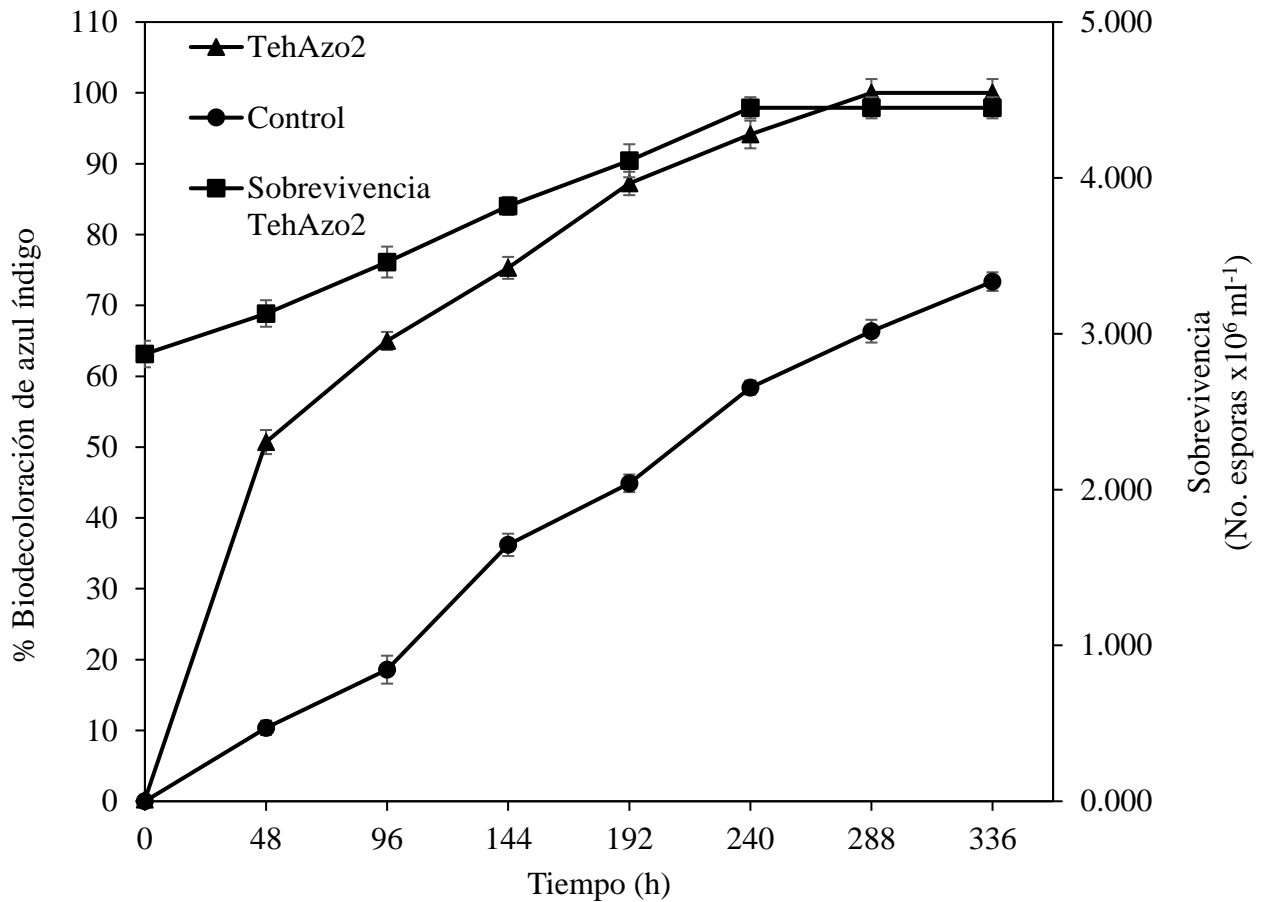


Figura 28. Biodecoloración de azul índigo en suelo modelo contaminado a nivel microcosmos por *T. harzianum* TehAzo2.

La cepa *T. harzianum* TehAzo2 (Figura 28) también mostró una biodecoloración de azul índigo a través del tiempo. A las 48 h presentó una biodecoloración del 50.71% \pm 1.701. El punto máximo se alcanzó a las 336 h, con una biodecoloración del 100% \pm 0.001. La sobrevivencia de la cepa fue progresiva, con una producción final de esporas viables de 4.45×10^6 ml⁻¹.

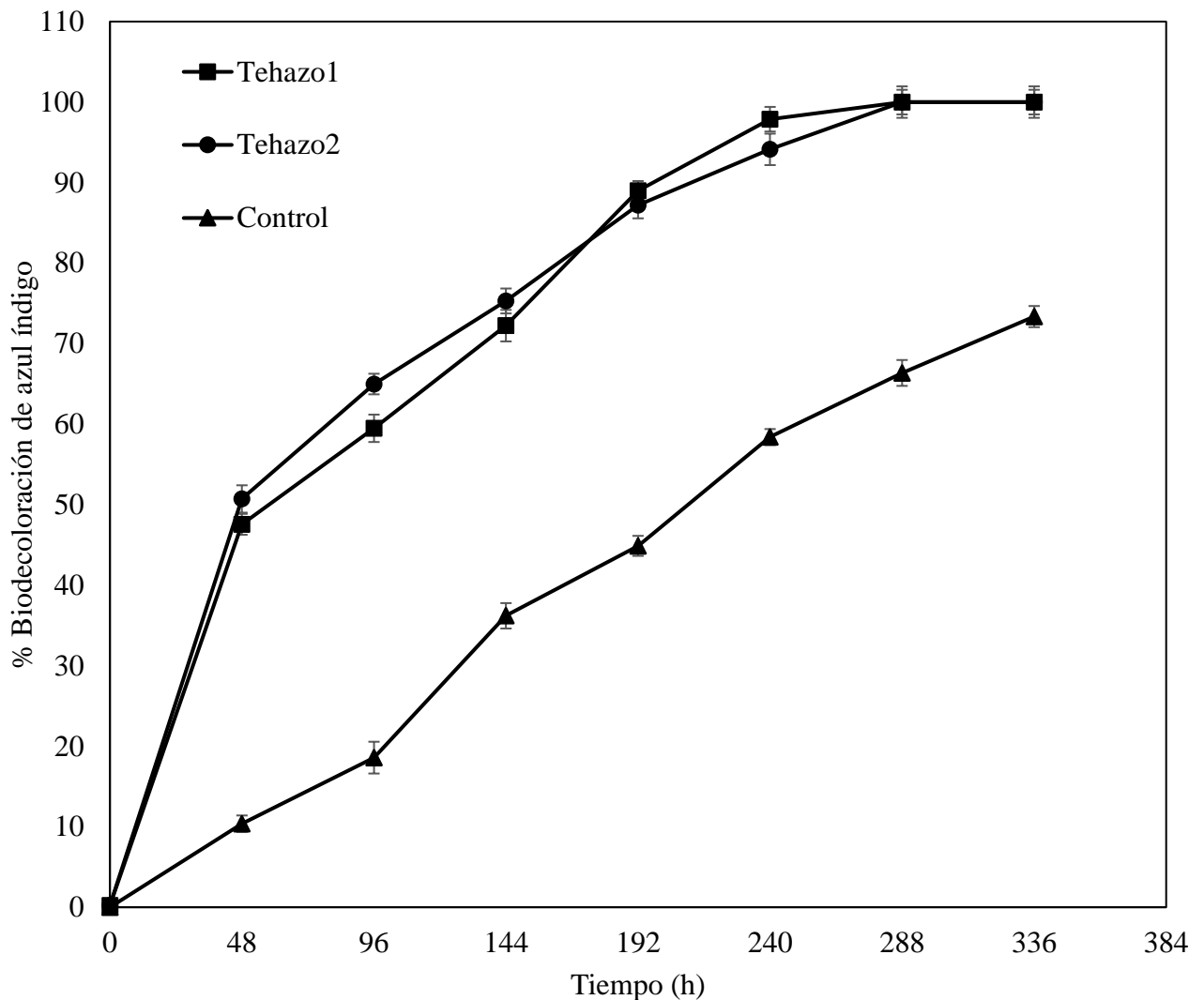


Figura 29. Comparación de las dos cepas de *Trichoderma harzianum* en la biodecoloración en suelo modelo contaminado con azul índigo a nivel microcosmos.

Las dos cepas de *T. harzianum* TehAzo1 y TehAzo2 presentaron un comportamiento constante en la biodecoloración de azul índigo en suelo a nivel microcosmos (Figura 29). Con una eficiencia de biodecoloración del 100% \pm 0.001 a las 336 h. De acuerdo al análisis estadístico, no se observaron diferencias significativas en la capacidad de biodecoloración por las dos cepas de acuerdo a un análisis de comparación de medias (prueba de Tukey, $p \leq 0.05$).

