



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL
MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA

**ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE SUBPRODUCTOS DE LA INDUSTRIA
MEZCALERA PARA CONTROL DE HONGOS FITOPATÓGENOS EN
MAGUEY**

TESIS

Que como requisito parcial para
obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA

Presenta:

DIANA LAURA OZUNA MORENO

Bajo la supervisión de: ARTEMIO PÉREZ LÓPEZ, DR.



**Maestría en
Ciencia y Tecnología
Agroalimentaria**

Chapingo, Estado de México, noviembre de 2025



**ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE SUBPRODUCTOS DE LA INDUSTRIA MEZCALERA
PARA CONTROL DE HONGOS FITOPATÓGENOS EN MAGUEY**

Tesis realizada por **Diana Laura Ozuna Moreno** bajo la supervisión del Comité asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA
AGROALIMENTARIA**

DIRECTOR



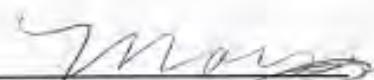
DR. ARTEMIO PÉREZ LÓPEZ

CODIRECTOR



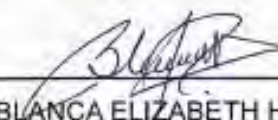
DRA. ROSA ELVIRA SÁNCHEZ FERNÁNDEZ

ASESOR



DR. MOISES CAMACHO TAPIA

ASESORA



DRA. BLANCA ELIZABETH HERNÁNDEZ RODRÍGUEZ

Chapingo. Estado de México, octubre de 2025

CONTENIDO

LISTA DE FIGURAS	v
LISTA DE CUADROS	vii
AGRADECIMIENTOS.....	ix
DATOS BIOGRÁFICOS.....	x
RESUMEN GENERAL.....	xi
GENERAL ABSTRACT	xii
1. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
1.1 Literatura citada.....	3
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1 Importancia económica y cultural del cultivo de <i>Agave</i> spp	4
2.2 Mezcal.....	5
2.3 Proceso del mezcal artesanal.....	6
2.4 Residuos generados por la industria mezcalera	7
2.4.1 Propiedades de los subproductos de agave	8
2.4.2 Hojas de agave	8
2.4.3 Bagazo de agave.....	9
2.4.4 Vinazas de agave	10
2.5 Principales enfermedades fúngicas en agave.....	10
2.5.1 Marchitez del agave causada por <i>Fusarium</i> sp.....	11
2.5.2 Antracnosis o manchas foliares causadas por <i>Collectotrichum</i> sp.....	11
2.5.3 <i>Scyphophorus</i> acupunctatus (picudo).....	11
2.6 Alternativas sostenibles a partir de subproductos de <i>Agave</i> sp	12
2.6.1 Plaguicidas botánicos (extractos vegetales)	12
2.6.2 Productos botánicos comerciales para el cultivo de <i>Agave</i> sp.....	13
2.7 Control de las enfermedades en <i>Agave</i> sp	13
2.7.1 Control cultural	13

2.7.2	Control químico	13
2.7.3	Control biológico	14
2.8	Literatura citada	15
3.	EVALUACIÓN FITOQUÍMICA DE SUBPRODUCTOS DE LA INDUSTRIA MEZCALERA PARA EL CONTROL DE HONGOS FITOPATÓGENOS EN MAGUEY	18
	Resumen	18
3.1	Introducción	20
3.2	Materiales y métodos	21
3.2.1	Recolección de muestras	21
3.2.2	Definición de objetivo y alcance	21
3.2.3	Aislamiento y purificación de hongos	21
3.2.4	Caracterización morfológica	22
3.2.5	Pruebas de patogenicidad	22
3.2.6	Reaislamiento	23
3.2.7	Extracción de DNA para identificación molecular de los hongos ..	23
3.2.8	Reacción en cadena de la polimerasa	24
3.2.9	Subproductos utilizados	25
3.2.10	Procesamiento de residuos	25
3.2.11	Determinación del porcentaje de etanol en vinazas	26
3.2.12	Obtención de extractos	26
3.2.13	Pruebas de inhibición de los extractos obtenidos de los subproductos y de vinaza de la industria del mezcal contra hongos fitopatógenos	26
3.2.14	Determinación de flavonoides totales	27
3.2.15	Identificación de compuestos volátiles y semivolátiles por HS-SPME-GC-MS	29
3.2.16	Análisis estadístico:	30
3.3	Resultados y discusión	30
3.3.1	Evaluación de síntomas en campo	30
3.3.2	Aislamientos de cepas	32
3.3.3	Evaluación de patogenicidad	35

3.3.4	Identificación molecular	36
3.3.5	Evaluación antifúngica in vitro	37
3.3.6	Efecto de los subproductos de Agave sp y tratamientos comerciales sobre el crecimiento micelial	38
3.3.7	Comparación de tratamientos antifúngicos	39
3.3.8	Caracterización fitoquímica	41
3.4	Conclusión.....	48
3.5	Literatura citada	49
4.	CONCLUSIONES GENERALES	53

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Anatomía del Agave sp	5
Figura 2. Producción anual de mezcal artesanal referido a 45 % alc. Vol. (COMERCAM, 2025)	6
Figura 3. Proceso de elaboración del mezcal artesanal	7
Figura 4. Tipos de residuos de agave obtenidos del proceso de destilación y fermentación del mezcal. Modificado de (Márquez-Rangel et al., 2023).	8
Figura 5: Evaluación de síntomas en campo. A, B, C y F correspondientes a <i>Agave angustifolia</i> Haw; D y E correspondientes <i>A. karwinskii</i> Zucc	31
Figura 6: <i>Lasiodiplodia laeliocatleyae</i> en PDA correspondiente a G, H, <i>Lasiodiplodia parva</i> en PDA J, K, y <i>Trichothecium roseum</i> en PDA M, N: Conidios teñidos con azul de lactofenol, 400X I, L y O.....	33
Figura 7. Evaluación <i>in vitro</i> de síntomas en pencas de <i>A. angustifolia</i> Haw (E) y <i>A. karwiinski</i> Zucc (M). 1-3A son inoculadas con <i>Lasiodiplodia parva</i> , 1-4B inoculadas con <i>Lasiodiplodia laeliocatleyae</i> , 1-4C inoculadas con <i>Tricothecium roseum</i> y T represe.....	36
Figura 8. Evaluación <i>in vitro</i> del efecto antifúngico de los extractos contra los hongos fitopatógenos donde la fila 1) representa a <i>Trichothecium roseum</i> , 2) <i>Lasiodiplodia laelocattleyae</i> y 3) <i>Lasiodiplodia parva</i> donde de (A-F) corresponde a los tratamientos utilizados. (A) extracto de metanol de agave, (B) vinazas de agave, (C) extracto de gobernadora, (D) CAPTAN 50 WP, (E) Control negativo PDA-metanol y (F) control negativo PDA.....	38
Figura 9. Efecto del extracto de metanol de Agave (AGVMET), vinaza de Agave (VINAZAS), extracto de gobernadora (E.GOB) y fungicida (CAPTAN) contra tres hongos fitopatógenos. Los resultados se expresan en promedio de tres repeticiones $\pm$ desviación estándar. * = significativo ($p < 0.05$)	39

Figura 10. Crecimiento micelial de <i>Lasiodiplodia laelocattleyae</i> empleando diferentes tratamientos antifúngicos	40
Figura 11. Crecimiento micelial de <i>Lasiodiplodia parva</i> empleando diferentes tratamientos antifúngicos	40
Figura 12. Crecimiento micelial de <i>Trichothecium roseum</i> empleando diferentes tratamientos antifúngicos	41
Figura 13. Curva estándar de quercetina.....	43
Figura 14. Curva estándar de ácido gálico.....	43
Figura 15. Cromatograma del extracto de metanol de <i>A. angustifolia</i> Haw. * Ácido hexadecanoico, éster metílico.....	47
Figura 16. Cromatograma de vinazas. * Alcohol feniletílico.....	48

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Caracterización e identificación de hongos por características morfológicas	32
Cuadro 2. Descripción de los hongos identificados a nivel molecular, aislados de <i>A. karwinskii</i> Zucc y <i>A. angustifolia</i> Haw provenientes de Miahuatlán, Oaxaca.	34
Cuadro 3. Caracterización molecular de los hongos aislados obtenidos de las pencas de <i>Agave</i> spp. de Xitlapehua, Oaxaca.....	37
Cuadro 4. Rendimiento de los extractos	42
Cuadro 5. Caracterización química de extracto de metanol y vinazas de <i>Agave angustifolia</i> Haw	44
Cuadro 6. Identificación de compuestos volátiles de vinazas de <i>Agave</i>	46
Cuadro 7. Identificación de compuestos volátiles en extracto metanol de <i>A. angustifolia</i> Haw	47

DEDICATORIA

A Dios por bendecir este camino lleno de éxito, sabiduría y permitirme llegar hasta aquí.

A mis padres Ricardo Ozuna Rodríguez y Lucia Moreno Montes de Oca por siempre darme su apoyo y amor incondicionalmente, por todo lo que hacen por mí para lograr mis metas, por demostrarme que con esfuerzo, dedicación y paciencia todo se puede.

A mis hermanos Samantha y Ricardo por su cariño, apoyo y por siempre estar para mí cuando más los necesito.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por su amor, paciencia y por poner a las personas correctas en mi camino que me motivaron a llegar hasta aquí.

A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI), que a través de la beca No. 1308945 pude desarrollar y concluir mis estudios de Maestría en Ciencia Agroalimentaria.

A la Universidad Autónoma Chapingo por darme la oportunidad de realizar mis estudios de posgrado.

Al Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria y a la línea de Bioprocesos Agroalimentarios. Por los conocimientos que me brindaron para llevar a cabo este trabajo de investigación.

Al Laboratorio Nacional de Investigación y Servicio Agroalimentario y Forestal (LANISAF) por brindarme el acceso a las instalaciones para desarrollar las etapas experimentales y capacitaciones en el uso de equipo necesario.

Al Dr. Artemio Pérez López, por su paciencia, dedicación experiencia en el área de la investigación y la confianza que depositó en mí para darme la oportunidad de seguir desarrollándome profesionalmente.

A la Dra. Rosa Elvira Sánchez Fernández, por su generosa disposición, paciencia durante mi formación y su experiencia en la enseñanza para resolver dudas fortaleció mis habilidades en cada una de las etapas.

Al Dr. Moisés Camacho Tapia, por su tiempo, paciencia y conocimientos que ayudaron en gran parte al desarrollo experimental.

A la Dra. Blanca Elizabeth Hernández Rodríguez, por darme la confianza y disposición para llevar a cabo parte de la etapa experimental y al análisis de resultados, así como en la enseñanza de técnicas experimentales.

Agradezco a los maestros mezcaleros, Don Ché, Jaime y Don Osvaldo, por compartir sus conocimientos experiencias y sabiduría, además de su cálido trato en cada visita guiada, pues sin ellos no habría sido posible este trabajo.

DATOS BIOGRÁFICOS

DATOS PERSONALES

Nombre: Diana Laura Ozuna Moreno

Fecha de nacimiento: 07 noviembre de 1997

Lugar de Nacimiento: Acapulco, Guerrero.

CURP: OUMD971107MGRZRN06

Profesión: INGENIERO BIOQUÍMICO

Cédula Profesional: 13666223



DESARROLLO ACADÉMICO

Bachillerato: Centro de Bachillerato Tecnológico Industrial de Servicios No. 14 (CBTIS 14)

Licenciatura: Instituto Tecnológico de Acapulco

Cédula Profesional: 13666223

RESUMEN GENERAL

ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE SUBPRODUCTOS DE LA INDUSTRIA MEZCALERA PARA CONTROL DE HONGOS FITOPATÓGENOS EN MAGUEY

Cada año se producen más de 12 millones de litros de mezcal artesanal en México, lo que conlleva una alta demanda del cultivo de agave. Actualmente, la industria del mezcal genera una elevada cantidad de residuos agroindustriales que son normalmente desechados en arroyos y comúnmente quemados, lo que genera un impacto negativo ante el medio ambiente. El sector agrícola enfrenta problemas fitosanitarios causante de pérdidas masivas de productos alimentarios. En este trabajo de investigación se realizó la identificación de dos nuevas especies de *Lasiodiplodia* y una de *Trichothecium* en el cultivo de agave mostrando daños altamente significativos. El extracto de metanol de *Agave angustifolia* Haw mostró inhibición del 53 % contra *Trichothecium roseum* mientras que la vinaza de agave logró inhibirlo hasta un 100% a comparación de *Lasiodiplodia parva* y *L. laelocattleyae* donde redujo la esporulación y el crecimiento aéreo de manera significativa. Se identificaron 35 compuestos volátiles en el extracto de metanol de hojas de *A. angustifolia* Haw y 11 compuestos en las vinazas de agave entre ellos compuestos antifúngicos y antimicrobianos como 2,4-heptadienal, 5-metilfurfural, 2-furanmetanol, alcohol feniletílico y ácido nonanoico.

Palabras clave: Agave, compuestos antifúngicos, metabolitos secundarios.

Tesis de Maestría en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria, Universidad Autónoma Chapingo
Autor: Diana Laura Ozuna Moreno
Director de Tesis: Dr. Artemio Pérez López
Co-directora: Dra. Rosa Elvira Sánchez Fernández

GENERAL ABSTRACT

BIOLOGICAL ACTIVITY OF BY-PRODUCTS FROM THE MEZCAL INDUSTRY FOR THE CONTROL OF PHYTOPATHOGENIC FUNGI IN AGAVE

Every year, more than 12 million liters of artisanal mezcal are produced in Mexico, resulting in a high demand for agave cultivation. Currently, the mezcal industry generates large amount of agro-industrial waste that are often disposed of in streams and is commonly burned, both of which have negative impacts on the environment. The agricultural sector faces phytosanitary problems that lead to substantial losses in food production. In this study, two new species of *Lasiodiplodia* and one of *Trichothecium* were identified in agave crops, causing severe significant damage. The methanolic extract of *Agave angustifolia* Haw showed 53% inhibition against *Trichothecium roseum*, whereas agave vinasse achieved up to 100% inhibition compared to *Lasiodiplodia parva* and *L. laelocattleyae*, significantly reducing sporulation and aerial growth. Thirty-five volatile compounds were identified in the methanolic extract of *A. angustifolia* Haw leaves and eleven compounds in agave vinasses, including antifungal and antimicrobial substances such as 2,4-heptadienal, 5-methylfurfural, 2-furanmethanol, phenylethyl alcohol, and nonanoic acid.

Key words: Agave, antifungal compounds, secondary metabolites.

Graduate Program In Agro-Food Science and Technology, Autonomous University of Chapingo
Author: Diana Laura Ozuna Moreno
Thesis Director: Dr. Artemio Pérez López
Co-directora: Dra. Rosa Elvira Sánchez Fernández

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

El *Agave* sp es el género de plantas más grande de los nueve subgéneros de la familia *Asparagaceae*, con 210 especies, de las cuales 119 son endémicas de México; por lo tanto, se considera el centro de diversidad de estas plantas también conocidas como maguey y se destaca principalmente por su importancia económica y cultural, además de ser la materia prima más importante para la producción de bebidas destiladas como el mezcal y el tequila (Bermúdez-Bazán et al., 2021;Rodríguez Velázquez et al., 2024). Sin embargo, debido a la alta demanda de estas bebidas destiladas se generan una importante cantidad de residuos agroindustriales. En años recientes, los residuos generados en la producción de mezcal han sido aprovechados en la elaboración de diversos bioproductos, destacando su aplicación en el sector alimentario. Gracias al efecto prebiótico de los polisacáridos del *Agave* sp, su uso contribuye a mejorar las propiedades nutricionales, tecnológicas y biológicas de los productos alimenticios. Dentro del proceso de producción del mezcal artesanal se generan tres tipos de residuos, principalmente las hojas o pencas, seguido del bagazo de *Agave* sp un residuo sólido lignocelulósico que queda después de extraer el jugo de las piñas cocidas y por ultimo las vinazas. Las hojas de *Agave* sp se consideran un subproducto de la producción de bebidas alcohólicas, que son desechadas durante el proceso de cosecha. Estos subproductos constituyen una fuente potencial de compuestos bioactivos como saponinas, compuestos fenólicos y flavonoides, y poseen diferentes efectos biológicos como se ha demostrado mediante pruebas *in vitro*. La producción de mezcal demanda cada año un elevado volumen de plantas de *Agave* sp, sin embargo, más del 50 % de la planta (hojas) no se utiliza en el proceso de producción, generando casi el mismo volumen de desechos que se utiliza para la producción.