La Tabla 16 muestra los parámetros cinéticos de la biodecoloración de azul índigo en suelo modelo por las cepas de *T. harzianum* TehAzo1 y TehAzo2. El tratamiento de suelo contaminado con azul índigo sin inoculación presentó una tasa constante de biodecoloración (k) de 0.129 por día y un tiempo de vida media ($t_{1/2}$) de 5.33 días, con

una biodecoloración final del $73.36\% \pm 1.313$. Por otro lado, la cepa TehAzo1 alcanzó una k de 0.404 por día, lo que disminuyó el $t_{1/2}$ a 1.71 días, logrando un $100\% \pm 0.001$ de biodecoloración y una tasa de esporulación (μ) de 0.426 esporas viables h^{-1} . Este aumento en los parámetros de biodecoloración fue significativamente mayor con respecto al tratamiento sin inocular. La cepa TehAzo2 mostró una k de 0.406 por día y un $t_{1/2}$ de solo 1.70 días, alcanzando un $100\% \pm 0.001$ de biodecoloración; la tasa de esporulación (μ) fue de 0.426 esporas viables h^{-1} . Los parámetros de k y $t_{1/2}$ no presentaron diferencias significativas con respecto a la cepa TehAzo1, así como la tasa de esporulación (μ). Además, la tasa de esporulación de TehAzo1 y TehAzo2 en suelo contaminado presentó una disminución significativa con respecto al suelo no contaminado, que no repercutió en la biodecoloración del azul índigo. Los valores de la tasa de esporulación (μ) en el suelo no contaminado para la cepa TehAzo1 fue de 0.456 esporas viables h^{-1} y para la cepa TehAzo2 fue de 0.463 esporas viables h^{-1} .

Tabla 16. Tasa constante de biodecoloración (k), tiempo de vida media ($t_{1/2}$) y tasa de esporulación (μ) de la biodecoloración en suelo modelo contaminado por azul índigo a nivel microcosmo por los diferentes tratamientos de las cepas de *Trichoderma harzianum*.

Tratamientos	K (día ⁻¹)	$t_{1/2}$ (días)	Biodecoloración (%)	Valor R^2	Ecuación regresión lineal	μ (esporas h^{-1})
Suelo contaminado:						
Sin inocular	0.129 ± 0.521^a	5.33 ± 0.235^a	73.36 ± 1.313^a	0.991	$y = -0.0003x + 0.997$	NA
TehAzo1	0.404 ± 0.902^b	1.71 ± 0.279^b	$100\% \pm 0.001^b$	0.764	$y = -0.0009x + 0.835$	0.426 ± 0.825^b
TehAzo2	0.406 ± 0.826^b	1.70 ± 0.390^b	$100\% \pm 0.001^b$	0.805	$y = -0.0011x + 0.828$	0.426 ± 0.789^b
Suelo no contaminado:						
TehAzo1	NA	NA	NA	NA	NA	0.456 ± 0.811^a
TehAzo2	NA	NA	NA	NA	NA	0.463 ± 0.653^a

Los valores representan la media \pm desviación estándar. k : constante de biodecoloración; $t_{1/2}$: tiempo de vida media de la biodecoloración del azul índigo; μ : tasa de esporulación; R^2 : coeficiente de la regresión lineal; NA: No aplica. Medias con letras diferentes en la columna, indican diferencias significativas con la prueba de Tukey ($p = 0.05$).

10. Discusión

En la localidad de San Diego Chalma, Tehuacán, Puebla, México, el uso de aguas residuales textiles como fuente de riego ha comenzado a alterar significativamente las condiciones fisicoquímicas del suelo. El suelo de esta región presenta una textura franco arenosa, buena retención de nutrientes y niveles adecuados de materia orgánica y micronutrientes; existe una deficiencia de nitrógeno total (N_t) de acuerdo a lo establecido por la NOM-021-RECNAT-2000-AS-12 (Ding *et al.*, 2021). La concentración de metales pesados como Pb, Cd, Cr y Ni fue baja respecto a los límites establecidos por la normativa mexicana (DOF, 2002). Se observó un aumento en el pH del suelo (de 7.93 a 8.18), así como el incremento del 12.5% en la conductividad eléctrica (CE) y 40% de la capacidad de intercambio catiónico (CIC). Estos indicadores reflejan un desequilibrio químico asociado al uso de efluentes textiles, también se confirmó la presencia de azul índigo en una concentración de 0.083 g/L. Este hallazgo es consistente con estudios recientes que demuestran que los colorantes, al ser vertidos en cuerpos receptores tienden a acumularse en la matriz edáfica, bioacumularse en organismos y alterar la salud de los ecosistemas (Gallego-Ramírez *et al.*, 2022; Singh *et al.*, 2021). El azul índigo ($C_{16}H_{10}O_2N_2$), colorante ampliamente utilizado en la industria textil, presenta una estructura aromática altamente estable, compuesta por dos anillos indólicos unidos por un doble enlace central ($-CH=CH-$). Esta configuración le confiere una alta resistencia química, lo que lo convierte en un contaminante persistente en medios naturales (Figueroa, 2022; Witkoś *et al.*, 2015). Además de su baja solubilidad, este colorante puede inducir efectos tóxicos en los organismos acuáticos y terrestres, comprometiendo la seguridad alimentaria y la salud del ecosistema agrícola.

Las aguas residuales de origen textil utilizadas para riego agrícola también mostraron altas concentraciones de azul índigo (0.364 g/L), este valor excede 59 veces la dosis letal reportada por Gallo *et al.*, 2016. Aunado a los niveles altos de sulfuros cuantificados, probablemente derivados de jabones sulfurosos utilizados en la etapa de teñido de la mezclilla (Verma *et al.*, 2021), por lo que se demuestra un deterioro progresivo de la calidad del agua en esta zona. El aumento de parámetros como la DBO, DQO, SST y CE refleja un ecosistema afectado por la descarga directa de efluentes textiles, sin tratamiento previo.

En el presente estudio, se aislaron cinco cepas autóctonas de suelos contaminados por efluentes textiles: TehAzo1, TehAzo2 y TehAzo5 identificados como *Trichoderma harzianum*; TehAzo3 pertenece al género *Aspergillus* y TehAzo4 al género *Fusarium*. Su identificación se realizó mediante caracterización morfológica y microscópica, así como secuenciación de la región ITS, con un 100% de identidad filogenética (Tabla 11). Estos géneros han sido previamente reportados como organismos con capacidad de tolerar y degradar compuestos aromáticos complejos, gracias a su sistema enzimático extracelular no específico (Daou *et al.*, 2021; Kulkarni *et al.*, 2024; Peng *et al.*, 2024).

Las cepas TehAzo1 y TehAzo2 mostraron tolerancia a concentraciones de azul índigo de hasta 0.2 g/L, manteniendo un crecimiento micelial activo en concentraciones inferiores (0.05–0.10 g/L). La cepa TehAzo2 presentó una mayor resistencia, posiblemente debido a una mayor plasticidad metabólica y en la expresión de enzimas oxidativas (Mendarte Alquisira *et al.*, 2024). Niveles elevados pueden resultar tóxicos para los microorganismos, inhibiendo su crecimiento o su capacidad de producción enzimática por lo que se observó una reducción en el crecimiento micelial a partir de los 0.15 g/L de azul índigo. Esto puede deberse al efecto tóxico acumulativo de los colorantes, que altera la integridad de la membrana celular e interfiere con procesos respiratorios y rutas metabólicas centrales (Yang, 2016; Ge *et al.*, 2024). Estos resultados fueron similares con lo reportado por Kalia *et al.* (2023), quienes observaron que cepas del género *Trichoderma* mostraron una tolerancia al colorante Reactive Black 5, con una capacidad de biodecoloración mayor al 90%.

Los hongos pueden eliminar colorantes mediante tres vías principales: biosorción, bioacumulación y biodecoloración (Yang *et al.*, 2016; Deng *et al.*, 2024). La biosorción involucra la adhesión pasiva de moléculas de tinte a los grupos funcionales presentes en la pared celular fúngica, tales como amino, carboxilo o fosfato (Nabeela *et al.*, 2023). Por otro lado, la bioacumulación implica la internalización del contaminante a través de procesos activos, dependientes del metabolismo celular. Finalmente, la biodecoloración proceso que se estudió observado en este trabajo, se basa en la acción de enzimas no específicas capaces de romper enlaces carbono-carbono y carbono-heteroátomo en la estructura de los colorantes, especialmente aquellos con anillos aromáticos condensados.

En las pruebas de biodecoloración en medio líquido suplementado con 0.2 g/L de azul índigo, se observó una reducción progresiva en la absorbancia del azul índigo a 649 nm. El análisis a través de espectrofotometría UV-Vis reveló la aparición de un pico de absorción entre 336–342 nm, correspondiente al producto de oxidación isatina, con un espectro similar al del estándar (328 nm), lo que indicó que hubo ruptura del sistema indólico. Esto coincide con lo reportado por Cano *et al.* (2011) y Pellizzer *et al.* (2024), quienes demostraron la conversión del azul índigo a isatina por acción de hongos ligninolíticos como *Trametes versicolor* y *Paramarasmius palmivorus*.

El análisis por FT-IR (espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier) evidenció la presencia de bandas características de isatina en las cepas TehAzo1 y TehAzo2, particularmente en las regiones 1626, 1368, 1356, 1096, 1087, 942, 937 cm^{-1} . Estas señales coinciden con lo reportado por Wahyuningsih *et al.* (2017), confirmando la transformación estructural del azul índigo mediante procesos oxidativos. A su vez, el análisis por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) confirmó la presencia de isatina como producto principal de la biotransformación. Los cromatogramas de las cepas presentaron tiempos de retención equivalentes a los del estándar de isatina, mientras que el medio inicial mostró tiempos de retención semejantes al estándar de azul índigo, confirmando la eficacia del proceso de biodecoloración por parte de las cepas. Estudios como los de Bankole *et al.* (2017), Pellizzer *et al.* (2024) y Rodrigues *et al.* (2024), respaldan estos hallazgos, al reportar patrones similares tanto en FT-IR como en HPLC.

Los resultados obtenidos con las cepas de *Trichoderma harzianum* TehAzo1 y TehAzo2 no solo evidencian su capacidad para degradar el azul índigo, sino que resaltan su potencial competitivo frente a otros hongos comúnmente utilizados en biorremediación, como *Aspergillus niger*, *Rhizopus arrhizus* y *Rhizopus oryzae*, los cuales también han sido ampliamente estudiados por su habilidad para decolorar colorantes sintéticos. Estas especies, al igual que *Trichoderma*, han demostrado eficacia tanto en la biosorción como en la biodecoloración de compuestos textiles, gracias a su sistema enzimático robusto y adaptabilidad a condiciones contaminadas (Yang, 2016; Ben-Ali *et al.*, 2020).

Por ejemplo, *Aspergillus niger* se ha descrito como un organismo con gran capacidad de adsorber colorantes sobre su superficie celular. Sin embargo, su acción biodegradadora está más limitada a ciertos colorantes azo, y depende de la suplementación del medio con inductores enzimáticos o mediadores redox. En cambio, diversas cepas de *Trichoderma* tienen la ventaja de un sistema enzimático más versátil y activo, incluso sin adición de cofactores específicos (Deng *et al.*, 2024; Ge *et al.*, 2024).

En el caso de *Rhizopus oryzae* y *Rhizopus arrhizus*, se ha demostrado su capacidad significativa de biosorción para colorantes catiónicos, debido a la carga negativa de sus paredes celulares. No obstante, su eficiencia disminuye frente a colorantes no iónicos o neutros como el azul índigo. Además, sus tasas de crecimiento micelial y esporulación son más sensibles a compuestos tóxicos en comparación con *Trichoderma*, lo que limita su aplicación en matrices contaminadas complejas, como las aguas residuales textiles (Fu y Viraraghavan, 2001; Srinivasan y Viraraghavan, 2010; Silva-Lisboa *et al.*, 2017).

Los mecanismos enzimáticos involucrados en la degradación de colorantes por hongos incluyen principalmente lacasas (Lac), manganeso peroxidasa (MnP), lignina peroxidasa (LiP), tirosinasas, veratryl alcohol oxidasa (VAO) y aril alcohol oxidasa (AAO). En este trabajo, se comprobó la participación de las enzimas lacasas, MnP y VAO para la transformación del azul índigo a isatina, lo que respalda la participación de un mecanismo oxidativo no específico. Estas enzimas generan radicales libres altamente reactivos que atacan el doble enlace central del índigo, provocando la ruptura del sistema conjugado y permitiendo la formación de productos intermedios más simples y solubles. Como indican Hadibarata *et al.* (2013), la lacasa puede oxidar estructuras aromáticas conjugadas sin requerir peróxido de hidrógeno, a diferencia de las peroxidasa, lo que la hace particularmente útil para procesos de oxidación de colorantes recalcitrantes.

Cabe destacar que estos mecanismos enzimáticos no dependen exclusivamente de la especie fúngica, sino también de factores como el pH, la temperatura, la presencia de cofactores y nutrientes en el medio de cultivo. Como señalan Deng *et al.* (2024) y Ge *et al.* (2024), la producción de enzimas como Lac y MnP es inducida bajo

condiciones de estrés nutricional, especialmente en medios con bajo contenido de nitrógeno o suplementados con compuestos lignocelulósicos.

El producto principal de la biodecoloración del azul índigo fue identificado como isatina ($C_8H_5NO_2$), un compuesto heterocíclico con estructura parcialmente oxidada, validando la oxidación del azul índigo hacia esta molécula.

El azul índigo se puede reducir u oxidar, en su reducción, el azul índigo puede ser reducido a leucoíndigo, una forma incolora, soluble y químicamente inestable. Este proceso implica la adición de electrones al doble enlace central, interrumpiendo el sistema π conjugado responsable de su color azul intenso (Harriman, 2025).

No obstante, la ruta oxidativa sigue siendo la más eficaz para la biodecoloración completa del azul índigo, como se ha observado en las cepas TehAzo1 y TehAzo2 bajo condiciones de cultivo *in vitro*. Estudios como los de Pellizzer *et al.* (2024), Bankole *et al.* (2017), Magalhães *et al.* (2024), Sánchez-Martínez *et al.* (2024) y Ainhoa *et al.* (2024) corroboran que la producción de isatina a partir de azul índigo por procesos enzimáticos oxidativos.

Estudios como los Mantzouris *et al.* (2014) y Zhou *et al.* (2023) describen que después de la formación de isatina, pueden generarse otros productos intermedios como ácido antranílico e isatoico anhidrita, los cuales eventualmente pueden continuar su degradación hacia moléculas pequeñas como CO_2 , NH_4^+ y H_2O , completando un proceso de mineralización. Estas rutas han sido observadas tanto en hongos ligninolíticos como en especies filamentosas no basidiomicotas, como *Trichoderma harzianum*.

Por otro lado, Silva-Lisboa *et al.* (2017), Ben-Ali *et al.*, (2020) y Dahliaty *et al.* (2025) han demostrado que cepas de *T. atroviride* y *T. virens*, poseen una capacidad enzimática superior que cepas ligninolíticas clásicas como *Phanerochaete chrysosporium*. Es debido a su habilidad para producir combinaciones específicas de Lac, MnP y LiP, ajustando su perfil enzimático según las condiciones ambientales lo que representa una plasticidad metabólica elevada.

Asimismo, *Trichoderma harzianum* ha sido ampliamente reportado como un organismo seguro, no patógeno, y con aplicaciones en agricultura (biocontrol, biofertilización), lo que amplía su versatilidad como candidato para micorremediación ambiental (Dahliaty *et al.*, 2025). En comparación a *Aspergillus* y *Rhizopus*, que a pesar de tener aplicaciones de micorremediación, también se asocian con riesgos toxigénicos en ciertas cepas, limitando su aplicación.

En las pruebas de escalamiento realizadas con efluentes textiles fueron suplementadas con 0.5% (v/v) de medio mineral. Esta estrategia, ha sido utilizada por Nabeela *et al.* (2023) y Laothanachareon *et al.* (2023), donde adicionaron co-sustratos lignocelulósicos, para incrementar la biomasa e inducir los sistemas ligninolíticos. Además, en nuestro estudio el pH del efluente textil fue ajustado a 5.6, para la optimización del sistema enzimático; en la literatura indica que muchas de las enzimas implicadas en la degradación de colorantes especialmente las lacasas, presentan una actividad óptima bajo condiciones ligeramente ácidas (pH 4.5–6.0), mientras que las peroxidasas como MnP y LiP requieren de la presencia de peróxidos como H₂O₂ para mantener su actividad catalítica (Silva-Lisboa *et al.*, 2017).

En el ensayo, las cepas TehAzo1 y TehAzo2 mostraron un rendimiento óptimo en las aguas residuales textiles sin tratamiento previo y sin esterilización, demostrando que las cepas de *Trichoderma* no solo pueden biodecolorar, sino que también pueden coexistir con diversos microorganismos y crecer en un ambiente de estrés inducido por los contaminantes del agua textil. La producción de enzimas ligninolíticas por parte de *Trichoderma* no es constitutiva, sino inducida por estrés, como es el caso del azul índigo. Esta respuesta adaptativa está mediada por vías de señalización celular que modulan la expresión de enzimas como MnP, VAO y Lac (Valdez-Vázquez *et al.*, 2020; Kita *et al.*, 2022). Esto explicaría la variabilidad observada entre cepas, incluso dentro de una misma especie, respecto a su desempeño enzimático bajo idénticas condiciones.

Los resultados obtenidos en la biodecoloración de azul índigo en suelo modelo a nivel microcosmos evidenciaron que ambas cepas de *Trichoderma harzianum* (TehAzo 1 y TehAzo 2) alcanzaron una eliminación completa del colorante a las 336 h, con tasas constantes de biodecoloración (k) superiores a 0.40 día⁻¹ y tiempos de vida media

($t_{1/2}$) de apenas 1.70–1.71 días. Estos resultados demuestran el potencial de las cepas fungicas para la remediación de suelos contaminados por efluentes textiles.