Producir un litro de mezcal requiere alrededor de 20 litros de agua y aproximadamente 12.7 kg de agave, de los cuales 5 kg se convierten en bagazo (Garzón et al., 2024; Márquez-Rangel et al., 2023).

Por otro lado, el cultivo de *Agave* sp es susceptible a amenazas fitopatológicas, principalmente hongos y bacterias, teniendo ambos un impacto negativo en la producción anual de dichas bebidas. El aumento del cultivo podría incrementar la presencia de enfermedades, tal como se ha observado en plantaciones de *Agave tequilana*. *Fusarium oxysporum* es un agente altamente severo y uno de los problemas fitosanitarios que afecta significativamente la productividad del *A. tequilana*; el proceso de infección comienza desde la parte inferior de la planta (raíces), seguido de la parte superior, provocando enrollamiento y muerte en las puntas de las hojas, que terminan con la marchitez de la planta (Rodríguez Velázquez et al., 2024; Trinidad Cruz et al., 2017).

Debido a la considerable cantidad de residuos sólidos generados anualmente por la industria mezcalera, es importante buscar alternativas de uso sostenibles que sean amigables con el ambiente. La falta de estrategias sostenibles nos permite explorar alternativas en el aprovechamiento de residuos agroindustriales. Por ello se considera que los subproductos de la industria del mezcal contienen compuestos bioactivos antifúngicos capaces de inhibir el crecimiento de hongos fitopatógenos que afectan el cultivo de *Agave* sp

De tal manera objetivo general de este trabajo de investigación fue identificar y aislar compuestos bioactivos con actividad antifúngica provenientes de los residuos de la industria mezcalera, como hojas de las pencas, bagazo y vinaza utilizando técnicas avanzadas de análisis fitoquímicos y extracción, para evaluar su eficacia en el control *in vitro* de hongos fitopatógenos en maguey.

Por lo que los objetivos específicos desarrollados fueron:

Aislar e identificar a nivel molecular las especies de hongos fitopatógenos que afectan a magueyes silvestres del estado de Oaxaca; Evaluar la severidad del hongo en cultivos sanos a través de pruebas de patogenicidad; Obtención de

extractos botánicos de residuos sólidos de la industria del mezcal (bagazo y pencas) para determinar la actividad antifúngica *in vitro* de los extractos botánicos obtenidos.

En este trabajo de investigación se identificó la presencia de dos especies de *Lasiodiplodia* spp y una de *Trichothecium* sp en cultivos de *Agave* spp mediante extracción de DNA y pruebas pcr. Se realizó una identificación de compuestos volátiles en los subproductos de la industria del mezcal a través de cromatografía de gases acoplada a detector selectivo de masas (GC-MSD) y pruebas *in vitro* de los extractos obtenidos.

1.1 Literatura citada

- Bermúdez-Bazán, M., Castillo-Herrera, G. A., Urias-Silvas, J. E., Escobedo-Reyes, A., y Estarrón-Espinosa, M. (2021). Hunting bioactive molecules from the Agave genus: an update on extraction and biological potential. *Molecules*, Vol 26(22), 6789. <https://doi.org/10.3390/molecules26226789>
- Garzón, E. C., Rodríguez, M. C., Ordaz, L. A., Milquez-Sanabria, H. A., y Sotelo, D. L. (2024). Aprovechamiento de residuos generados en procesos agroindustriales en la industria del mezcal. *Chemical Engineering Transactions*, 110, 13–18. <https://doi.org/10.3303/CET24110003>
- Márquez-Rangel, I., Cruz, M., Ruiz, H. A., Rodríguez-Jasso, R. M., Loredó, A., & Belmares, R. (2023). Agave waste as a source of prebiotic polymers: Technological applications in food and their beneficial health effect. *Food Bioscience*, 56, 103102. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.103102>
- Velázquez, N. D. R., Pérez, G. o. P., Arellano, G. V., De los Santos, P. E., Figueroa, J. S. M., & Chávez-Ramírez, B. (2024). Pantoea vagans causing soft rot disease in Agave angustifolia, in Mexico. *Journal Of Phytopathology*, 172(1). <https://doi.org/10.1111/jph.13280>
- Cruz, J. R. T., Aguilar, E. E. Q., Enríquez, G. R., Pérez, L. L., & Cuevas, L. V. H. (2017). Micorrización de Agave cupreata: biocontrol de *fusarium oxysporum* y promoción del crecimiento vegetal. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 35(2). <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1607-5>

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Importancia económica y cultural del cultivo de *Agave* spp

El *Agave* sp desempeña un papel importante en las economías latinoamericanas, estas plantas pertenecen a la cultura mexicana y han sido utilizadas con múltiples fines desde la antigüedad, como fuente de alimento, medicina, bebida, material de construcción, fibras entre otros (Álvarez-Chávez, Castrejon, et al., 2025), estas especies representan una fuente de ingredientes funcionales prebióticos con gran potencial para el desarrollo de productos saludables y nutritivos además que se destaca por su alto contenido en azúcares de reserva, los fructanos, que son polímeros de fructosa con una molécula de glucosa muy ramificados que beneficia al proceso de fermentación en la elaboración de mezcal (Arellano-Plaza et al., 2022).

Estas plantas están conformadas por hojas grandes llamadas pencas (pueden ser anchas o delgadas) con espinas en las laterales y en la punta una espina apical, crecen en forma de rosetas, un tallo que se denomina corazón o "piña", algunas especies producen una inflorescencia llamada "quiote", ésta brota del centro de la planta y puede contener flores, sólo florecen una vez en su ciclo de vida por lo que se clasifican como monocárpicas y su reproducción puede ser sexual y asexual a través de semillas o tallo vegetativo en la Figura 1 se muestra la anatomía del *Agave* sp (Márquez-Rangel et al., 2023).

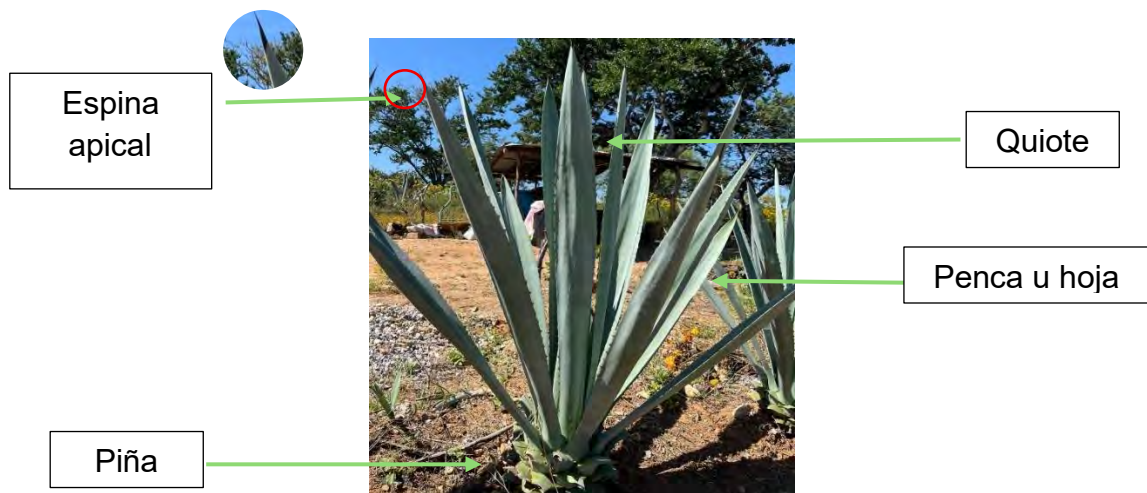


Figura 1. Anatomía del *Agave* sp

2.2 Mezcal

El mezcal es una bebida alcohólica mexicana elaborada mediante la destilación del jugo fermentado de agave. La definición legal del mezcal la proporciona la Norma Oficial Mexicana NOM-070-SCFI-2016 que define al mezcal como “La bebida alcohólica destilada mexicana obtenida por la fermentación espontánea o controlada de los jugos extraídos del corazón (tallo sin hojas) de la planta de maguey o agave cosechada en las zonas de la denominación de origen protegida (DOP), incluyendo los estados de Oaxaca, Tamaulipas, Michoacán, Guanajuato, Guerrero, Durango, Puebla, Estado de México, Morelos, San Luis Potosí, Sinaloa y Zacatecas, y seguido de un proceso de destilación.

En México existe una amplia variedad de bebidas fermentadas que encarnan muchas de las tradiciones culturales de este país. Los principales aspectos que se consideran en la elaboración de dichas bebidas son las características de las especies, variedades de agave silvestre y cultivado, la tecnología de elaboración del mezcal (incluida la extracción del jugo, la fermentación, la destilación y el envejecimiento). El *Agave angustifolia* Haw es la especie de mayor uso, su distribución abarca desde Sonora hasta Chiapas (Ávila-Reyes et al., 2025; Josué García-Mendoza, 2010). La industria del mezcal ha sido tema de interés en las últimas décadas, desde la identificación de compuestos volátiles en mezcal, identificación de compuestos antifúngicos, antimicrobianos, antioxidantes en hojas de agave hasta contenido de celulosa y hemicelulosa en bagazo.

De acuerdo con COMERCAM (2025), la producción nacional de mezcal en 2024 fue equivalente a 45 % alc. Vol.; fue de 11,362,436 litros de mezcal en la categoría artesanal, como se muestra en la Figura 2, una producción del 97.01 % de la producción total, posicionando a Oaxaca como principal productor con el 90.7 %.

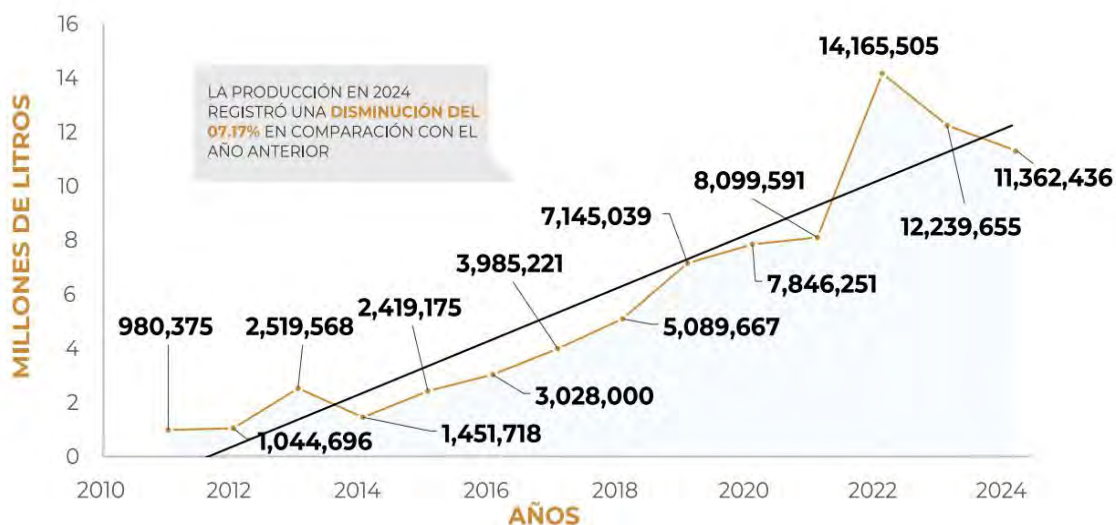


Figura 2. Producción anual de mezcal artesanal referido a 45 % alc. Vol. (COMERCAM, 2025)

2.3 Proceso del mezcal artesanal

Lira et al., (2022) Describe que el proceso consta de cinco pasos clave: la siembra y cosecha del agave; cocción de las piñas; molienda del agave cocido; fermentación; y destilación como se muestra, en la Figura 3. Durante mucho tiempo, el mezcal se percibió como una bebida consumida en las zonas de producción tradicionales. Sin embargo, durante las dos últimas décadas, su popularidad ha aumentado y actualmente, se consume a nivel nacional e internacional, dejando como resultado una creciente demanda no solo de mezcal, sino también de agave como materia prima principal utilizada en su producción, del cual el 47 % del cultivo de agave se encuentra en la región mezcalera de Oaxaca.



Figura 3. Proceso de elaboración del mezcal artesanal

La producción de mezcal puede ser de diversas especies de *Agave* spp, tanto de cultivo como silvestres, dependiendo de la región del estado, dentro de las cuales se destacan el *Agave angustifolia* Haw (espadín), *A. karwinskii* Zucc (bicuishe o cuishe), *A. potatorum* Zucc (tobalá), *A. marmorata* Roezl (tepeztate), *A. rhodacantha* Trel. (mexicano), *A. convallis* (jabalí o javalín), *A. americana* L. (coyote), *A. salmiana* var (pulquero), *A. cantala* Roxb (cincoaño) y *A. macrocantha* Zucc (mexicano o barril). Existen además otras especies que son empleadas para la obtención de ixtle (fibra de maguey), construcción y otros usos, incluso únicamente decorativos (Sánchez-López, 2005).

2.4 Residuos generados por la industria mezcalera

Márquez-Rangel et al., (2023) menciona que durante el proceso de elaboración del mezcal artesanal se generan diversos tipos de residuos, tanto sólidos como líquidos, lo cuales son: principalmente las pencas u hojas de agave que queda después de la poda de las piñas, el bagazo un residuo fibroso que se obtiene después de extraer el jugo de las piñas fermentadas y finalmente las vinazas residuos líquidos recalcitrantes tal como se muestra en la Figura 4.

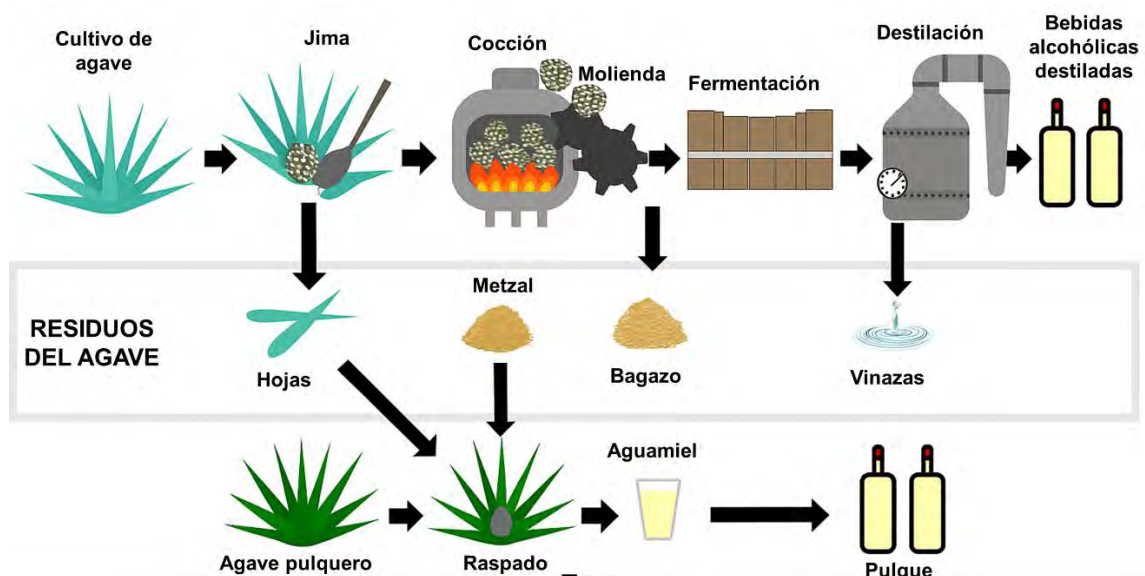


Figura 4. Tipos de residuos de agave obtenidos del proceso de destilación y fermentación del mezcal. Modificado de(Márquez-Rangel et al., 2023).