La eficiencia observada se puede atribuir a la versatilidad metabólica de *T. harzianum*, que ha sido documentada como un hongo filamentoso con capacidad para adaptarse y degradar compuestos aromáticos recalcitrantes (Siddiqui *et al.*, 2025). Estudios recientes indican que *Trichoderma* no solo actúa sobre el contaminante, sino que también mejora las propiedades fisicoquímicas y biológicas del suelo, incrementando la actividad enzimática y favoreciendo la microbiota (Wang *et al.*, 2024). Este efecto sinérgico podría haber facilitado la persistencia y crecimiento de las cepas, evidenciado por la elevada sobrevivencia durante todo el ensayo. Además, demuestra que la biodecoloración del colorante está altamente ligada a la parte metabólica del microorganismo inoculado, la tasa de biodecoloración iba a aumentar con la tasa de crecimiento.

El gran aumento en la biodecoloración aparente del azul índigo en este ensayo podría no deberse exclusivamente a la actividad biológica de las cepas de *Trichoderma harzianum*, sino también a procesos bióticos (flora resistente a la tinción) y abióticos que contribuyen a la reducción del color visible. Uno de los mecanismos es la adsorción del colorante en las partículas del suelo, un fenómeno en el que las moléculas de azul índigo se fijan a superficies minerales y a la materia orgánica a través de interacciones electrostáticas, enlaces de hidrógeno y fuerzas de Van der Waals (Forgacs *et al.*, 2004). Esta retención física puede reducir significativamente la concentración de colorante, por ende, su detección espectrofotométrica, sin que necesariamente haya ocurrido una transformación química del contaminante.

Adicionalmente, el suelo actúa como un sistema amortiguador que modula la movilidad de los colorantes. La CIC, el contenido de arcillas y la presencia de grupos funcionales reactivos en la materia orgánica edáfica pueden incrementar la afinidad del azul índigo por la matriz sólida, inmovilizándolo parcialmente (Robinson *et al.*, 2001). Este fenómeno ha sido reportado incluso en suelos con bajo contenido de materia orgánica, donde la fracción mineral, especialmente arcillas, presentan sitios activos capaces de retener moléculas orgánicas de gran tamaño (Aksu y Tezer, 2005).

Los resultados de este estudio demuestran que las cepas autóctonas de *Trichoderma harzianum* TehAzo1 y TehAzo2 poseen un alto potencial como agentes de biorremediación para la eliminación de azul índigo, tanto en condiciones controladas como en matrices complejas como el suelo contaminado y efluentes textiles sin tratamiento. Su eficiencia se basa en una combinación de mecanismos biológicos, principalmente la biodecoloración oxidativa no específica, y procesos fisicoquímicos propios del medio, como la adsorción en partículas del suelo, que pueden contribuir a la desaparición visual del colorante. Esta dualidad resalta la necesidad de considerar futuras investigaciones para una escala real, optimizando las condiciones para maximizar la actividad enzimática y asegurar la transformación química del contaminante.

11. Conclusiones

El análisis fisicoquímico de las muestras de agua y suelo agrícola de Tehuacán, Puebla, evidenció que la industria textil de mezclilla contribuye significativamente a la degradación ambiental del agroecosistema de acuerdo a lo establecido en las normas mexicanas (NOM-230-SSA1-2002 y la NOM-021-SEMARNAT-2000) con una cuantificación de azul índigo de 0.364 g/L en agua y 0.083 g/L en suelo.

A partir de los suelos contaminados, se aislaron e identificaron cepas autóctonas de *Trichoderma harzianum*, destacando su tolerancia a 0.2 g/L de azul índigo y una capacidad de biodecoloración de hasta un 74% a nivel *in vitro*.

El análisis mediante FT-IR y HPLC confirmó que las cepas de *T. harzianum* transformaron el azul índigo en isatina, indicando un proceso de oxidación biológica mediado por su maquinaria enzimática como VAO, lacasas y MnP.

En pruebas de escalamiento con agua residual textil a nivel *ex situ*, las cepas de *T. harzianum* mostraron una alta eficacia en la biodecoloración.

La biodecoloración de azul índigo en suelo modelo a nivel microcosmos, las cepas de *T. harzianum* presentaron una biodecoloración del 100% y mantuvieron su sobrevivencia a través del tiempo.

Estos resultados confirman que el uso de *T. harzianum*, representa una estrategia biotecnológica viable y sostenible para la transformación del azul índigo y la restauración de agroecosistemas afectados por la actividad textil.

12. Bibliografía

1. Abd El-latif, A. S., Zohri, A. N. A., El-Aref, H. M., & Mahmoud, G. A. E. (2024). Kinetic studies on optimized extracellular laccase from *Trichoderma harzianum* PP389612 and its capabilities for azo dye removal. *Microbial Cell Factories*, 23(1), 150.
2. Abdel-Shafy, H. I. y M. S, Mansour, 2016. A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: source, environmental impact, effect on human health and remediation. *Egyptian Journal of Petroleum*, 25 (1): 107-123.
3. Abubacker, M. N. y Kirthiga, B. (2017). Impacto a largo plazo del riego con aguas residuales textiles y un enfoque ecológico para la degradación de metales pesados. En *Biorremediación y tecnologías sostenibles para un medio ambiente más limpio* (págs. 133-161). Cham: Springer International Publishing.
4. Acosta Torres, J. C., Rodríguez, B., & Briley, J. (2018). Propuesta para la reducción de colorante azul índigo en aguas residuales de industria textil mediante la oxido reducción para la empresa comercial Dacetex Ltda.
5. Agu, K. C., & Chidozie, C. P. (2021). An improved slide culture technique for the microscopic identification of fungal species. *International Journal of Trend in Scientific Research and Development*, 6(1), 243-254.
6. Ahlawat, A., Jaswal, A. S., & Mishra, S. (2022). Proposed pathway of degradation of indigo carmine and its co-metabolism by white-rot fungus *Cyathus bulleri*. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 172, 105424.
7. Ainhoa, S. M., Alejandro, M. M., Inés, M. P., Raquel, B. A., Ignacio, M., & Jaime, G. P. (2024,). Influence of Laccase Enzyme on the Biodegradability of Indigo Blue Dyed 100% Cotton Fabrics. In *22nd AUTEX World Textile Conference* (Vol. 2, p. 199). Trans Tech Publications Ltd.
8. Aksu, Z., & Tezer, S. (2005). Biosorption of reactive dyes on the green alga *Chlorella vulgaris*. *Process Biochemistry*, 40(3-4), 1347-1361.
9. Álvarez-Arteaga, G., Ibáñez-Huerta, A., Orozco-Hernández, M. E., & García-Fajardo, B. (2020). Regionalización de indicadores de calidad para suelos degradados por actividades agrícolas y pecuarias en el altiplano central de México. *Quivera. Revista de Estudios Territoriales*, 22(2), 5-19.
10. Anisuzzaman, S. M., Joseph, C. G., Pang, C. K., Affandi, N. A., Maruja, S. N., & Vijayan, V. (2022). Tendencias actuales en la utilización de procesos de

- tratamiento de fotólisis y fotocátalisis para la remediación de aguas residuales de tintes: una breve revisión. *Ingeniería Química*, 6(4), 58.
11. Aragaw, T. A. (2020). Utilizations of electro-coagulated sludge from wastewater treatment plant data as an adsorbent for direct red 28 dye removal. *Data in Brief*, *28*, 104848. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2019.104848>
 12. Arbona Cabrera, M., Cabrera Estrada, I., Fabelo Falcón, J. A., O'Farrill Pie, M. E., & García Hernández, M. D. L. Á. (2022). DEFINICIÓN DE LA LEY DE VELOCIDAD PARA LA REACCIÓN ENTRE LAS AGUAS RESIDUALES TEXTILES Y DIÓXIDO DE CARBONO. *Centro Azúcar*, 49(4), 91-101.
 13. Arenas Guzmán, R., & Torres Guerrero, E. (Eds.). (2020). *Micología Médica Ilustrada* (6a ed.). McGraw Hill.
 14. Arora, C., Kumar, P., Soni, S., Mittal, J., Mittal, A., & Singh, B. (2020). Efficient removal of malachite green dye from aqueous solution using *Curcuma caesia* based activated carbon. *Desalination Water Treat*, 195, 341-352.
 15. Ayebidun, O. V., & Ajibare, A. O. (2023). Sub-lethal toxicity of indigo dye (*Indigofera tinctoria*) on *Oreochromis niloticus* juveniles. *Bulletin of the National Research Centre*, 47(1), 86.
 16. Bailey, K., Basu, A., & Sharma, S. (2022). The environmental impacts of fast fashion on water quality: a systematic review. *Water*, 14(7), 1073.
 17. Balan, D. S., & Monteiro, R. T. (2001). Discoloration of textile indigo dye by ligninolytic fungi. *Journal of Biotechnology*, 89(2-3), 141-145.
 18. Bankole, P. O., Adekunle, A. A., Obidi, O. F., Olukanni, O. D., & Govindwar, S. P. (2017). Degradation of indigo dye by a newly isolated yeast, *Diutina rugosa* from dye wastewater polluted soil. *Journal of environmental chemical engineering*, 5(5), 4639-4648.
 19. Barakat, A. O., A., Mostafa, T. L., Wade, S. T., Sweet y N. B., El Sayed, 2011. Distribution and characteristics of PAHs in sediments from the Mediterranean coastal environment of Egypt. *Marine Pollution Bulletin*, 62 (9): 1969-1978.
 20. Barathi, S., Karthik, C., Nadasabapathi, S., & Padikasan, I. A. (2020). Biodegradation of textile dye Reactive Blue 160 by *Bacillus firmus* (Bacillaceae: Bacillales) and non-target toxicity screening of their degraded products. *Toxicology Reports*, 7, 16-22.

21. Barboza, D. J. C., & Tello, A. F. (2019). Productividad y Competitividad de la Industria Textil y de la Confección de México: un análisis con China, 1995-2011. *Revista Nicolaita de Estudios Económicos*, 14(1), 95-109.
22. Barnett HL and Hunter BB. 2006. *Illustrated genera of imperfect fungi*. 4th Edition, The American Phytopathological Society, St. Paul Minnesota. USA. 241 p.
23. Barrios-Ziolo, L.F.; Gaviria-Restrepo, L.F.; Agudelo, E.A.; Cardona-Gallo, S.A. (2016). Estudio de la toxicidad asociada al vertimiento de aguas residuales con presencia de colorantes y pigmentos en el Área Metropolitana del Valle de Aburrá. *Revista EIA*, 13(26), julio-diciembre, pp. 61-74. [Online]. <https://doi.org/10.24050/reia.v13i26.742>
24. Ben Ali, W., Chaduli, D., Navarro, D., Lechat, C., Turbé-Doan, A., Bertrand, E., ... & Mechichi, T. (2020). Screening of five marine-derived fungal strains for their potential to produce oxidases with laccase activities suitable for biotechnological applications. *BMC biotechnology*, 20(1), 27.
25. Bernal, S. P., Lira, M., Jean-Baptiste, J., García, P. E., Batista, E., Ottoni, J. R., & Passarini, M. R. (2021). Potencial biotecnológico de microorganismos a partir de efluentes textiles: aislamiento, actividad enzimática y decoloración del tinte. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 93, e20191581.
26. Boix Cruz, A. M., Freyre Pulido, V. D. C., & Bringas Marrero, P. (2023). Aproximación a la Inseguridad del Agua en los Hogares de Tehuacán.
27. Bonifaz Játiva, P. A., & Rubio Zurita, T. N. (2023). Producción de metabolitos secundarios mediante fermentación líquida a partir de *Trichoderma* y *Bacillus* para el control de hongos aislados de pitahaya roja (*Hylocereus Undatus*) (Bachelor's thesis).
28. Bustamante Neira, E. T., & Galarza Villamar, J. A. (2022). Evaluación De Las Prácticas Agrícolas Denominadas "Erosivas" En Comparación Con Sistemas Más "Sostenibles", En La Subcuenca Del Río Daule.
29. Cano, M., Solis, M., Diaz, J., Solis, A., Loera, O., & Teutli, M. M. (2011). Biotransformation of indigo carmine to isatin sulfonic acid by lyophilized mycelia from *Trametes versicolor*. *African Journal of Biotechnology*, 10(57), 12224-12231.

30. Carliño, M. J., Segura, F. O., & Iglesias, J. C. (2021). 5.-Contaminación ambiental y su influencia en la salud. *ReNaCientE-Revista Nacional Científica Estudiantil-UPEL-IPB*, 2(1), 75-90.
31. Carstensen, L. (2019). La maquila clandestina: el trabajo a domicilio informal en la industrial textil y del vestido en Puebla, México. *BAJO EL VOLCÁN. REVISTA DEL POSGRADO DE SOCIOLOGÍA. BUAP*, 1(18).
32. Castillo-Suárez, L. A., Sierra-Sánchez, A. G., Linares-Hernández, I., Martínez-Miranda, V., & Teutli-Sequeira, E. A. (2023). A critical review of textile industry wastewater: green technologies for the removal of indigo dyes. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 20(9), 10553-10590.
33. Cervantes Loera, J. (2022). Las condiciones laborales y de vida de las trabajadoras en las maquiladoras de prendas de vestir en Tehuacán, 1990-2010 (Tesis de maestría, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla).
34. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (Conabio). (2019). Regiones Terrestres Prioritarias De México- Valle De Tehuacán-Cuicatlán.
http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/regionalizacion/doctos/rtp_121.pdf
35. Companioni González, B., Domínguez Arizmendi, G., & García Velasco, R. (2019). *Trichoderma*: su potencial en el desarrollo sostenible de la agricultura. *Biotecnología Vegetal*, 19(4), 237-248.
36. CORREDOR, I. 2002. Evaluación del efecto de dos métodos de conservación sobre diferentes microorganismos con interés en control biológico. Microbiólogo Agrícola y veterinaria. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Bogotá D.C.
37. Cotler, H. (2020). para recuperar la calidad de los suelos. Cultivos en suelos sostenibles.
38. Cruz Apunte, J. D., & Lincango Tuquerres, J. R. (2021). Evaluación del proceso de biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos totales de petróleo utilizando *Trichoderma* sp. Y *Bacillus pumilus*, mediante el sistema de biopilas a escala de laboratorio (Bachelor's thesis).
39. Dahliaty, A., Nurulita, Y., Ismawati, N., Wulandari, N., Kurniati, D., Yanti, T., & Nugroho, T. T. (2025). Bioremediation and detoxification of the textile dye methyl blue by *Trichoderma asperellum* LBKURCC1 with laccase activity.

- Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology, 10(2), jtbb16121.
<https://doi.org/10.22146/jtbb.16121>
40. Daou, M., Bisotto, A., Haon, M., Oliveira Correia, L., Cottyn, B., Drula, E., ... & Faulds, C. B. (2021). A putative lignin copper oxidase from *Trichoderma reesei*. *Journal of Fungi*, 7(8), 643.
 41. De la Varga Pastor, A. (2022). Título VIII. Suelos contaminados (arts. 98 a 103). *Revista Aragonesa de Administración Pública*, (21), 603-639.
 42. Deng, W., Li, X., Li, X., Li, L., & Li, W. (2024). Enzymatic mechanisms of fungal degradation of textile dyes: Advances and prospects. *Journal of Hazardous Materials*, 455, 132678. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.132678>
 43. Díaz Córdova, Z. M. (2021). Tratamiento de aguas residuales de la industria textil mediante procesos de oxidación avanzada (O₃/UV/H₂O₂) para su vertimiento en la red de alcantarillado.
 44. Ding, S. J., Zhang, X. F., Yang, W. L., Xin, X. L., Zhu, A. N., & Huang, S. M. (2021). Soil nutrients and aggregate composition of four soils with contrasting textures in a long-term experiment. *Eurasian Soil Science*, 54, 1746-1755.
 45. Docío, E. B., Varela, J. C., Pérez, P. C., & Pombo, M. S. (2021). Tratamiento de suelos dañados por los efluentes de las industrias textiles de Bangladesh.
 46. DOF (Diario Oficial de la Federación). (2002). *NOM-021-SEMARNAT-2000, que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis*. Gobierno de México, Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Ciudad de México, México.
 47. DOF (Diario Oficial de la Federación). (2005). *NOM-230-SSA1-2002, salud ambiental. Agua para uso y consumo humano*. Secretaría de Salud. Gobierno de México. Ciudad de México, México.
 48. Donkadokula, N. Y., Kola, A. K., Naz, I., & Saroj, D. (2020). Una revisión sobre las técnicas avanzadas de tratamiento de aguas residuales de tintes textiles físico-químicos y biológicos. *Revistas de ciencias ambientales y bio/tecnología*, 19, 543-560.
 49. Figueroa, M. G. A. (2022). Estudio termodinámico de la remoción amigable de Azul Índigo en solución empleando *Coriandrum sativum*.
 50. Forgacs, E., Cserhádi, T., & Oros, G. (2004). Removal of synthetic dyes from wastewaters: a review. *Environment international*, 30(7), 953-971.