Estos subproductos representan una fuente con gran potencial de extractos de *Agave sp*, con un alto contenido de compuestos bioactivos, como terpenos, saponinas y compuestos fenólicos que poseen efectos biológicos, como demuestran las pruebas *in vitro* e *in vivo*, por ejemplo, actividad antimicrobiana, antifúngica, antioxidante, antiinflamatoria, antihipertensiva, antiparasitaria y anticancerígena (López-Romero et al., 2018).

2.4.1 Propiedades de los subproductos de agave

Los subproductos del agave contienen fitoquímicos que no son nutrientes esenciales para la vida vegetal, pero que protegen contra los depredadores y las condiciones ambientales. Entre los fitoquímicos que se encuentran en los subproductos del agave, las saponinas, los flavonoides y los terpenos en particular influyen en el potencial biológico de los extractos obtenidos, que también pueden representar una alternativa médica como tratamiento auxiliar contra algunas enfermedades (López-Romero et al., 2018)

2.4.2 Hojas de agave

Actualmente, existen pocos reportes sobre las propiedades del agave, sin embargo, se ha reportado que algunas especies contienen metabolitos de interés

como esteroides, taninos, flavonoides, cumarinas, glucósidos y saponinas, además de su conocido efecto antifúngico, antimicrobiano y anticancerígeno (González-Álvarez M et al., 2015).

Se ha evaluado la actividad antifúngica del género *Agave* contra hongos de importancia agrícola como: *Postia placenta*, *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, *Mucor* sp., *Fusarium* sp. y *Penicillium* sp. (El-Hawary et al., 2020; Soto Castro et al., 2021). El extracto de acetona de *Agave cupreata* inhibió el 76, 60 y 59 % del crecimiento micelial de *Lasiodiplodia viticola*, *Colletotrichum* sp., y *Epicoccum sorghinum*, respectivamente a 8 y 16 mg/mL ($p \leq 0.05$) (Almazán-Morales et. al., 2022).

Ramírez-Méndez et al., (2024) reportaron que el extracto de metanol de *Agave striata* alcanzó el 100 % de inhibición a dosis de 1000 mg/mL contra *Pythium aphanidermatum* y *Rhizoctonia solani*. De las hojas de *A. angustifolia* Haw se han aislado triterpenos (β -sitosterol), saponinas esteroidales (agliconas o glicosiladas), fructanos y se ha evaluado la actividad antibacteriana, antiinflamatoria y antiulcerogénica (López-Salazar et al., 2019; Camacho-Campos et al., 2020).

2.4.3 Bagazo de agave

El bagazo de agave es un subproducto de la industria del alcohol que ha sido muy poco estudiado, pero que podría tener el potencial de eliminar una variedad de contaminantes de soluciones acuosas. El bagazo está compuesto por fibra y médula. La fibra es de pared gruesa y larga (10-12 cm). Representa alrededor del 40 % del peso total del agave molido en peso húmedo (Iñiguez et al., 2014; Velazquez-Jimenez et al., 2013)

Estudios realizados por (Álvarez-Chávez, Dufoo-Hurtado, et al., 2025) registraron que el contenido de fenoles libres en bagazo de *A. angustifolia* Haw puede variar dependiendo de la temporada del año del productor, donde se destacó que en primavera se obtuvieron 9840.70 μg GAE/g siendo mayor en comparación con invierno 9738.92 μg EAG/g y verano siendo la temporada más baja con un valor

de 9073.04 µg EAG/g. Por otra parte, se ha demostrado la presencia de fenoles, flavonoides y triterpenos totales(Ibarra-Cantún et al., 2020).

2.4.4 Vinazas de agave

Las vinazas generadas por la producción de mezcal son residuos líquidos de difícil degradación, se caracterizan por su alta carga orgánica y concentración de compuestos disueltos, la cual puede ser aprovechada en la nutrición de plantas. (COMERCAM, 2025) reportó que anualmente se producen más de 10 millones de toneladas de mezcal sin contar establecimientos locales que no cuentan con registro. Se estima que para producir un litro de se genera como subproducto de la fermentación y destilación del agave entre 10 y 12 litros de vinazas.

Análisis fisicoquímicos de *Agave cocui* demostraron que cumple con los requisitos necesarios para la elaboración de fertilizante, ya que presentaron concentraciones de calcio 3.5 %, magnesio 0.67 %, sodio 0.14 %, potasio 0.38 % y hierro 1.29 % además de reportar compuestos volátiles como etanol, 1-butanol, alcohol isoamílico, ácidos volátiles y furfural (Leal et al., 2003). El alcohol isoamílico ha sido reportado como antifúngico contra 15 hongos fitopatógenos del género *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Rhizopus* spp., *Mucor* spp., *Botryotinia* sp. y *Fusarium* sp. (Ando et al., 2012).

2.5 Principales enfermedades fúngicas en agave

Diversos estudios han reportado las enfermedades de mayor importancia en el cultivo de agave, las cuales son causadas por cepas de hongos como *Alternaria* sp., *Penicillium* sp., *Asterina mexicana*, *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp. *Colletotrichum* sp., *Phoma* sp., *Botryodiplodia* sp., y *Cercospora agavicola* (mancha gris) (Bailón Ortiz & Amábilis Sánchez, 2024; Campos-Rivero et al., 2019). Asimismo, se han identificado enfermedades por el picudo del agave (*Scyphophorus acupunctatus*) y *Pectobacterium carotovora* que causa la pudrición del cogollo, asociados a las pérdidas de producción en agave (SENASICA, 2016).

2.5.1 Marchitez del agave causada por *Fusarium* sp.

(Fanai et al., 2025) menciona que diversos estudios confirman que los principales patógenos causantes de enfermedades como marchitamiento, amarilleamiento, enrollamiento de hojas, podredumbre blanda del rizoma, podredumbre seca en jengibre y agave son provocados por especies del género *Fusarium*.

Fusarium oxysporum está asociado a uno de los problemas fitosanitarios más importantes en el cultivo de *Agave* ocasionando síntomas como la marchitez, pigmentación en la punta de las hojas acompañado del enrollamiento de éstas, *Fusarium solani* es el segundo más importante provocando la pudrición seca del cogollo y marchitez, además de ser asociadas con síntomas de necrosis y pudrición de la piña hasta causar la muerte de la planta (López-Bautista et al., 2019; Reyes-Zambrano et al., 2021).

2.5.2 Antracnosis o manchas foliares causadas por *Collectotrichum* sp.

Collectotrichum es un hongo fitopatógeno que abarca numerosos hospedantes de importancia agrícola como papaya, chile mango, aguacate y agave, entre otros (Rojo-Báez et al., 2017). *Collectotrichum* sp. se destaca particularmente por síntomas de antracnosis o manchas foliares en cultivos de *A. angustifolia* Haw. La antracnosis es uno de los síntomas causantes de pérdidas importantes en pre- y postcosecha ya que ocasionan una reducción en la calidad y cantidad de diversos cultivos, estas pérdidas pueden llegar hasta el 100 % dependiendo del patógeno y las condiciones climáticas ya que *Collectotrichum* abarca más de 100 especies causante de estas enfermedades.

2.5.3 *Scyphophorus acupunctatus* (picudo)

S. acupunctatus es considerado como una de las plagas más importantes dentro del género *Agave* y es conocido comúnmente como el picudo de agave o gorgojo, un insecto causante de pérdidas significativas en el cultivo de agave, los síntomas que produce son: inicialmente la planta presenta una secreción gomosa acompañada de exudación marrón oscuro, viscoso y pegajoso con pequeñas perforaciones en las hojas y un olor muy característico. El proceso de infección proveniente de la hembra, la cual perfora la piña de agave para colocar sus

huevecillos en el tejido húmedo. Una vez producida la larva, esta se alimenta de la piña y el cogollo dejando excremento y microbiota lo cual produce la pudrición y muerte de la planta (Hugo Pérez-España et al., 2020).

2.6 Alternativas sostenibles a partir de subproductos de *Agave* sp

Actualmente, el sector agrícola se ha visto afectado en gran parte por agentes patógenos causantes de pérdidas económicas significativas, lo que ha conllevado el uso excesivo de productos químicos que han ocasionado problemas irreversibles como la resistencia a los agroquímicos en estos microorganismos y la contaminación del ambiente. Por ello se buscan alternativas de uso como el control biológico y el uso de extractos vegetales.

Los subproductos del *Agave* sp contienen fitoquímicos que no son nutrientes esenciales para la vida vegetal, pero sí proporcionan protección contra depredadores y condiciones ambientales. Entre los principales fitoquímicos que se encuentran en los subproductos del *Agave* sp, las saponinas, los flavonoides y los terpenos, en particular, influyen en el potencial biológico de los extractos obtenidos. Los extractos obtenidos también pueden representar una alternativa médica como tratamiento auxiliar contra algunas enfermedades (López-Romero et al., 2018). Los extractos de hojas de *Agave americana* mostraron actividad antifúngica contra *Alternaria brassicae*, un agente causal del tizón de *Brassica juncea* (Maharshi & Thaker, 2014). Los extractos de etanol de hojas de *Lippia graveolens* y *Agave lechuguilla* inhibieron el crecimiento micelial de *Botrytis cinerea* (Khadiri et al., 2024).

2.6.1 Plaguicidas botánicos (extractos vegetales)

Los extractos botánicos se obtienen a partir de tejido vegetal en fresco o seco mediante el uso de disolventes orgánicos con la finalidad de extraer compuestos bioactivos como fenoles, flavonoides, alcaloides, terpenos, entre otros que poseen propiedades antimicrobianas, antifúngicas, antioxidantes o terapéuticas que pueden llegar a utilizarse como plaguicidas biológicos o como ingredientes funcionales en la industria farmacéutica, alimentaria y agrícola. Los pesticidas botánicos son los más adecuados para su uso en la producción de alimentos

orgánicos. Además, pueden desempeñar un papel más importante en la producción y la protección postcosecha de los productos alimenticios (Gurjar et al., 2012).

2.6.2 Productos botánicos comerciales para el cultivo de *Agave* sp

PROGRANIC® Mega Extracto de gobernadora (*Larrea tridentata*), es una formulación—que contiene resinas y ácidos orgánicos con acción fungicida, insecticida y repelente. Su modo de acción consiste en inhibir la germinación de esporas y el crecimiento micelial de hongos fitopatógenos, útil para el control de marchitez, secadera o marchitamiento (*Rhizoctonia solani*, *F. oxysporum* y *Pythium* sp.). Dosificación: 8.0 - 10.0 L/ha aplicación en húmedo y 2.0 - 3.0 L/ha aplicación foliar, 5 aplicaciones en intervalos de 14 días.

2.7 Control de las enfermedades en *Agave* sp

2.7.1 Control cultural

Carmen Corona-Rodríguez et al., (2025) destaca que las prácticas agrícolas son una opción para el manejo integrado en la conservación de sanidad de cultivos de agave el cual consiste en “la sanidad del suelo mediante la destrucción de residuos vegetales enfermos, desinfección de herramientas, poda sanitaria, así como fertilización adecuada y jimas de recuperación fitosanitaria y evitar establecer plantaciones en la época con mayor humedad en el suelo y ambiente”. Actualmente, se recomienda el uso de policultivos debido a la diversidad productiva, además del uso de tecnologías ecológicas para una mejora en la eficiencia del uso de agua, energía, luz y nutrientes.

2.7.2 Control químico

El control químico en el cultivo de *Agave* sp abarca desde bactericidas, insecticidas, fungicidas y herbicidas que son de gran importancia debido a que las malezas son uno de los principales problemas fitosanitarios dentro del sector agrícola. Para el caso de marchitez causado por el género *Fusarium* (del Carmen Corona-Rodríguez et al., 2025) menciona que se ha reportado el uso de sulfato de cobre pentahidratado y metanosulfonato de etilo con una efectividad del 95 %

y 71 %, respectivamente; aunque el uso excesivo de cobre tiene efectos de residualidad. De igual manera, se utiliza el Fluxatyroxad y piraclostrobina que tiene acción preventiva y curativa al inhibir la germinación de las esporas y el crecimiento del micelio en el desarrollo de los hongos fitopatógenos con una efectividad del 80%. Otros fungicidas utilizados son: Azoxystrobin, Prochloraz y Difenconazole, fungicidas considerados ligeramente tóxicos.

2.7.3 Control biológico

Actualmente, ha surgido la importancia del control biológico como alternativa ante la contaminación al medio ambiente, la Asociación Internacional de Fabricantes de Productos de Control Biológico (IBMA) lo define como “el uso de agentes o productos que afectan de forma natural a las plagas y patógenos de los cultivos, limitando su propagación” estos incluyen a los macroorganismos y microorganismos (Lecomte et al., 2016). Se ha demostrado que el uso de *Trichoderma* y *Bacillus* ha controlado enfermedades en *Agave* y otros cultivos. (del Carmen Corona-Rodríguez et al., 2025) resalta que *Trichoderma viride* tiene una efectividad del 99% contra *F. oxysporum*. El Consejo Regulador del Tequila destaca que el *Trichoderma* y *Bacillus* son utilizados en *A. tequilana* como tratamientos de prevención para evitar enfermedades por *Fusarium* spp.

Trinidad Cruz et al., (2017) menciona que el uso de micorriza INIFAP® es una alternativa como control biológico para el cultivo de *Agave* sp que mostró la disminución de la severidad de la marchitez de agave en un promedio del 33% contra *F. oxysporum* en *A. cupretada*, además de ser un producto potencial como biofertilizante. Asimismo, se utiliza bioinoculante hecho a partir de una mezcla probiótica que estimula el crecimiento vegetal del *Agave tequilana* (AgaveProtect®). Además de fortalecer el sistema inmune de la planta y disminuir el estrés en ella, funciona como estimulador de crecimiento, inhibidor del estrés y protector contra microorganismos patógenos para *A. tequilana*, su uso puede disminuir hasta un 100 % la aplicación de fungicidas y bactericidas, además de disminuir hasta un 50 % el uso de fertilizantes químicos. Su composición biológica es *Bacillus* spp. 1×10^{11} UFC/ml, *Enterobacter* spp. 1×10^{14} UFC/ml, *Bacillus* spp.

1x10¹⁴ UFC/ml. Se recomienda realizar 3 aplicaciones por hectárea para una colonización óptima de la planta con una frecuencia de 7-10 días cada una, lo cual logrará en la planta una sana nutrición y defensa del cultivo. Dosificación de 1 L/ha.