51. Fu, Y., & Viraraghavan, T. (2001). Fungal decolorization of dye wastewaters: a review. *Bioresource technology*, 79(3), 251-262.
52. Gallego-Ramírez, C., Chica, E., & Rubio-Clemente, A. (2022). Estudio de los efectos ecotoxicológicos de los colorantes en diferentes organismos acuáticos. *Ciencia Transdisciplinaria en la Nueva Era*, 336.
53. Gallo, S. A. C., Barrios-Ziolo, L. F., Gaviria-Restrepo, L. F., & Agudelo, E. A. (2016). Estudio de la toxicidad asociada al vertimiento de aguas residuales con presencia de colorantes y pigmentos en el área metropolitana del valle de Aburra. *Revista EIA*, 13(26), 61-74.
54. Gao, Y., Croze, B., Birch, Q. T., Nadagouda, M. N., & Mahendra, S. (2023). Sorghum-grown fungal biocatalysts for synthetic dye degradation. *Water Research X*, 19, 100181.
55. García-González, C. Y., Moreno-Reséndez, A., Figueroa-Viramontes, U., & Reyes-Carrillo, J. L. (2020). Acumulación de metales pesados en alfalfa regada con agua residual de la industria textil. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 7(2).
56. Garnica Subiabre, B. S. (2023). Evaluación del potencial reúso de aguas grises de lavandería en la agricultura, tratadas mediante un humedal construido de flujo vertical subsuperficial.
57. Gavilema Gavilema, G. E. (2023). Influencia del permanganato de potasio en la resistencia del color al lavado en el proceso de bajado de tono de un tejido Denim Índigo (Bachelor's thesis).
58. Ge, M., Deng, W., Wang, Z., Weng, C., & Yang, Y. (2024). Effective decolorization and detoxification of single and mixed dyes with crude laccase preparation from a white-rot fungus strain *Pleurotus eryngii*. *Molecules*, 29(3), 669.
59. Giraldo Ocampo, O. D. J., Sánchez Hincapié, P. A., & Arteaga Rojas, Y. P. (2023). Factores contaminantes declarados por las empresas textiles en Medellín.
60. Gobierno de México. (2023). Fabricación de Prendas de Vestir. <https://www.economia.gob.mx/datamexico/es/profile/industry/apparel-manufacturing?yearSelectorGdp=timeOption0>

61. González Torres, J. C. (2019). Desarrollo teórico de fotocatalizadores de TiO₂ activos en la región visible para la degradación del colorante Anaranjado Ácido 7.
62. González, J. I. S. (2023). Facultad De Ingeniería Química Colegio De Ingeniería En Materiales (Doctoral Dissertation, Benemérita Universidad Autónoma De Puebla).
63. Grondona, I., Hermosa, R., Tejada, M., Gomis, M. D., Mateos, P. F., Bridge, P. D., ... & Garcia-Acha, I. (1997). Physiological and biochemical characterization of *Trichoderma harzianum*, a biological control agent against soilborne fungal plant pathogens. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(8), 3189-3198.
64. Guevara Macías, M. D. J. (2020). Proceso de desertificación por influencia natural y antropogénica en el centro-norte de México.
65. Guida Johnson, B., Sales, R., & Esteves, M. (2020). Presión de la expansión urbana sobre territorios rurales de tierras secas irrigadas de Mendoza. Reflexiones para el ordenamiento territorial. *Revista de la Asociación Argentina de Ecología de Paisajes*, 9(1), 165-169.
66. Guzmán Cedeño, Á. M., Zambrano Pazmiño, D. E., Rondón, A. J., Laurencio Silva, M., Pérez Quintana, M., León Aguilar, R., & Rivera Fernández, R. (2014). Aislamiento, selección y caracterización de hongos celulolíticos a partir de muestras de suelo en Manabí-Ecuador. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo*, 46(2), 177-189.
67. Hadibarata, T., Adnan, L. A., Yusoff, A. R. M., Yuniarto, A., Rubiyatno, Zubir, M. M. F. A., ... & Naser, M. A. (2013). Microbial decolorization of an azo dye reactive black 5 using white-rot fungus *Pleurotus eryngii* F032. *Water, Air, & Soil Pollution*, 224(6), 1595.
68. 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.
69. Harriman, A. (2025). A Perspective on Indigo: An Iconic Colorant. *Colorants*, 4(2), 12.
70. Hassan, M. M., & Carr, C. M. (2018). Una revisión crítica sobre los avances recientes de la eliminación de colorantes reactivos de los efluentes de la tintorería mediante adsorbentes de intercambio iónico. *Quimiosfera*, 209, 201-219.

71. Hemashenpagam, N., & Selvajeyanthi, S. (2023). Textile dyes and their effect on human beings. In *Nanohybrid materials for treatment of textiles dyes* (pp. 41-60). Singapore: Springer Nature Singapore.
72. Hernández-Melchor, D. J., Ferrera-Cerrato, R., & Alarcón, A. (2019). Trichoderma: importancia agrícola, biotecnológica, y sistemas de fermentación para producir biomasa y enzimas de interés industrial. *Chilean journal of agricultural & animal sciences*, 35(1), 98-112.
73. Hossen, M. Z., Hussain, M. E., Hakim, A., Islam, K., Uddin, M. N., & Azad, A. K. (2019). Biodegradation of reactive textile dye Novacron Super Black G by free cells of newly isolated *Alcaligenes faecalis* AZ26 and *Bacillus* spp obtained from textile effluents. *Heliyon*, 5(7).
74. Islam, M., & Mostafa, M. (2019). Efluentes de teñido textil y preocupaciones ambientales: una revisión. *Revista de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales*, 11(1-2), 131–144. <https://doi.org/10.3329/jesnr.v11i1-2.43380>
75. Iuga, C., Ortiz, E., Alvarez-Idaboy, J. R., & Vivier-Bunge, A. (2012). Molecular description of indigo oxidation mechanisms initiated by OH and OOH radicals. *The Journal of Physical Chemistry A*, 116(14), 3643-3651.
76. Kalia, S., Samuchiwal, S., Dhaka, V., & Malik, A. (2023). Development and optimization of the dye removal process by *Trichoderma reesei* using starch effluent as a growth supplement. *AQUA—Water Infrastructure, Ecosystems and Society*, 72(3), 395-410.
77. Kamida, H. M., Durrant, L. R., Monteiro, R. T. R., & Armas, E. D. D. (2005). Biodegradação de efluente têxtil por *Pleurotus sajor-caju*. *Química Nova*, 28, 629-632.
78. Khan, W. U., Ahmed, S., Dhoble, Y., & Madhav, S. (2023). A critical review of hazardous waste generation from textile industries and associated ecological impacts. *Journal of the Indian Chemical Society*, 100(1), 100829.
79. Kita, D. M., Giovanella, P., Yoshinaga, T. T., Pellizzer, E. P., & Sette, L. D. (2022). Antarctic fungi applied to textile dye bioremediation. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 94(suppl 1), e20210234.
80. Kopittke, P. M., Menzies, N. W., Wang, P., McKenna, B. A., & Lombi, E. (2019). Soil and the intensification of agriculture for global food security. *Environment International*, 132, 105078. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105078>

81. Kulkarni, K., Kumar, P. M., Kulkarni, A., & Satpute, S. (2024). Bioremediation of hazardous Metanil yellow dye by using *Trichoderma* and *Azotobacter* biofertilizers. *Ecological Frontiers*, 44(3), 605-617.
82. Kumar, V., Singh, G., & Dwivedi, S. K. (2022). Dye degradation by fungi. *Dye Biodegradation, Mechanisms and Techniques: Recent Advances*, 113-140.
83. Laothanachareon, T., Kongtong, K., Saeng-Kla, K., Kanokratana, P., Leetanasaksakul, K., & Champreda, V. (2023). Evaluating the efficacy of wood decay fungi and synthetic fungal consortia for simultaneous decolorization of multiple textile dyes. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 39(9), 226.
84. Lemus, J. J. (2019). *El agua o la vida: Otra guerra ha comenzado*. Grijalbo.
85. Leon Rojas, R. C. (2021). *Contaminación ambiental y sus efectos en la salud: una revisión de la literatura científica*.
86. Lino Villamar, S. M. (2023). *Suelos degradados por procesos de desertificación en la Parroquia Julcuy del cantón Jipijapa (Bachelor's thesis, Jipijapa-Unesum)*.
87. Liu, H., Zhang, J., Lu, M., Liang, L., Zhang, H., & Wei, J. (2020). Filtración por membrana basada en biosíntesis junto con un proceso de reducción de nanopartículas de hierro en la eliminación de colorantes. *Revista de Ingeniería Química*, 387, 124202.
88. López, M. F. (2020). *La economía circular en el sector textil: ¿La tendencia de "fast fashion" o "moda rápida" en la industria textil es compatible con el modelo de economía circular?*
89. Lu, R., Ma, L., He, F., Yu, D., Fan, R., Zhang, Y., Liu, J., Li, D., Huang, J., & Yang, Y. (2016). White-rot fungus *Ganoderma* sp. En3 had a strong ability to decolorize and tolerate the anthraquinone, indigo and triphenylmethane dye with high concentrations. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 39(3), 381–390.
90. Madigan, T.M., Martinko, M.J., Parker J., Brock, T.D., Rodriguez, F.C, Sanchez, P.M. (2004). *Brock Biología de los microorganismos*. Ed. Pearson Educación
91. Magalhães, F. F., Pereira, A. F., Cristóvão, R. O., Barros, R. A., Faria, J. L., Silva, C. G., ... & Tavares, A. P. (2024). Recent developments and challenges in the application of fungal laccase for the biodegradation of textile dye pollutants. *Mini-Reviews in Organic Chemistry*, 21(6), 609-632.