2.8 Literatura citada

- Álvarez-Chávez, J., Castrejon, A., Gaytán-Martínez, M., & Ramírez-Jiménez, A. K. (2024). Effect of Ohmic heating, ultrasound and extrusion on the bioactive composition and nutritional value of Agave bagasse from Mezcal production. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 100, 103897. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2024.103897>
- Ando, H., Hatanaka, K., Ohata, I., Yamashita-Kitaguchi, Y., Kurata, A., & Kishimoto, N. (2012). Antifungal activities of volatile substances generated by yeast isolated from Iranian commercial cheese. *Food Control*, 26(2), 472-478. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.02.017>
- Arellano-Plaza, M., Paez-Lerma, J. B., Soto-Cruz, N. O., Kirchmayr, M. R., & Mathis, A. G. (2022). Mezcal Production in Mexico: Between Tradition and Commercial Exploitation. *Frontiers In Sustainable Food Systems*, 6. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2022.832532>
- Ávila-Reyes, S. V., Jiménez-Aparicio, A. R., Melgar-Lalanne, G., Fajardo-Espinoza, F. S., & Hernández-Sánchez, H. (2025). Mezcal: A Review of Chemistry, Processing, and Potential Health Benefits. *Foods*, 14(8), 1408. <https://doi.org/10.3390/foods14081408>
- Bailón-Ortiz Á. Z., & Sánchez, M. J. A. (2024). Identificación de agentes causales asociados a la pudrición seca de Agave potatorum Zucc en vivero. *Revista Mexicana de Agroecosistemas*, 11(1). <https://doi.org/10.60158/rma.v11i1.4>
- Campos-Rivero, G., Sánchez-Teyer, L. F., De la Cruz-Arguijo, E. A., Ramírez-González, M. S., Larralde-Corona, C. P., & Narváez-Zapata, J. A. (2019). Bioprospecting for fungi with potential pathogenic activity on leaves of Agave tequilana Weber var. Azul. *Journal Of Phytopathology*, 167(5), 283-294. <https://doi.org/10.1111/jph.12797>
- Del Carmen Corona-Rodriguez, M., Garcia-Nuñez, H. G., Arzate-Fernandez, A. M., Norman-Mondragon, T. H., & Lamus-Molina, V. (2025). Impacto y perspectivas de control del complejo Fusarium, asociado a la marchitez en agave y otros cultivos. *Tropical And Subtropical Agroecosystems*, 28(1). <https://doi.org/10.56369/tsaes.5564>
- Fanai, A., Bohia, B., Lalremruati, F., Lalhriatpuui, N., Lalrokimi, N., Lalmuanpuui, R., Singh, P. K., & Zothanpuia, N. (2025). Fusarium spp. induce diseases in ginger: nature of pathogen, pathogenesis and management. *Microbial Pathogenesis*, 205, 107597 <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2025.107597>

- Gurjar, M. S., Ali, S., Akhtar, M., & Singh, K. S. (2012). Efficacy of plant extracts in plant disease management. *Agricultural Sciences*, 03(03), 425-433. <https://doi.org/10.4236/as.2012.33050>
- Cuervo-Parra, J. A., Pérez-España, V. H., Roldán Cruz, E. I., Morales Ovando, M. A., Hernández-Romero, Á. R., & Romero-Cortes, T. (2020). El picudo del agave (*Scyphophorus acupunctatus*): vector de plagas y enfermedades. En *Investigación en la Educación Superior* (pp. 459-464). *Academia Journals*.
- Ibarra-Cantún, D., Ramos-Cassellis, M. E., Marín-Castro, M. A., & Del Carmen Castelán-Vega, R. (2020). Secondary Metabolites and Antioxidant Activity of the Solid-State Fermentation in Apple (*Pirus malus* L.) and Agave Mezcalero (*Agave angustifolia* H.) Bagasse. *Journal Of Fungi*, 6(3), 137. <https://doi.org/10.3390/jof6030137>
- Iñiguez, C. G., Bernal, C. J. J., Ramírez, M. W., & Villalvazo, N. J. (2014). Recycling Agave Bagasse of the Tequila Industry. *Advances In Chemical Engineering And Science*, 04(02), 135-142. <https://doi.org/10.4236/aces.2014.42016>
- García-Mendoza, A. J. (2010). Revisión taxonómica del complejo *Agave potatorum* Zucc. (Agavaceae): nuevos taxa y neotipificación. *Acta Botanica Mexicana*, 91, 71-93. <https://doi.org/10.21829/abm91.2010.292>
- Khadiri, M., Boubaker, H., Askarne, L., Farhaoui, A., Taoussi, M., Haddou, L. A., Cherrate, M., Ouchari, W., Zerrouk, M. H., Sobeh, M., & Lahlali, R. (2024). Exploration of the antifungal potential of aqueous extracts from two agave species against major postharvest diseases in apples. *Postharvest Biology And Technology*, 214, 112992. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2024.112992>
- LealG., I., Chirinos, E., Leal, M., Morán, H., & Barrera, W. (2003). Caracterización fisicoquímica de la vinazadel *Agave cocui* y su posible uso agroindustrial. *Multiciencias*, 3(2),.
- Lecomte, C., Alabouvette, C., Edel-Hermann, V., Robert, F., & Steinberg, C. (2016). Biological control of ornamental plant diseases caused by *Fusarium oxysporum*: A review. *Biological Control*, 101, 17-30. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.06.004>
- Lira, M. G., Davidson-Hunt, I. J., & Robson, J. P. (2022). Artisanal Products and Land-Use Land-Cover Change in Indigenous Communities: The Case of Mezcal Production in Oaxaca, Mexico. *Land*, 11(3), 387. <https://doi.org/10.3390/land11030387>
- López-Bautista, V., Mora-Aguilera, G., Gutiérrez-Espinosa, M. A., Mendoza-Ramos, C., Martínez-Bustamante, V. I., Coria-Contreras, J. J., Acevedo-Sánchez, G., & Santana-Peñaloza, B. (2019). Morphological and molecular characterization of *Fusarium* spp. associated to the regional occurrence of wilt and dry bud rot in *Agave tequilana*. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 38(1). <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1911-4>

- López-Romero, J. C., Ayala-Zavala, J. F., González-Aguilar, G. A., Peña-Ramos, E. A., & González-Ríos, H. (2017). Biological activities of Agave by-products and their possible applications in food and pharmaceuticals. *Journal Of The Science Of Food And Agriculture*, 98(7), 2461-2474. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8738>
- Maharshi, A. R., & Thaker, V. S. (2014). Antifungal Activity of Agave Species from Gujarat, India. En *Microbial Diversity and Biotechnology in Food Security* (pp. 423-430). https://doi.org/10.1007/978-81-322-1801-2_37
- Márquez-Rangel, I., Cruz, M., Ruiz, H. A., Rodríguez-Jasso, R. M., Loredó, A., & Belmares, R. (2023b). Agave waste as a source of prebiotic polymers: Technological applications in food and their beneficial health effect. *Food Bioscience*, 56, 103102. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.103102>
- Reyes-Zambrano, S.J., Lecona-Guzmán, C.A., Gutiérrez-Miceli, F.A., Ruiz-Valdiviezo, V.M., Vargas-Díaz, A.A. (2021). Selection and Analysis of Polymorphisms in Somaclonal Variants of *Agave americana* Resistant to *Fusarium oxysporum* via an Ethyl Methanesulphonate Treatment. *Phyton-International Journal of Experimental Botany*, 90(6), 1727–1739. <https://doi.org/10.32604/phyton.2021.016171>
- Rojo-Báez, Indira, Álvarez-Rodríguez, Brando, García-Estrada, Raymundo S., León-Félix, Josefina, Sañudo-Barajas, Adriana, & Allende-Molar, Raúl. (2017). Situación actual de Colletotrichums spp. en México: Taxonomía, caracterización, patogénesis y control. *Revista mexicana de fitopatología*, 35(3), 549-570. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1703-9>
- Cruz, J. R. T., Aguilar, E. E. Q., Enríquez, G. R., Pérez, L. L., & Cuevas, L. V. H. (2017). Micorrización de Agave cupreata: biocontrol de *fusarium oxysporum* y promoción del crecimiento vegetal. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 35(2). <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1607-5>
- Velazquez-Jimenez, L. H., Pavlick, A., & Rangel-Mendez, J. R. (2012). Chemical characterization of raw and treated agave bagasse and its potential as adsorbent of metal cations from water. *Industrial Crops And Products*, 43, 200-206. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.06.049>

3. EVALUACIÓN FITOQUÍMICA DE SUBPRODUCTOS DE LA INDUSTRIA MEZCALERA PARA EL CONTROL DE HONGOS FITOPATÓGENOS EN MAGUEY

Resumen

El *Agave* sp es considerado como parte de la cultura mexicana, posee gran relevancia económica y es utilizada principalmente para la elaboración de bebidas destiladas como el mezcal y tequila. Debido a la alta demanda de estas bebidas se generan importantes cantidades de residuos agroindustriales durante su producción. Actualmente los residuos son comúnmente desechados en ríos, arroyos o incluso quemados. Por otro lado, el *Agave* sp es atacado constantemente por patógenos de importancia agrícola que perjudican el rendimiento del cultivo provocando pérdidas económicas significativas. El objetivo de este trabajo de investigación fue identificar los hongos fitopatógenos que dañan el cultivo de *Agave* sp a partir del aislamiento, purificación, extracción de DNA y pruebas de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) del hongo. Se evaluó el perfil fitoquímico por espectrofotometría y cromatografía de gases acoplada a detector selectivo de masas (GC-MSD). de los subproductos de la industria del mezcal como las vinazas de agave y la obtención de extractos botánicos de las pencas de *Agave angustifolia* Haw. Se identificó la presencia de *Lasiodiplodia parva*, *L. laelocattleyae* y *Trichothecium roseum* en el cultivo de *Agave* sp ocasionando síntomas de pudrición y clorosis amarilla. Las vinazas y el extracto metanólico de agave mostraron efectos inhibitorios contra *T. roseum* entre 54 y 100 %. Los subproductos de la industria del mezcal demostraron ser una alternativa viable para el control de hongos fitopatógenos.

Palabras clave: *Agave*, compuestos antifúngicos, metabolitos secundarios.

Phytochemical evaluation of by-products from the mezcal industry for the control of phytopathogenic fungi in maguey

Abstract

Agave sp is considered part of Mexican culture, has great economic importance, and is mainly used for the production of distilled beverages such as mezcal and tequila. Due to the high demand for these beverages, significant amounts of agro-industrial waste are generated during their production. Currently, this waste is commonly disposed of in rivers, streams, or even burned. On the other hand, *Agave* sp is constantly attacked by pathogens of agricultural importance that damage crop yields, causing significant economic losses. The objective of this research was to identify the phytopathogenic fungi that damage *Agave* sp crops through isolation, purification, DNA extraction, and polymerase chain reaction (PCR) testing of the fungus. The phytochemical profile was evaluated by spectrophotometry and gas chromatography coupled with a selective mass detector (GC-MSD) of mezcal industry by-products such as agave vinasses and the extraction of botanical extracts from *Agave angustifolia* Haw. leaves. The presence of *Lasiodiplodia parva*, *L. laelocattleyae*, and *Trichothecium roseum* was identified in *Agave* sp. cultures, causing symptoms of rot and yellow chlorosis. The vinasses and the methanolic extract of agave showed inhibitory effects against *T. roseum* between 54 and 100 %. The by-products of the mezcal industry proved to be a viable alternative for the control of phytopathogenic fungi.

Keywords: *Agave*, antifungal compounds, secondary metabolites.

3.1 Introducción

“El *Agave* sp se destaca principalmente por su importancia socioeconómica, agroecológica y cultural. Es la materia prima más importante en la elaboración de dos bebidas alcohólicas relevantes: el tequila y el mezcal” (Rodríguez Velázquez et al., 2024). La industria de las bebidas alcohólicas demanda cada año un elevado volumen de plantas de agave; sin embargo, más del 50 % de la planta (hojas) no se utiliza en el proceso de producción, generando casi el mismo volumen de desechos que se utiliza para la producción. Las hojas de agave se consideran un subproducto de la producción de bebidas alcohólicas, porque se desechan durante el proceso de producción. Producir un litro de mezcal requiere alrededor de 20 litros de agua y aproximadamente 12.7 kg de agave, de los cuales unos 5 kg se convierten en bagazo tras extraer el jugo, utilizado en el proceso de fermentación (Garzón et al., 2024). Estos subproductos constituyen una fuente potencial de extractos de agave ricos en compuestos bioactivos, como saponinas, compuestos fenólicos y terpenos, y poseen diferentes efectos biológicos, como se ha demostrado mediante pruebas *in vitro* (López-Romero et al., 2018). Por otro lado, el cultivo de *Agave* es susceptible a amenazas fitopatológicas, principalmente hongos y bacterias, teniendo ambos un impacto negativo en la producción anual de dichas bebidas (Rodríguez Velázquez et al., 2024). El aumento del cultivo podría incrementar la presencia de enfermedades, tal como se ha observado en plantaciones de *Agave tequilana*. *Fusarium oxysporum* es un agente altamente severo y uno de los problemas fitosanitarios que afecta significativamente la productividad del *A. tequilana*; el proceso de infección comienza desde la parte inferior de la planta (raíces), seguido de la parte superior, provocando enrollamiento y muerte en las puntas de las hojas, que terminan con la marchitez de la planta (Rodríguez Velázquez et al., 2024; Trinidad Cruz et al., 2017).

Debido a la considerable cantidad de residuos sólidos generados anualmente por la industria mezcalera, es importante buscar alternativas de uso sostenibles que sean amigables con el ambiente a partir del aprovechamiento de subproductos con potencial biológico que puedan ayudar al salvamento de agaves silvestres.

Por ello, en este trabajo de investigación se realizó la identificación morfológica y molecular de las especies de hongos fitopatógenos que afectan el rendimiento del cultivo de *Agave* y se realizó la evaluación *in vitro* de la actividad antifúngica de subproductos de dos especies silvestres de *Agave* spp (hoja y bagazo) y de vinazas provenientes del estado de Oaxaca y, finalmente, se caracterizó su perfil fitoquímico.

3.2 Materiales y métodos

3.2.1 Recolección de muestras

En febrero de 2024, se realizó la visita a una parcela de agave mezcalero en el Sitio de Xitlapehua, Miahuatlán, Oaxaca 16°21'09.1"N, 96°32'42.2"W, se observaron síntomas de necrosis, antracnosis, manchas foliares negras, clorosis amarilla, enrollamiento en la punta de las hojas con pigmentación rojo violeta y pudrición en el cogollo del cultivo de agave, con una incidencia que abarcaba aproximadamente un 70 % de la parcela. Se recolectaron de forma aleatoria nueve muestras sintomáticas de pencas de dos especies, *Agave angustifolia* Haw con antigüedad de 7 años y *Agave karwinskii* Zucc con antigüedad de 12 años. Posteriormente, las muestras fueron almacenadas en bolsas de papel a temperatura ambiente para ser trasladadas a Laboratorio Nacional de Investigación de Servicio Agroalimentario y Forestal (LANISAF) para su análisis.

3.2.2 Definición de objetivo y alcance

La presente investigación tiene como objetivo reducir el impacto ambiental generado por los residuos de la industria mezcalera, identificando y aprovechando sus compuestos bioactivos con actividad antifúngica.

3.2.3 Aislamiento y purificación de hongos

Se retiró el excedente de residuos de suelo e impurezas de las hojas de agave, utilizando papel absorbente. Posteriormente, se cortaron fragmentos de tejido vegetal, incluyendo tejido sano y enfermo con dimensiones de aproximadamente 1 cm para someterlos a un proceso de desinfestación, sumergiéndolos en una solución al 3 % (v/v) de hipoclorito de sodio (NaClO) durante 1 min seguido de

dos enjuagues con agua destilada estéril (ADE). Los fragmentos se colocaron sobre papel secante estéril para eliminar el exceso de humedad. Posteriormente, se depositaron de 6 a 8 fragmentos de tejido en cajas Petri que contenían medio de cultivo Papa-Dextrosa-Agar (PDA) BD Bioxon™ (García-Reyes et al., 2022). Las cajas fueron selladas con papel plástico, etiquetadas e incubadas a temperatura ambiente de 24-48 h. Los hongos aislados fueron purificados utilizando técnicas de punta de hifa, posteriormente se tomó una colonia uniforme y se realizaron cultivos monospóricos tomando en cuenta sus características de crecimiento y producción de esporas para la identificación morfológica y molecular de cada hongo.

3.2.4 Caracterización morfológica

Los hongos aislados fueron sembrados en PDA, para caracterizar la morfología colonial y su diámetro de crecimiento. Se incubaron a temperatura ambiente durante cuatro semanas (Phillips et al., 2013), para inducir a la formación de conidios. Al término del periodo antes mencionado, se hicieron preparaciones semipermanentes con glicerol y azul de lactofenol, las cuales se observaron en una cámara de microscopio (Nikon SMZ800®, EUA) con especifica, usando el objetivo de 40x. Las imágenes fueron capturadas electrónicamente con un sistema de cámara digital Motic Images Plus 2.0. Los conidios de los diferentes aislados se midieron con el software Motic images Plus (3.0) (Heath et al., 2011). Se realizó una caracterización cuantitativa y cualitativa de 50 conidios en los aislados obtenidos.

3.2.5 Pruebas de patogenicidad

Las pruebas de patogenicidad se llevaron a cabo de acuerdo con la metodología implementada por (Barrientos-Martínez et al., 2022) con algunas modificaciones. Se utilizaron 10 pencas de *A. angustifolia* Haw y *A. karwinskii* Zucc jóvenes de 3-4 años en condiciones sanas, obtenidas de la destilería Serpiente de Fuego ubicada en Xitlapehua, Miahuatlán, Oaxaca. Las pencas se limpiaron con papel absorbente y una disolución de hipoclorito de sodio (NaCl) al 3 % (v/v), después de 1 min se enjuagaron dos veces con ADE, y se dejaron secar por 3 min.

Posteriormente, se realizaron tres incisiones de aproximadamente 3 mm de diámetro con una varilla de inoculación estéril y se procedió a inocular un aislado diferente colocando un disco con micelio en cada hoja de la especie correspondiente. Se incluyó un testigo como control negativo el cual fue inoculado con discos que solo contenían medio de cultivo PDA. Las pencas después de ser inoculadas fueron introducidas en una caja con dimensiones de 35×18 cm creando una cámara húmeda con papel absorbente y ADE. Posteriormente las muestras fueron almacenadas a temperatura ambiente en el área de Biología molecular de LANISAF. Se realizó un monitoreo diario durante 3 semanas para evaluar la presencia de sintomatología y la enfermedad causada por el hongo en la planta.

3.2.6 Reaislamiento

Tras las pruebas de patogenicidad se seleccionaron los hongos que presentaron daños de pudrición en el tejido vegetal de las pencas de agave, se realizó el reaislamiento y se purificaron las colonias. Se cortaron fragmentos de 0.5 cm de tejido dañado y sano, se desinfestaron en hipoclorito de sodio al 3 % (v/v) durante 1 min; se enjuagaron dos veces con ADE se secaron en papel estéril y se sembraron en cajas Petri que contenían medio de cultivo PDA, los hongos fueron incubados a temperatura ambiente por 48 h. Posteriormente, se seleccionaron las colonias más uniformes de los hongos y se realizaron cultivos monospóricos para ser transferidos a una nueva caja con PDA (Barrientos-Martínez et al., 2022).

3.2.7 Extracción de DNA para identificación molecular de los hongos

Se utilizó el método de Dellaporta et al. (1983) con algunas modificaciones para la extracción del ADN. Se extrajo una fracción de micelio de cada aislado, que fue puesta en un mortero estéril y se le añadió nitrógeno líquido. El material se maceró y luego se colocó en un tubo de microcentrífuga de 1.5 mL que tenía una solución amortiguadora Dellaporta de 500 µL. La mezcla se homogeneizó en vórtex durante 10 segundos y se incubó a una temperatura de 65 °C por un lapso de una hora. Posteriormente se le agregó 700 µL de cloroformo-alcohol isoamílico (24:1 v/v) se agitó en vórtex por 10 s y se centrifugó en (Centrifuga 5810 R

Eppendorf) a 13 000 g durante 10 min. El sobrenadante se transfirió a un tubo nuevo de microcentrífuga de 1.5 mL con una micropipeta, y se agregaron 700 µL de isopropanol. Los tubos se mezclaron por inversión de cuatro a cinco veces y se almacenaron a -20 °C durante 10 min, luego se centrifugó a 13 000 g durante 10 min, para sedimentar el DNA y desechar el sobrenadante. Después, se incorporaron 700 µL de una solución de cloroformo-alcohol isoamílico (24:1, v/v); se mezcló otra vez en el vórtex durante 10 segundos y se centrifugó a 13 000 g por un periodo de 10 minutos en la centrífuga Eppendorf 5810 R. Se transfirió el sobrenadante obtenido a un nuevo tubo de microcentrífuga de 1.5 mL y se le añadieron 700 µL de isopropanol. Las muestras se combinaron por inversión de cuatro a cinco veces y fueron preservadas durante 10 minutos a -20 °C. Después, se centrifugaron a 13 000 g durante 10 minutos para posibilitar la precipitación del ADN, y luego se desechó el sobrenadante. Cada pellet fue sometido a una centrifugación a 13 000 g durante 5 minutos, después de ser lavado con etanol al 70 % (500 µL). Se desechó otra vez el sobrenadante y se pusieron los tubos al revés sobre papel absorbente para eliminar el etanol que quedaba. Después de que el pellet se secó por completo, se volvió a suspender en 100 µL de agua estéril sin RNasa ni DNasa. La pureza y concentración del ADN se calcularon utilizando un espectrofotómetro Nanodrop Lite (Thermo Scientific®, EUA). Finalmente, las muestras de ADN se guardaron a -20 °C hasta que fueran utilizadas.

Reacción en cadena de la polimerasa

Se empleó la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la amplificación del ADN fúngico. Para las regiones correspondientes al rDNA se utilizaron los cebadores ITS5 (GGAAGT AAAAGT CGT AAC AAG G), ITS4 (TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC), EF1-728F (CAT CGA GAA GTT CGA GAA GG) y EF1-986R (ACT TGA AGG AAC CCT TAC C). Las reacciones se prepararon en un volumen final de 50 µL, conteniendo buffer PCR 1X, 2.5 mM de MgCl₂, 0.2 mM de cada dNTP, 0.8 µM de cada cebador, 0.04 U de ADN polimerasa (Promega, EUA) y 4 ng de ADN genómico.

La amplificación se realizó en un termociclador C-1000 (Bio-Rad, EUA) siguiendo las condiciones: desnaturalización inicial a 95 °C durante 3 min; 35 ciclos de 95 °C por 30 s, alineamiento a 55 °C por 30 s y extensión a 72 °C durante 1 min; finalizando con una extensión de 72 °C durante 10 min. La verificación de las ampliaciones se llevó a cabo mediante electroforesis en gel de agarosa al 1 % en tampón TAE 1X. Para cada corrida se cargaron 7 µL del producto de PCR y 3 µL del colorante de carga, aplicando un voltaje de 90 V. La visualización del gel se efectuó bajo luz ultravioleta en un transiluminador M-26X, empleando el sistema de documentación GelDoc-It™ 300 (UVP, EUA).

Los fragmentos amplificados se enviaron a secuenciación a la empresa MacroGen® (Geumcheon-gu, Seúl, Corea). Las secuencias generadas fueron comparadas con la base de datos del NCBI mediante el programa BLASTn; BLASTn (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

3.2.8 Subproductos utilizados

Se obtuvieron subproductos sólidos y líquidos donados por el palenque “Serpiente de Fuego” (Xitlapehuac, Oaxaca, México), la cuales fueron pencas, bagazo y vinazas de *A. angustifolia* Haw, las cuales se trasladaron a LANISAF para ser procesadas.

3.2.9 Procesamiento de residuos

Las pencas y bagazo de *Agave angustifolia* Haw se limpiaron con papel absorbente para retirar exceso de suelo e impurezas, se cortaron en pequeñas partes. Se retiró el exceso de humedad de las pencas en un horno de secado Drying Oven Modelo DHG-9076A a una temperatura de 40 °C (Quiroz-Guzmán et al., 2023) durante 24 h. Las pencas secas y el bagazo fueron triturados hasta obtener un polvo fino en un molinillo eléctrico BI-DTOOL.

Las vinazas fueron filtradas dos veces con papel filtro Whatman^{MT} 40 para obtener una muestra totalmente homogénea.

3.2.10 Determinación del porcentaje de etanol en vinazas

El porcentaje de etanol se determinó con ayuda de un refractómetro ATAGO®. Se calibró el equipo con dos gotas de agua destilada, posteriormente se añadió una gota de la muestra y se tomó la lectura.

3.2.11 Obtención de extractos

Los extractos acuosos se realizaron a partir de la mezcla de 50 g de muestra con 400 mL de agua destilada a 80 °C, posterior a ello, se dejó reposar durante 2 h, una vez transcurrido el tiempo, las muestras fueron filtradas y etiquetadas en tubos de fondo cónico de 50 mL para su liofilización. Se obtuvieron seis extractos por maceración directa utilizando tres disolventes orgánicos; metanol, hexano y diclorometano. Por lo anterior, se agregaron 50 g de muestra vegetal con 400 mL de disolvente en un matraz Erlenmeyer, para el caso de las pencas de *A. angustifolia* Haw se dejó macerar durante 48 h y el bagazo 7 d, posteriormente se filtró y la fase orgánica se evaporó en un rota-evaporador (Buchi Rotavapor® R-215) de aplicación concentración y destilador de solventes, rango de volumen de muestra de 50 mL-3L con elevador eléctrico, control de ascenso/descenso y velocidad de rotación de 20-280 rpm, condensador vertical y controlador de vacío V-855) una vez obtenido los extractos, se almacenaron a temperatura ambiente en frascos de vidrio (Quiroz-Guzmán et al., 2023). El porcentaje de rendimiento de los extractos se calculó con la siguiente formula:

$$\text{Rendimiento (\%)} = \frac{\text{Extracto obtenido (g)} \times 100}{\text{Material vegetal macerado (g)}}$$

3.2.12 Pruebas de inhibición de los extractos obtenidos de los subproductos y de vinaza de la industria del mezcal contra hongos fitopatógenos

Para evaluar el efecto inhibitorio de los extractos obtenidos a partir de los subproductos del agave y la vinaza, se utilizó la técnica de dilución de agar descrita por (González-Álvarez et al., 2015) con algunas modificaciones. Se preparó una mezcla homogénea con 40 mL de PDA, 40 mL de ADE y 80 mg de

cada uno de los extractos 1) hexano, 2) diclorometano, 3) metanol, 4) acuoso de *A. angustifolia* Haw, y 5) diclorometano, 6) hexano, 7) metanol y 8) acuoso de bagazo, 9) vinazas de agave, 10) fungicida CAPTAN 50 WP (control positivo), (11) fungicida orgánico extracto de Gobernadora PROGRANIC® MEGA, 12) control PDA y 12) control PDA/disolvente. Cada tratamiento se evaluó a 1000 ppm. Una vez solidificado el agar se tomó con un asa bacteriológica un disco de 5 mm de diámetro que contenía PDA y micelio del hongo para ser colocado en el centro de las cajas con tratamientos por cuadruplicado y se incubaron a temperatura ambiente de 3 a 11 d.

Se realizaron controles negativos con PDA y los disolventes hexano, diclorometano, metanol y etanol ajustado al porcentaje de etanol de las vinazas para descartar el efecto inhibitorio de los mismos.

El efecto inhibitorio de los extractos y la vinaza se definió como el porcentaje de inhibición en el crecimiento del micelio, con respecto al testigo en PDA.

$$\text{Inhibición (\%)} = \frac{Ct - T}{Ct} \times 100$$

Donde:

Ct = Es el promedio del crecimiento micelial del testigo

T= Es el promedio del diámetro de la colonia inhibida por los tratamientos.

3.2.13 Determinación de flavonoides totales

Se llevó a cabo la cuantificación de los flavonoides totales en el extracto metanólico de *Agave angustifolia* Haw y en las vinazas recolectadas, utilizando el método que Gomes et al. (2017) describió, aunque con cambios ajustados a este estudio. 250 µL del extracto en metanol o de las vinazas se pasaron a tubos de ensayo separados para cada determinación. Luego, se incorporaron 50 µL de una solución de nitrato de sodio al 5% (m/v) y 1 mL de agua destilada a la mezcla y se dejó reposar por seis minutos. Después de este lapso, se añadieron 50 µL de cloruro de aluminio al 10 % (m/v) y la reacción continuó durante cinco minutos más. Después, se incorporaron 500 µL de NaOH al 10 % (m/v) y se corrigió el volumen total a 2.5 mL y con 650 µL de metanol. Las mezclas fueron incubadas

durante una media hora y cada análisis fue realizado por triplicado. Se utilizó un espectrofotómetro Genesys 10S UV–VIS (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA) para registrar la absorbancia a una longitud de onda de 425 nm. Para la cuantificación, se utilizó una curva estándar de quercetina con un rango de 0 a 50 µg/mL, utilizando la ecuación de calibración $y = 0.0037x + 0.0011$ ($R^2 = 0.990$). Aquí, "y" representa la absorbancia a 425 nm y "x", por su parte, es la concentración de quercetina expresada en µg/mL. Los resultados finales se presentaron en microgramos de quercetina equivalente por gramo.

Determinación de fenoles totales

La concentración de compuestos fenólicos totales (CFT) en el extracto metanólico de *Agave angustifolia* Haw y en las vinazas recolectadas se determinó siguiendo el método propuesto por Singleton y Rossi (1965), con las modificaciones señaladas por Gómez-Maldonado et al. (2020). Para cada análisis, se dispusieron en un tubo de 10 mL un volumen de 150 µL del reactivo de Folin-Ciocalteu y 1200 µL de agua destilada. Posteriormente, se añadieron 200 µL del extracto metanólico o de las vinazas, según correspondiera. La mezcla se agitó durante 3 segundos en un vórtex y se dejó reposar durante 3 minutos. Después del reposo, se incorporaron 250 µL de una solución de carbonato de sodio al 15 % (p/v) y las muestras se incubaron a temperatura ambiente durante 30 minutos. La absorbancia se registró a 760 nm mediante un espectrofotómetro Genesys 10S UV–VIS (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA). Para la cuantificación se elaboró una curva estándar de ácido gálico en un intervalo de 0 a 60 mg/mL, con la ecuación de calibración $y = 0.0086x - 0.0525$ ($R^2 = 0.9966$), donde "y" representó la absorbancia a 760 nm y "x" la concentración de ácido gálico (mg/mL).

Los resultados obtenidos se expresaron como miligramos equivalentes de ácido gálico (EAG) por gramo.

3.2.14 Identificación de compuestos volátiles y semivolátiles por HS-SPME-GC-MS

Preparación de la muestra del extracto de metanol de hojas de Agave.

Se pesaron 50 mg de la muestra y se disolvieron en 50 mL de metanol grado HPLC, enseguida, se filtró con un microfiltro de PTFE de 45 μm y se inyectó 1 μL al cromatógrafo de gases en modo splitless.

Preparación de la muestra de las vinazas por microextracción en fase sólida (SPME) en la fase de vapor (HS).

Se colocaron 5 mL de la muestra en un vial de vidrio con tapa roscada y septa de PTFE, con una capacidad de 22 mL. La muestra fue agitada a 800 revoluciones por minuto. Luego, se introdujo la fibra en la fase de vapor (headspace) durante una hora. Luego de la extracción, se introdujo la fibra en el puerto de inyección del CG a 180 °C y se realizó la desorción de los compuestos en modo splitless durante 15 minutos. Antes de cada inyección, la fibra se acondicionó a 220 °C durante 15 minutos. Igualmente, se llevó a cabo un blanco con un vial sin muestra bajo las mismas condiciones.

La fibra de microextracción utilizada está compuesta de DVB/CWR/PDMS (Divinilbenceno/Carbono de amplio rango/Polidimetilsiloxano) con longitud de 10 mm y grosor de 80 μm (50/30 μm) (Agilent Technologies).

Cromatografía de gases acoplada a detector selectivo de masas (GC-MSD).

Se utilizó un Cromatógrafo de Gases (CG) Agilent 7890B acoplado a Detector selectivo de masas (MSD) Agilent 5977^a. Condiciones cromatográficas: columna DB-WAX Ultra Inert (60m x 250 μm x 0.25 μm). Temperatura de columna: 40 °C por 4 min, 5 °C/min hasta 100 °C, 10 °C/min hasta 200 °C por 10 min. Gas acarreador: helio a flujo de 1 mL/min. Temperatura del puerto de inyección: 180 °C. Condiciones del Detector selectivo de masas: energía de ionización electrónica: 70 eV, rango de escaneo: 30-550 uma, velocidad de lectura: 13.8 espectros/s, temperatura de la cámara de ionización: 200 °C, temperatura de la línea de transferencia: 250 °C.