92. Mantzouris, D., Karapanagiotis, I., & Panayiotou, C. (2014). Comparison of extraction methods for the analysis of *Indigofera tinctoria* and *Carthamus tinctorius* in textiles by high performance liquid chromatography. *Microchemical Journal*, 115, 78-86.
93. Martínez-Salgado, S. J., Andrade-Hoyos, P., Romero-Arenas, O., Villa-Ruano, N., Landeta-Cortés, G., & Rivera-Tapia, J. A. (2021). Control *in vitro* de *Fusarium* sp. asociado al cultivo de cebolla mediante *Trichoderma harzianum*. *Revista mexicana de fitopatología*, 39(2), 314-328.
94. Mendarte-Alquisira, C., Alarcón, A., & Ferrera-Cerrato, R. (2024). Growth, tolerance, and enzyme activities of *Trichoderma* strains in culture media added with a pyrethroids-based insecticide. *Revista Argentina de Microbiología*, 56(1), 79-89.
95. Mendoza-Retana, S. S., Cervantes-Vázquez, M. G., Valenzuela-García, A. A., Guzmán-Silos, T. L., Orona-Castillo, I., & Cervantes-Vázquez, T. J. Á. (2021). Uso potencial de las aguas residuales en la agricultura. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 12(1), 115-126.
96. Ministerio de Desarrollo Social. (1995, 05 de enero). NORMA Oficial Mexicana NOM-065-ECOL-1994, Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a cuerpos receptores provenientes de las industrias de pigmentos y colorantes. *Diario Oficial de la Federación*.
https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4865778&fecha=05/01/1995#gsc.tab=0
97. Moazzem, S., Crossin, E., Daver, F., & Wang, L. (2021). Environmental impact of apparel supply chain and textile products. *Environment, Development and Sustainability*, 1-19.
98. Mooraltharan, S., Hanafiah, Z. M., Manan, T. S. B. A., Hasan, H. A., Jensen, H. S., Wan-Mohtar, W. A. A. Q. I., & Mohtar, W. H. M. W. (2021). Optimization of mycoremediation treatment for the chemical oxygen demand (COD) and ammonia nitrogen (AN) removal from domestic effluent using wild-Serbian *Ganoderma lucidum* (WSGL). *Environmental Science and Pollution Research*, 28, 32528-32544.
99. Nabeela, Khan, S. A., Mehmood, S., Shabbir, S. B., Ali, S., Alrefaei, A. F., Albeshr, M. F., & Hamayun, M. (2023). Efficacy of Fungi in the Decolorization

- and Detoxification of Remazol Brilliant Blue Dye in Aquatic Environments. *Microorganisms*, 11(3), 703. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11030703>
100. Noronha Ribeiro, J. S. (2018). Aplicación de hongos filamentosos para la remoción simultánea de metales y colorantes (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Nuevo León).
 101. Nugroho, T. T., Nabilah, P., Wulandari, N., Nurulita, Y., Dahliaty, A., & Yanti. (2023). Bioremediation, biosorption, and biodegradation of the textile dye Reactive Black 5 by life cultures of *Trichoderma asperellum* LBKURCC1. *Jurnal Natur Indonesia*, 21(2), 93–99.
 102. Núñez Moreno, M. S., Moreno Albuja, M. D. C., Moscoso Moreno, N. K., & Velasteguí López, E. (2023). Toxicidad de aguas residuales textiles en Ambato: evaluación del conocimiento de decisores. *Revista Universidad y Sociedad*, 15(2), 306-315.
 103. Ortiz Páez, S. (2021). Estudio de la aplicación de los procesos fotocatalíticos para la remoción de metales pesados presentes en aguas residuales industriales.
 104. Patel, D. (2024). A FOCUS ON PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERIZATION OF WASTEWATER DISCHARGED FROM TEXTILE INDUSTRY. *LIFE SCIENCES LEAFLETS*, 172, 1-9.
 105. Pay Casallas, O. F. (2023). Estudio de métodos de inmovilización alternativos y de bajo costo del hongo *Trichoderma* sp, para la degradación de compuestos fenólicos.
 106. Pellizzer, E. P., Giovanella, P., Faria, A. U. D., & Sette, L. D. (2024). Marine-derived fungus *Paramarasmius palmivorus* CBMAI 1062 applied to sulphur indigo blue decolorization, degradation and detoxification. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 96(4), e20230315.
 107. Peng, Q., Zheng, H., Xu, H., Cheng, S., Yu, C., Wu, J., ... & Xie, G. (2024). Response of soil fungi to textile dye contamination. *Environmental Pollution*, 359, 124577.
 108. Pessôa, G. M., Costa, B. F., Rosa, A. G., Santos, S., Cavalcanti, V. G., & Mendonça, C. G. (2021). Uso de aislado de *trichoderma* como biorremediador. *anales de la enic*.
 109. Porkodi, M., Brahmane, M. P., Pathan, M. A., Poojary, N., Singh, S., Harshavarthini, M., & Nagpure, N. S. (2024). Indigo dyes: Toxicity,

- teratogenicity, and genotoxicity studies in zebrafish embryos. *Mutation Research-Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 896, 503752.
110. Quevedo Jaramillo, K. A. (2022). Uso de *Trichoderma* spp. para el desarrollo y crecimiento de tres especies forestales en la parroquia Juan Montalvo del cantón Latacunga.
111. Rai, R., & Vijayakumar, B. S. (2023). Mico-remediación de tintes textiles mediante biosorción por *Aspergillus tamarii* aislados de aguas residuales domésticas. *Contaminación del agua, el aire y el suelo*, 234(8), 542.
112. Ramírez Madriz, F. (2022). Uso del hidrocarbón generado en la carbonización hidrotérmica de desechos de café como catalizador para la remoción de contaminantes emergentes mediante ozonización catalítica.
113. Ramón González, J. A., & Aguilar, A. G. (2021). Expansión urbana irregular, cambio de uso del suelo y deterioro ambiental en la periferia norte de la Zona Metropolitana Puebla-Tlaxcala: el caso del Parque Nacional La Malinche. *Cuadernos de Geografía: Revista Colombiana de Geografía*, 30(2), 441-458.
114. Requena, A. T., Soriano-Miras, R. M., & Alba, M. C. (2019). Water resources and textile maquilas in Tehuacán. *International Journal of Water Resources Development*.
115. Restrepo, L. F. G., Agudelo, E. A., & Gallo, S. A. C. (2019). Estudio de la toxicidad asociada al vertimiento de aguas residuales con presencia de colorantes y pigmentos en el área metropolitana del valle de aburrá.
116. Rincón-Restrepo, D., & Sanabria-Guerrero, J. (2021). Estudio comparativo de evaluación del ciclo de vida de procesos tratamiento de aguas residuales de una industria textil en Medellín.
117. Robinson, T., McMullan, G., Marchant, R., & Nigam, P. (2001). Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative. *Bioresource technology*, 77(3), 247-255.
118. Rodrigues, K., de Sousa, A. M., dos Santos, A. D., Barbosa, B. C., Silva, A. R., Pereira, L., & Silva, G. M. (2024). Decolorization and detoxification of Industrial Wastewater containing Indigo Carmine by *Aspergillus Niger* AN400 in sequential reactors. *Colorants*, 3(1), 73-85.