El software MassHunter Workstation (Agilent Technologies, Inc. 2012) fue utilizado para la adquisición y el procesamiento de datos. La identificación de los compuestos volátiles se llevó a cabo mediante la comparación de los patrones de fragmentación en los espectros de masas con la información sobre compuestos químicos del NIST (National Institute of Standards and Technology) y la base de datos Flavor (Agilent Technologies). Se utilizó la fórmula siguiente para determinar los índices de retención de Kovats:

$$LRI = 100n + 100 \frac{t_{Rx} - t_{Rn}}{t_{RN} - t_{Rn}}$$

Donde: **n** es el número de átomos de carbono en la *n*-parafina que fluye antes del compuesto de interés (su tiempo de retención es t_{Rx}); t_{Rn} y t_{RN} son tiempos de retención de las *n* parafinas con los números de átomos de carbono *n* y *N*, respectivamente, que eluyen inmediatamente antes y después del analito de interés (Stashenko & René Martínez, 2010).

3.2.15 Análisis estadístico:

Se realizó un análisis de varianza, para determinar si había diferencia significativa con respecto a los tratamientos evaluados en los hongos. Se evaluaron 4 tratamientos (dos extractos, un producto comercial botánico y un químico), realizando 4 repeticiones. La variable respuesta fue crecimiento del micelio del hongo. Una vez que el ANOVA mostró diferencias significativas $\alpha=0.05$, se aplicó una prueba de comparación de medias Tukey entre los tratamientos. El análisis estadístico se realizó con el programa R versión 4.3.2.

3.3 Resultados y discusión

3.3.1 Evaluación de síntomas en campo

En las muestras recolectadas de *A. angustifolia* Haw se observaron síntomas como manchas foliares de color negro y marrón presentes desde la parte inferior de la planta acompañadas de un halo amarillo, síntomas de antracnosis que iba en descenso desde las puntas hasta la mitad de la hoja, se evaluaron síntomas de necrosis y clorosis amarilla con puntas muertas de tejido, las muestras

presentaban síntomas de pudrición en la parte baja de la hoja acompañada por enrollamientos en las puntas de la penca, síntomas relacionados con los reportados por (Vega-Ramos et al., 2013) como se muestran en la Figura 5. A, B, C y F. Para las muestras de *A. karwinskii* Zucc Figura 5. D y E se observó una pudrición descendiente en la parte interna del tallo que abarcaba del centro hacia afuera, textura seca con manchas oscuras y decoloración ocasionando la descomposición de la piña.

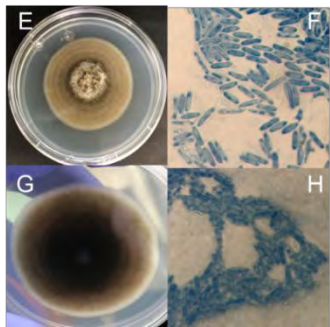


Figura 5: Evaluación de síntomas en campo. A, B, C y F correspondientes a *Agave angustifolia* Haw; D y E correspondientes *A. karwinskii* Zucc

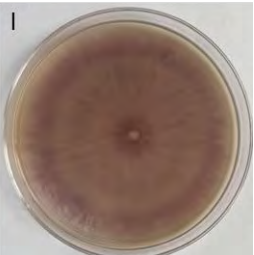
3.3.2 Aislamientos de cepas

Se realizó el aislamiento de hongos fitopatógenos a partir de plantas de *Agave* spp, se obtuvieron un total de 10 cepas, tres fueron caracterizadas por un análisis morfológico, ya que presentaron estructuras microscópicas Cuadro 1. Otras tres se sometieron a una caracterización molecular tras registrar síntomas de enfermedad en la planta durante pruebas de patogenicidad Cuadro 2. Las cuatro cepas restantes fueron descartadas al no presentar evidencia de enfermedad en planta y estructuras microscópicas. Los hongos aislados fueron conservados en glicerol al 10 % a -80 °C.

Cuadro 1. Caracterización e identificación de hongos por características morfológicas.

Hongo	Características macroscópicas y microscópicas
<i>Alternaria</i> sp.	El hongo en medio de cultivo PDA presentó una colonia con micelio aéreo de color blanco, estrías de color gris oscuro en el centro que se tornó de color verde oliva con orillas de color beige (A y B). Se observaron estructuras de color marrón con conidióforos en forma de cadena de cuatro conidios. C y D: Conidios teñidos con azul de lactofenol, 400X (DeShields & Achala, 2021) 
<i>Colletotrichum</i> sp.	Se observó una colonia circular de margen entero, apariencia algodonosa al centro del inoculo de color blanco rodeada de un halo café oscuro a claro hacia las orillas con masas conidiales producidas en anillos concéntricos de textura entre afelpada (Figura E), el inverso de la caja presentó una colonia densa de color oscuro (G). Conidios teñidos con azul de lactofenol, 400X. Se observaron conidios ovoides de pared celular lisa sin septos (F, H) (Rojo-Báez et al., 2017). 

Cuadro 2. Caracterización e identificación de hongos por características morfológicas (continuación).

Hongo	Características macroscópicas y microscópicas
Aislamiento 6.1.1	En medio de cultivo se presentó un micelio denso, lanoso de color rojizo-violeta, crecimiento expansivo y uniforme. 

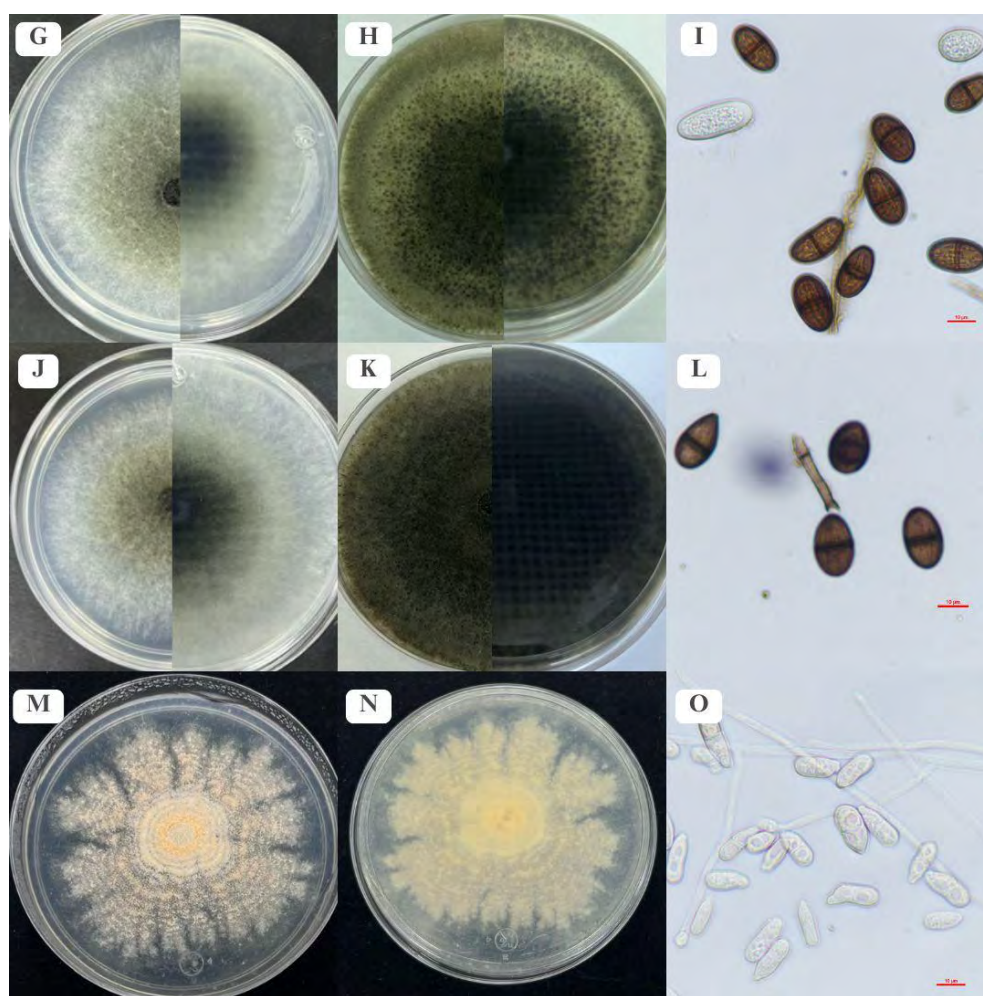


Figura 6: *Lasiodiplodia laeliocatleyae* en PDA correspondiente a G, H, *Lasiodiplodia parva* en PDA J, K, y *Trichothecium roseum* en PDA M, N: Conidios teñidos con azul de lactofenol, 400X I, L y O.

Cuadro 3. Descripción de los hongos identificados a nivel molecular, aislados de *A. karwinskii* Zucc y *A. angustifolia* Haw provenientes de Miahuatlán, Oaxaca.

Hongo	Hospedante	Conidios (µm)		Colonia PDA	Referencias
		Largo	Ancho		
<i>Lasiodiplodia parva</i>	<i>A. karwinskii</i> Zucc	9.36 - 23.1 $\bar{x} = 18.6712$	8.26 - 12.88 $\bar{x} = 12.0674$	Las colonias desarrolladas en medio de cultivo PDA presentaron micelio aéreo abundante, caracterizado por una textura algodonosa de crecimiento rápido y denso. Durante los primeros días de incubación, se visualizó una coloración es gris claro, con un núcleo central con tonalidades verde olivo, extendiéndose de adentro hacia afuera. Conforme avanzó el desarrollo del hongo, para el sexto día, la totalidad de la colonia se tornó a una coloración gris oscuro. Posteriormente, a los 15 días de incubación, se observa la formación de picnidios distribuidos sobre la superficie micelial como se muestra en la Figura 6	(Alves et al., 2008) (Abdollahzadeh et al., 2010)
<i>Lasiodiplodia laeliocattleyae</i>	<i>A. angustifolia</i> Haw	15.71 - 24.64 $\bar{x} = 19.8348$	9.57 - 13 $\bar{x} = 11.5942$		(Rodríguez-Gálvez et al., 2020) (França et al., 2024)
<i>Trichothecium roseum</i>	<i>A. angustifolia</i> Haw	11.67-21.12 $\bar{x} = 15.9412$	4.99-8.21 $\bar{x} = 6.3998$	Colonia de crecimiento lento con formación de una masa de esporas de color rosa pálido- salmón con anillos concéntricos se expandían del núcleo hacia afuera Figura 6.	(Harishchandra et al., 2023)

3.3.3 Evaluación de patogenicidad

En las pruebas de patogenicidad, sólo de tres aislados se confirmó su patogenicidad, cumpliendo los postulados de Koch, los cuales fueron: *Lasiodiplodia parva*, *L. laelocattleyae* y *Trichothecium roseum*.

Para el caso de *Lasiodiplodia parva* y *L. laelocattleyae* como se muestra en la Figura 7-3A y 4B se observó que entre los primeros 2-4 días después de inocular el hongo, manifestaron los primeros síntomas de podredumbre, la cual abarcó una necrosis descendente acompañada de un halo amarillento característico del género *Lasiodiplodia* spp., mismas características que reporta (Li et al., 2015; Reyes-García et al., 2023) en cultivos de *Agave* y *Eucalyptus urophylla*.

Las muestras inoculadas por *Trichothecium roseum* mostraron síntomas de penca podrida seca, con pigmentación verde claro alrededor de la necrosis, debido a que aún no existe suficiente evidencia que respalde que esta especie afecte el cultivo de *Agave*, estas pruebas confirmaron un efecto negativo en la planta, sin embargo, este patógeno ha sido reportado por (Gong, Bi, Li, Li, et al., 2019a; Gong, Bi, Li, Zong, et al., 2019b) en frutos de melón y manzana ocasionando el aumento de evolución temprana de etileno y respiración del fruto así como pérdida de peso, disminución de firmeza y pudrición.

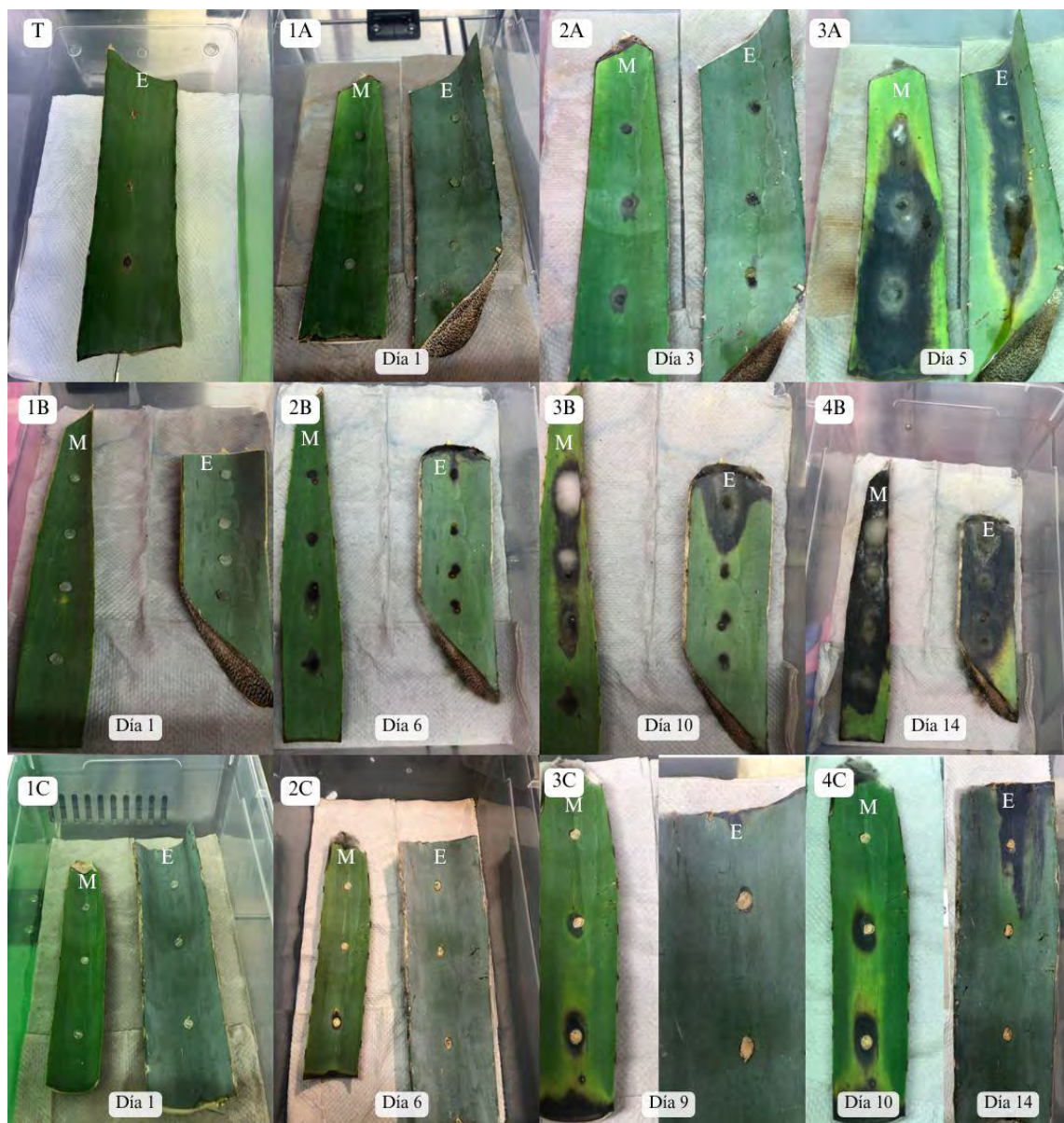


Figura 7. Evaluación *in vitro* de síntomas en pencas de *A. angustifolia* Haw (E) y *A. karwiinski* Zucc (M). 1-3A son inoculadas con *Lasiodiplodia parva*, 1-4B inoculadas con *Lasiodiplodia laeliocatleyae*, 1-4C inoculadas con *Tricothecium roseum* y T represe

3.3.4 Identificación molecular

La identificación a nivel molecular se realizó únicamente en los hongos que presentaron daños en las pruebas de patogenicidad. Para la confirmación de las especies se tomó en cuenta los síntomas en planta, características morfológicas como el color y crecimiento de las colonias, el tamaño de ampliación del ITS5/ITS4 y medición del largo y ancho en los conidios y la búsqueda de

homología de las secuencias obtenidas (Gnanesh et al., 2022), la cual se reveló una identidad del 100 % en las especies tal como se muestra en el Cuadro 3.