119. Rodríguez Villanueva, K. N. (2022). Biorremediación mediante *Trichoderma* spp., *Pseudomonas fluorescens* y *Bacillus subtilis* para reducir concentraciones de Cadmio en Espárrago.
120. Sales da Silva, I. G., Gomes de Almeida, F. C., Padilha da Rocha e Silva, N. M., Casazza, A. A., Converti, A., & Asfora Sarubbo, L. (2020). Soil bioremediation: Overview of technologies and trends. *Energies*, 13(18), 4664.
121. Sánchez Cerón, B. (2023). Sistemas combinados para el tratamiento de aguas residuales textiles (Tesis de licenciatura en Biotecnología). Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Ciencias Biológicas.
122. Sánchez, M. B., & Uribe, C. (2018). Contaminación de los ambientes acuáticos generados por la industria textil. *Revista Campus*, 23(26), 129-144.
123. SÁNCHEZ, Q. R. P., & MARTÍNEZ, Q. M. M. (2012). DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BÁSICAS ACADEMIA DE MICROBIOLOGÍA.
124. Sánchez-Martínez, A., Alejandro, M. M., Inés, M. P., Raquel, B. A., Montava, I., & Gisbert-Payá, J. (2024). Influence of laccase enzyme on the biodegradability of indigo blue dyed 100% cotton fabrics. *Advances in Science and Technology*, 146, 23-31.
125. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (2025). Avance de siembras y cosechas (Informe mensual). Gobierno de México. http://nube.agricultura.gob.mx/avance_agricola/
126. Siddiqui, S., Sultan, N., Khatoon, A., & Kamal, A. (2025). EXPLORING THE MULTIFACETED ROLES OF TRICHODERMA IN AGRICULTURE: FROM GROWTH STIMULATION TO POLLUTION REMEDIATION. *Biochemical & Cellular Archives*, 25(1).
127. Silva Lisboa, D., Santos, C., Barbosa, R. N., Magalhães, O., Paiva, L. M., Moreira, K. A., ... & Souza-Motta, C. M. (2017). Requalification of a Brazilian *Trichoderma* collection and screening of its capability to decolourise real textile effluent. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14(4), 373.
128. Singh, J., Gupta, P., & Das, A. (2021). Dyes from textile industry wastewater as emerging contaminants in agricultural fields. *Sustainable Agriculture Reviews 50: Emerging Contaminants in Agriculture*, 109-129.
129. Slama, H. B., Chenari Bouket, A., Pourhassan, Z., Alenezi, F. N., Silini, A., Cherif-Silini, H., ... & Belbahri, L. (2021). Diversity of synthetic dyes from

- textile industries, discharge impacts and treatment methods. *Applied Sciences*, 11(14), 6255.
130. Soriano, L. A. (23 de julio de 2022). El Impacto de Maquiladoras Textiles en el Agua de San Francisco Altepexi, Puebla. Repercusiones en la Vida Comunitaria y Posibles Propuestas. *Territorios Indígenas, Educación e Interculturalidad en la Región Sureste de Puebla y Sur de Veracruz*, 181.
131. Soto Cardona, J. (2023). Evaluación medios de cultivo no convencionales empleando residuos del sector floricultor y papicultor para la producción de enzimas con potencial ambiental e industrial a partir de hongos nativos del Oriente Antioqueño.
132. Srinivasan, A., & Viraraghavan, T. (2010). Decolorization of dye wastewaters by biosorbents: a review. *Journal of environmental management*, 91(10), 1915-1929.
133. Sweety, Vats, S., Kumar, M., Kumar, V., Gupta, S., & Garg, S. K. (2017). Nitrogen and carbon sources influencing mycoremediation of textile dyes using novel autochthonous fungal isolates. *Analytical Chemistry Letters*, 7(5), 632-646.
134. Tello Burgos, N., López-Montes, A., Valero, E. M., Nieves, J. L., & Blanc, M. R. (2022). Characterization of the evolution of indigo blue by multispectral imaging. *Color Research & Application*, 47(2), 486-497.
135. Teo, H. L., Wahab, R. A., Zainal-Abidin, M. H., Mark-Lee, W. F., Huyop, F., Susanti, E., ... & Azman, A. R. (2025). Statistically assisted optimisation for the simultaneous production of *Trichoderma harzianum* and *Aspergillus fumigatus* cellulolytic enzymes. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 15(3), 3827-3843.
136. Trujillo-Reyes, J., Sánchez-Mendieta, V., Colín-Cruz, A., & Morales-Luckie, R. A. (2010). Removal of indigo blue in aqueous solution using Fe/Cu nanoparticles and C/Fe–Cu nanoalloy composites. *Water, Air, and Soil Pollution*, 207(1), 307-317.
137. Umar, A., Khan, M. S., Alam, S., Zekker, I., Burlakovs, J., dC Rubin, S. S., ... & Zahoor, M. (2021). Synthesis and characterization of Pd-Ni bimetallic nanoparticles as efficient adsorbent for the removal of acid orange 8 present in wastewater. *Water*, 13(8), 1095.

138. Valdez-Vazquez, I., Robledo-Rizo, J. G., Muñoz-Páez, K. M., Pérez-Rangel, M., & de la Luz Ruiz-Aguilar, G. M. (2020). Simultaneous hydrogen production and decolorization of denim textile wastewater: kinetics of decolorizing of indigo dye by bacterial and fungal strains. *Brazilian Journal of Microbiology*, 51(2), 701-709.
139. Verma, A. K., Dash, R. R., & Bhunia, P. (2021). A review on chemical coagulation/flocculation technologies for removal of colour from textile wastewaters. *Journal of Environmental Management*, 93(1), 154–168. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2010.08.012>
140. Verma, R. K., Sankhla, M. S., Rathod, N. V., Sonone, S. S., Parihar, K., & Singh, G. K. (2021). Eradication of fatal textile industrial dyes by wastewater treatment. *Biointerface Res. Appl. Chem*, 12, 567-587.
141. Villagómez, P. Z., Montoya, D. A., & Figueroa, E. G. (2020). Análisis de la tendencia en la investigación de la competitividad de la industria de la confección del vestido en México (1996-2018). *Repositorio de la Red Internacional de Investigadores en Competitividad*, 14(14).
142. Von Ziegler Muñoz, B. P., Aguilar, T. C. E., & García, A. I. (2022). Aplicación de hongos ligninolíticos para la biorremediación de aguas contaminadas con colorantes. *Contactos, Revista de Educación en Ciencias e Ingeniería*, (124), 15-33.
143. Wahyuningsih, S., Ramelan, A. H., Wardani, D. K., Aini, F. N., Sari, P. L., Tamtama, B. P. N., & Kristiawan, Y. R. (2017, April). Indigo dye derived from *Indigofera tinctoria* as natural food colorant. In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* (Vol. 193, No. 1, p. 012048). IOP Publishing.
144. Wambuguh, D., & Chianelli, R. R. (2008). Indigo dye waste recovery from blue denim textile effluent: a by-product synergy approach. *New journal of chemistry*, 32(12), 2189-2194.
145. Wang, J., Mu, H., Liu, S., Qi, S., & Mou, S. (2024). Effects of *Trichoderma harzianum* on Growth and Rhizosphere Microbial Community of Continuous Cropping *Lagenaria siceraria*. *Microorganisms*, 12(10), 1987.
146. Watson, W. N., & Penning, C. H. (1926). El índigo y el comercio mundial de tintes. *Química Industrial y de Ingeniería, Sociedad Americana de Química*, 1 de diciembre de 1926. <https://doi.org/10.1021/ie50204a037>

147. White, T. J., Bruns, T., Lee, S. J. W. T., & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR protocols: a guide to methods and applications*, 18(1), 315-322.
148. Witkoś, K., Lech, K., & Jarosz, M. (2015). Identification of degradation products of indigoids by tandem mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry*, 50(11), 1245-1251.
149. Yadav, P., Rai, S. N., Mishra, V., & Singh, M. P. (2021). Mycoremediation of environmental pollutants: A review with special emphasis on mushrooms. *Environmental Sustainability*, 1-14.
150. Yang PanPan, Y. P., Shi WenXiao, S. W., Wang HongKai, W. H., & Liu HongMei, L. H. (2016). Screening of freshwater fungi for decolorizing multiple synthetic dyes.
151. Ynfante-Martínez, D., Martínez-Coca, B., Peteira-Delgado, B., Reyes-Duque, Y., Gil, K., Simpson, J., & Herrera-Estrella, A. (2023). Caracterización morfo-cultural y variabilidad genética y molecular de aislamientos de *Trichoderma*. *Biotecnia*, 25(2), 194-203.
152. Younas, S., Rizvi, H., Ali, S., & Abbas, F. (2020). Irrigation of *Zea mays* with UASB-treated textile wastewater; effect on early irrigation of *Zea mays* with UASB-treated textile wastewater; effect on early growth and physiology. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(13), 15305-15324.
153. Zapata Loaiza, M. I. (2022). Eliminación de los colorantes amaranto, azul de metileno, naranja de metilo, rodamina B y rojo Congo mediante procesos avanzados de oxidación.
154. Zaruma, P., Proal, J., Hernández, I. C., & Salas, H. I. (2018). Los colorantes textiles industriales y tratamientos óptimos de sus efluentes de agua residual: una breve revisión. *Revista de la Facultad de Ciencias Químicas*, (19), 38-47.
155. Zhao, Q., Yang, Z., Xiao, Z., Zhang, Z., Xing, J., Liang, H., ... & Liu, G. (2023). Structure-guided engineering of transcriptional activator XYR1 for inducer-free production of lignocellulolytic enzymes in *Trichoderma reesei*. *Synthetic and Systems Biotechnology*, 8(4), 732-740.
156. Zhao, Y. H., Geng, J. T., Cai, J. C., Cai, Y. F., & Cao, C. Y. (2020). Adsorption performance of basic fuchsin on alkali-activated diatomite. *Adsorption Science & Technology*, *38*(5-6), 151-167.

Zhou, X., Guo, Y., Shi, L., Han, Q., Lin, C., Zhang, L., ... & Zhang, W. (2023). Degradation pathways and mechanisms insight of indigo and shikonin with experiments and quantum chemical calculations. *Dyes and Pigments*, 218, 111455.