Cuadro 4. Caracterización molecular de los hongos aislados obtenidos de las pencas de *Agave* spp. de Xitlapehua, Oaxaca

No. acceso	ITS5/ITS4	% Cobertura	% Identidad	Hospedante	Síntoma
OW984555	<i>Tricothecium roseum</i>	100	100	<i>A. angustifolia</i> Haw	Pudrición seca, clorosis
PQ539042	<i>Lasiodiplodia parva</i>	90	100	<i>A. karwinskii</i> Zucc	Pudrición, clorosis y Muerte descendiente
MZ453038	<i>Lasiodiplodia laeliocatleyae</i>	100	100	<i>A. angustifolia</i> Haw	

3.3.5 Evaluación antifúngica in vitro

De acuerdo con los resultados obtenidos de la evaluación *in vitro*, los extractos de hexano, diclorometano, metanol, acuoso a base de bagazo y los extractos de diclorometano, hexano y acuoso de *A. angustifolia* Haw no mostraron efectos inhibitorios contra los hongos.

Los tratamientos con mayor efecto inhibitorio fueron las vinazas de *A. angustifolia* Haw y CAPTAN 50 WP contra los hongos aislados, el extracto de gobernadora PROGRANIC MEGA® mostró efectos significativos únicamente en *Lasiodiplodia* spp. y el extracto de metanol de *A. angustifolia* Haw mostró efecto únicamente en *T. roseum* (Figura 8).

No se registró inhibición en el crecimiento de los hongos por efecto de los disolventes utilizados (hexano, diclorometano, etanol y metanol).

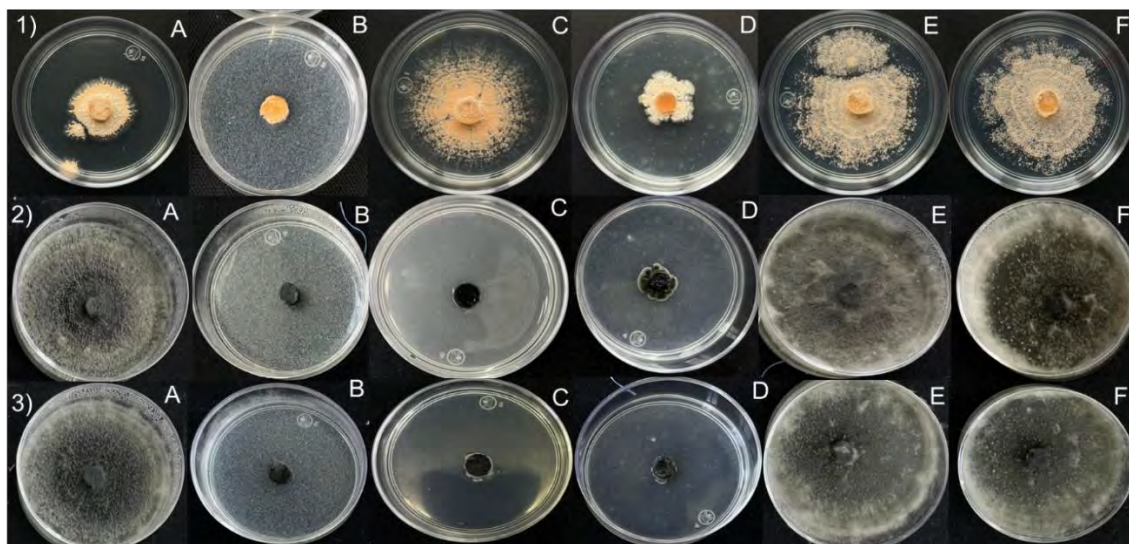


Figura 8. Evaluación *in vitro* del efecto antifúngico de los extractos contra los hongos fitopatógenos donde la fila 1) representa a *Trichothecium roseum*, 2) *Lasiodiplodia laelocattleyae* y 3) *Lasiodiplodia parva* donde de (A-F) corresponde a los tratamientos utilizados. (A) extracto de metanol de agave, (B) vinazas de agave, (C) extracto de gobernadora, (D) CAPTAN 50 WP, (E) Control negativo PDA-metanol y (F) control negativo PDA.

En las especies de *L. parva* y *L. laelocattleyae* se observó que los tratamientos comerciales, CAPTAN 50 WP y extracto de gobernadora PROGRANIC MEGA®, siguen siendo la mejor opción antes los problemas fitosanitarios que enfrentan el sector agrícola evitando totalmente el crecimiento en PDA mostrando un 100% de inhibición, sin embargo, aunque las vinazas de agave no disminuyeron el crecimiento micelial, mostraron un efecto considerable en la morfología macroscópica del hongo, debilitando significativamente el crecimiento micelial aéreo característico del mismo y evitando la producción de picnidios y esporulación Figura 8.

3.3.6 Efecto de los subproductos de Agave sp y tratamientos comerciales sobre el crecimiento micelial

Los resultados obtenidos mostraron que tanto las vinazas de agave como el fungicida Captan inhibieron el crecimiento micelial de *T. roseum* hasta un 100 %, el extracto de metanol de agave logró disminuir el crecimiento a un 53 % y el extracto de gobernadora no tuvo efectos considerables contra este hongo Figura 9.

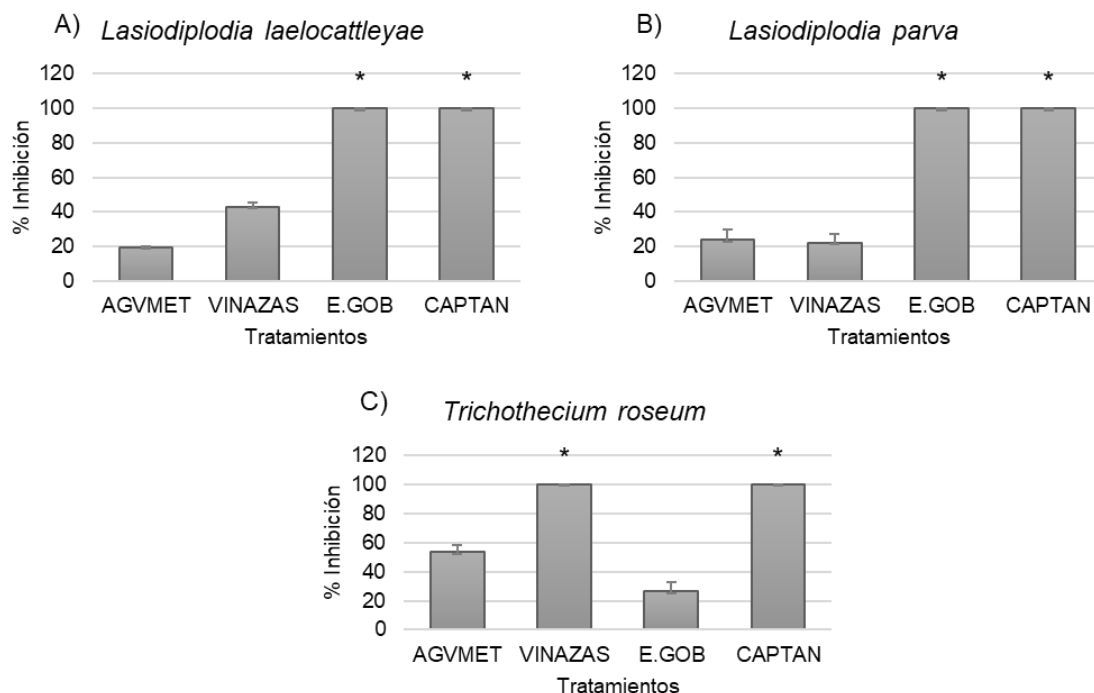


Figura 9. Efecto del extracto de metanol de *Agave* (AGVMET), vinaza de *Agave* (VINAZAS), extracto de gobernadora (E.GOB) y fungicida (CAPTAN) contra tres hongos fitopatógenos. Los resultados se expresan en promedio de tres repeticiones $\pm$ desviación estándar. * = significativo ($p < 0.05$)

3.3.7 Comparación de tratamientos antifúngicos

Se realizó un análisis de normalidad y homogeneidad de varianza en los datos obtenidos. Posteriormente, se aplicó un ANOVA paramétrico en los hongos que sí cumplieron con los supuestos. Los resultados mostraron diferencias significativas ($p = 1.85 \times 10^{-11}$) para *L. laelocattleyae* y ($p = 5.07 \times 10^{-10}$) para *T. roseum*. Se realizó un análisis de Tukey, el cual confirmó que tanto las vinazas de agave como el fungicida CAPTAN y el biofungicida de extracto de gobernadora tuvieron mayor efecto inhibitorio Figuras 10 y 11. Para el caso de *L. parva*, al no cumplir con los supuestos de normalidad, se realizó una prueba Kruskal-Wallis y un análisis post hoc de Dunn para identificar diferencias entre los tratamientos. Los valores de p fueron ajustados por el método de Bonferroni (Brann & Hartley, 2017). Los resultados obtenidos mostraron diferencias significativas entre los tratamientos PDA-VINZ, PDAMET-VINZ, PDA-AGVMET, PDA-E.GOB y PDA-

CAPTAN Figura 12. Estos resultados nos indican la presencia de compuestos biactivos con gran potencial antifúngico en los residuos de la industria del mezcal.

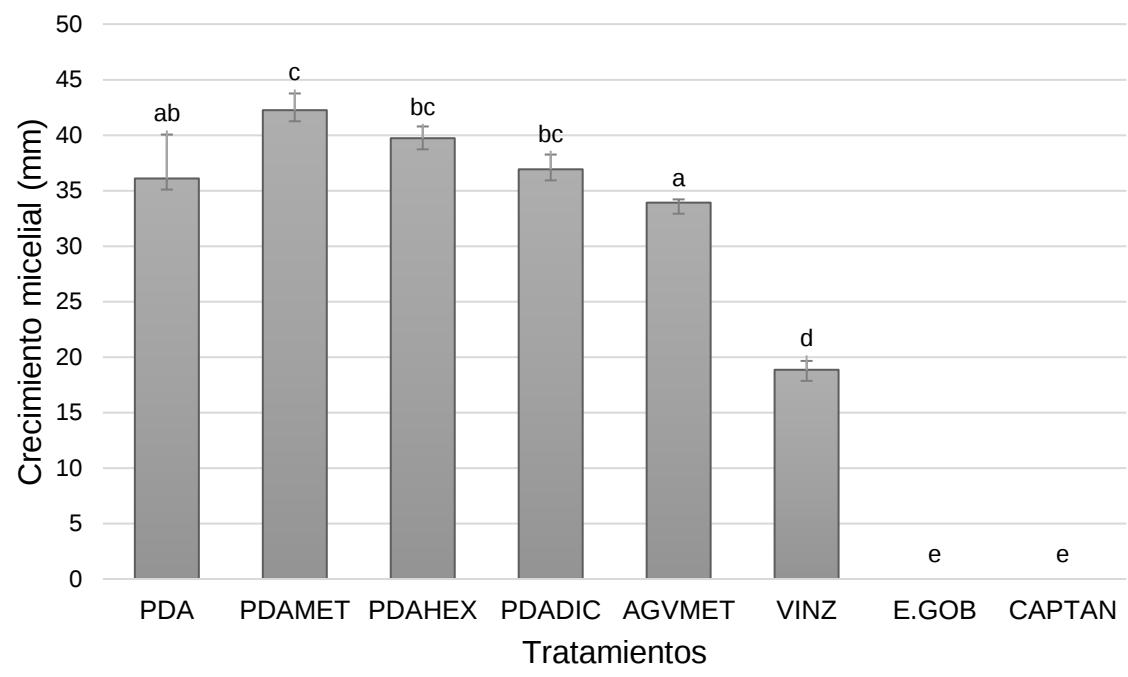


Figura 10. Crecimiento micelial de *Lasiodiplodia laelocattleyae* empleando diferentes tratamientos antifúngicos

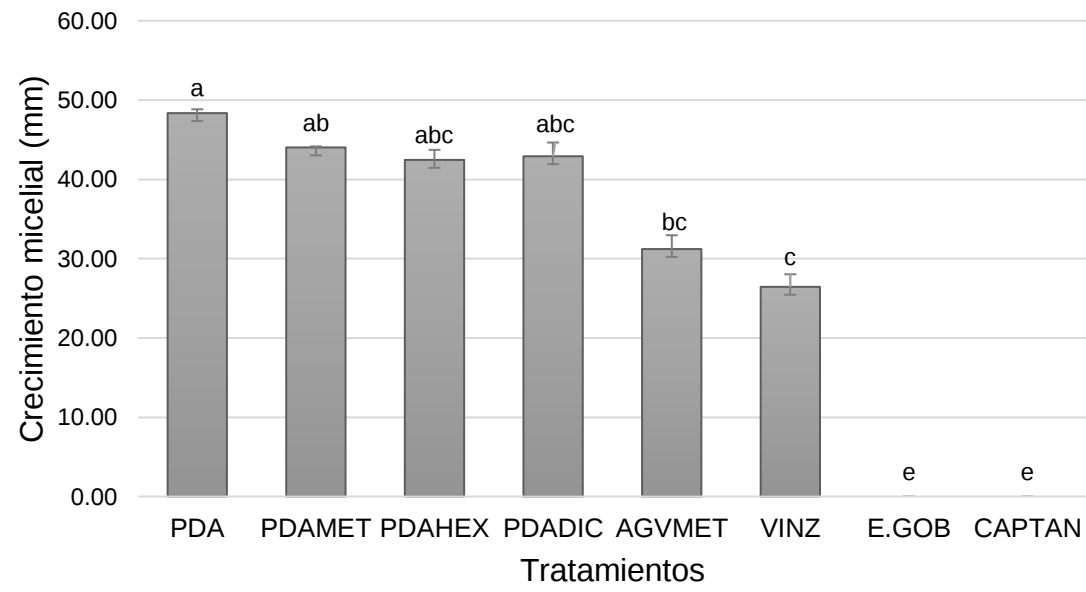


Figura 11. Crecimiento micelial de *Lasiodiplodia parva* empleando diferentes tratamientos antifúngicos

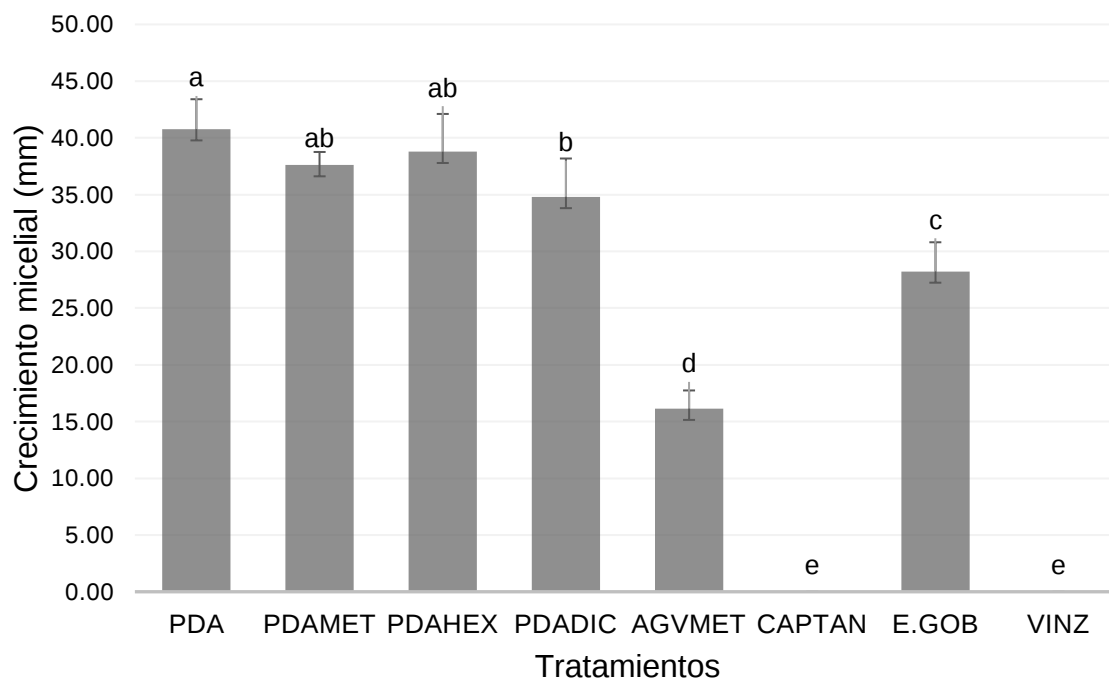


Figura 12. Crecimiento micelial de *Trichothecium roseum* empleando diferentes tratamientos antifúngicos

La actividad antifúngica de extractos de agave ha sido demostrada previamente por (Almazán-Morales et al., 2022), donde el extracto de acetona de *Agave cupreata* inhibió el 76, 60 y 59 % el crecimiento micelial de *Lasiodiplodia viticola*, *Colletotrichum* sp., y *Epicoccum sorghinum*. (Bailón Salas et al., 2022) reportó que las vinazas de *Agave duranguensis* mostrarán efectos antifungicos debido a su alta capacidad inhibitoria contra *Fusarium*, *Aspergillus* y *Penicillium*. Mientras que (González-Álvarez et al., 2015) registró el efecto inhibitorio de extracto de etanol de *Agave scabra*, contra *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea* y *Mucor* sp. En comparación a los resultados obtenidos en este trabajo de investigación tenemos que las vinazas y el extracto de metanol de *A. angustifolia* Haw son una alternativa sustentable para su uso como fungicidas botánicos.

3.3.8 Caracterización fitoquímica

Rendimiento de los extractos

En los resultados del Cuadro 4 se obtuvo que los extractos metanolicos de los subproductos *A. angustifolia* Haw tuvieron mayor porcentaje de rendimiento de en hojas 10.34 % y bagazo 6.31 seguido por los extractos acuosos con 8.63 % en

hojas y 7% en bagazo. Los extractos de hexano y diclorometano registraron rendimientos inferiores, debido a polaridad media, en comparación con el metanol y agua que son solventes altamente polares y tienden a tener mayor recuperación de compuestos. Además, se caracterizan por su gran capacidad de solubilizar metabolitos secundarios como fenoles, flavonoides y saponinas. Bermúdez-Bazán et al., (2024) Destaca estos disolventes, incluyendo el etanol, como una técnica eficiente para la extracción de compuestos bioactivos.

Cuadro 5. Rendimiento de los extractos

Extractos	Rendimiento (%)
Extracto de diclorometano <i>A. angustifolia</i> Haw	1.21
Extracto de metanol <i>A. angustifolia</i> Haw	10.34
Extracto de hexano de <i>A. angustifolia</i> Haw	0.73
Extracto acuoso de <i>A. angustifolia</i> Haw	8.63
Extracto de diclorometano de bagazo	0.61
Extracto de metanol de bagazo	6.31
Extracto de hexano de bagazo	0.32
Extracto acuoso de bagazo	7

Porcentaje de etanol en vinazas

Se determinó un 9.1% de etanol en vinazas, valor ligeramente elevado en comparación con lo reportado en vinazas de *Agave cocuico* por (Leal et al., 2003) registró porcentajes entre 2.2 y 2.5. Estudios como (Martínez Jiménez et al., 2019) ha reportado que el contenido de etanol puede variar dependiendo de la especie, el manejo agronómico y las condiciones de proceso de la fermentación.

Flavonoides y fenoles totales

En las Figuras 13 y 14 se muestran las curvas de calibración obtenidas para quercetina con un $y = (0.0037x + 0.0011)$ donde “y” es la absorbancia a 425 nm y “x”, la concentración de quercetina en $\mu\text{g/mL}$. Y ácido gálico $y = (0.0086x - 0.0525)$ donde “y” es la absorbancia a 760 nm y “x”, la concentración de ácido gálico.

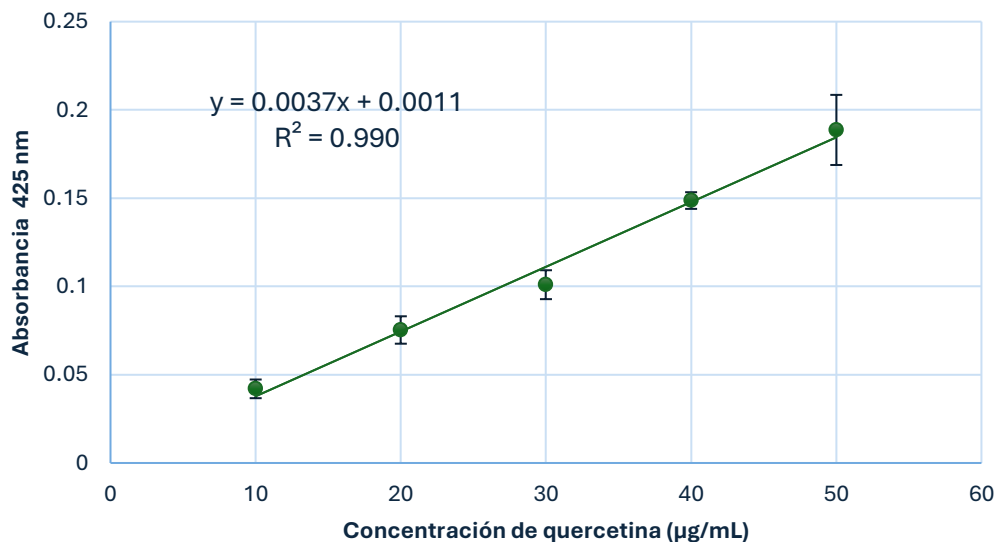


Figura 13. Curva estándar de quercetina

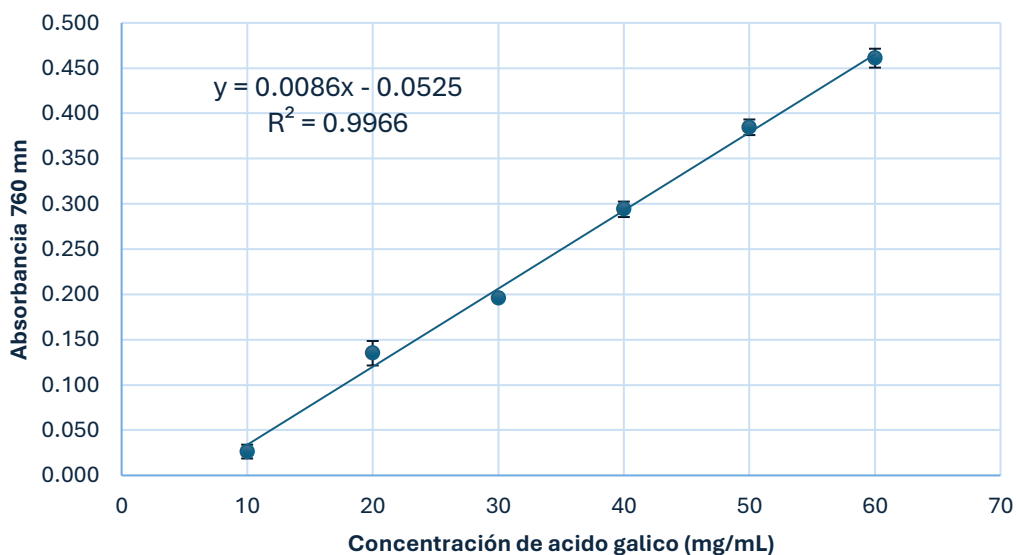


Figura 14. Curva estándar de ácido gálico

De acuerdo con los resultados de la caracterización fitoquímica en el cuadro 5 se muestra que el extracto de metanol de *A. angustifolia* Haw presentó un contenido de fenoles totales de 1616.93 ± 70.49 mg/L y flavonoides de 2094.32 ± 24.11 µg/mL. En cuanto a las vinazas, se registró un valor de 491.18 ± 20.25 mg/L en fenoles totales y 381.36 ± 38.57 µg/mL en flavonoides. Los valores registrados fueron superiores en comparación con (López-Romero Julio cesar et al., 2023) que reportó que el extracto de metanol en *Agave angustifolia* Haw contiene entre 17.989 ± 0.42 a 17.325 ± 0.28 de fenoles totales (mg EAG/g) y entre 11.729 ± 0.14 - 13.573 ± 2.01 de flavonoides totales (mg EQ/g), destacando que la variabilidad de los compuestos va depender del método de extracción y las condiciones experimentales. Por otro lado, Bermúdez-Bazán et al. (2024) demostraron que el proceso de maceración con agua y etanol (63:37 % v/v) de *A. angustifolia* potencializa el contenido total de fenoles y flavonoides obteniendo resultados de 27.92 ± 0.90 mg EAG/g y 12.85 ± 0.53 µg QE/g de peso seco. En cuanto a las vinazas de agave no existe evidencia sobre la cuantificación de estos compuestos, sin embargo, se ha demostrado que el bagazo de *Agave lechuguilla* contiene alrededor de 5.96–10.29 (mg QE/g) de flavonoides (Morreeuw et al., 2021) y en vinazas de *A. tequilana* se ha reportado la presencia de compuestos fenólicos individuales en bajas concentraciones como ácido clorogénico (0.36 mg/L) y ácido vainílico (2.75 mg/L) (Lorenzo-Santiago et al., 2023).

Cuadro 6. Caracterización química de extracto de metanol y vinazas de *Agave angustifolia* Haw

Extracto	Fenoles totales (mg/L)	Flavonoides (µg/mL)
Agave metanólico	1616.93 ± 70.49	2094.32 ± 24.11
Vinazas de agave	491.18 ± 20.25	381.36 ± 38.57

Identificación de compuestos volátiles

El análisis cromatográfico detectó 150 compuestos en vinazas, de los cuales solamente se identificaron 35 (cuadro 6) y en AGVMET se detectaron 82

compuestos de los cuales se lograron identificar 11 como se muestra en la (cuadro 7). El análisis reveló la presencia de cinco compuestos en común en las muestras como: 2,4-heptadienal, 5-metilfurfural, 2-furanmetanol, alcohol feniletílico y ácido nonanoico.

Estudios anteriores han demostrado la presencia de aldehídos, furanos, alcoholes aromáticos y ácidos grasos en diferentes etapas del proceso del mezcal (Vera-Guzmán et al., 2018). Sánchez-Fernández et al., (2025) reportó ácido acético, furfural y 1-propanol, entre otros, en mezcal de diferentes tipos de *Agave* y (Rodríguez-Félix et al., 2018) identificaron butanoato de etilo, lactato de etilo y ácido acético en vinazas de tequila. Estos resultados indican que existen metabolitos secundarios en el cultivo de agave que prevalecen después de las etapas de cocción, fermentación y destilación que se llevan a cabo en el proceso de producción. Los compuestos con mayor presencia en las vinazas fueron acetato de etilo, 2,5-dimetilfurano, acetato de isobutilo, alcohol isobutílico, acetato de isoamilo, alcohol isoamílico, acetato 2-feniletilo y alcohol feniletílico. Se ha demostrado que compuestos en conjunto o individuales tiene efectos inhibitorios contra agentes patógenos, el ácido nonanoico, alcohol bencílico y alcohol feniletílico son compuestos que ya han sido reportados en pruebas antifúngicas y antimicrobianas (de Melo Sacramento et al., 2025; Zhang et al., 2021). Se ha registrado que el acetato de etilo mostró una potente actividad antifúngica sobre *Sclerotium rolfsii*, *Cercospora canescens* y *Fusarium sambucinum* en un 47.2, 59.4 y 64.1% de inhibición (Niazi et al., 2023).

En el extracto de metanol de *A. angustifolia* Haw el ácido hexadecanoico éster metílico fue el compuesto en mayor abundancia con un porcentaje de área de 14.77. (Abubacker & Deepalakshmi, 2013) descubrieron que este compuesto inhibe totalmente el crecimiento de *Aspergillus erithrocephalus* y *Alternaria solani*. En concentraciones de 10 y 15 mg/mL logró inhibir entre el 50 y 75 % de *Aspergillus albicans* y *Aspergillus fumigatus*.

Cuadro 7. Identificación de compuestos volátiles de vinazas de *Agave*

#	Nombre	Fórmula	Peso molecular	TR (min)	IK	IK literatura	% Área
1	2-metilpropanal	C ₄ H ₈ O	72.058	5.72	798.3	801.0	0.0212
2	3-metilfurano	C ₅ H ₆ O	82.042	6.594	855.8	851.0	0.0208
3	Acetato de etilo	C ₄ H ₈ O ₂	88.052	6.945	876.4	884.0	11.1273
4	éster 2- metilpropílico del ácido píválico	C ₉ H ₁₈ O ₂	158.131	7.126	886.6	888.0	0.0156
5	2,5-dimetilfurano	C ₆ H ₈ O	96.058	8.394	945.4	943.0	1.6382
6	Propanoato de etilo	C ₅ H ₁₀ O ₂	102.068	8.556	952.0	955.0	0.2707
7	2-metilpropaoato de etílico	C ₆ H ₁₂ O ₂	116.084	8.772	960.6	975.0	0.0989
8	Acetato de n-propilo	C ₅ H ₁₀ O ₂	102.068	8.998	969.3	980.0	0.0575
9	Acetato de isobutilo	C ₆ H ₁₂ O ₂	116.084	10.044	1007.3	1018.0	1.2329
10	2-etil-5-metilfurano	C ₇ H ₁₀ O	110.073	10.501	1024.5	1015.0	0.2382
11	Butanoato de etilo	C ₆ H ₁₂ O ₂	116.084	10.722	1032.4	1044.0	0.0639
12	1-Propanol	C ₃ H ₈ O	60.057	10.966	1041.0	NE	0.0725
13	Disulfuro de dimetilo	C ₂ H ₆ S ₂	93.991	11.784	1068.3	1078.0	0.0317
14	1-(2-furil)-1-propanona	C ₇ H ₈ O ₂	124.052	12.564	1092.3	1092.0	0.0290
15	Alcohol isobutílico	C ₄ H ₁₀ O	74.073	12.656	1095.1	1094.0	3.4798
16	Acetato de isoamilo	C ₇ H ₁₄ O ₂	130.099	13.303	1117.3	1124.0	10.2394
17	Alcohol isoamílico	C ₅ H ₁₂ O	88.089	16.126	1209.4	1209.0	16.0920
18	2-pentilfurano	C ₉ H ₁₄ O	138.104	16.559	1226.4	1231.0	0.0642
19	Hexanoato de etilo	C ₈ H ₁₆ O ₂	144.115	16.715	1232.4	1241.0	0.1032
20	Pentanoato de etilo	C ₉ H ₁₈ O ₂	158.131	19.250	1332.5	1332.0	0.0359
21	Lactato de etilo	C ₅ H ₁₀ O ₃	118.063	19.535	1345.9	1349.0	0.6965
22	1-Hexanol	C ₆ H ₁₄ O	102.104	19.720	1354.6	1356.0	0.1065
23	Octanoato de etilo	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172.146	21.291	1433.1	1441.0	0.5300
24	1-metil-4-(1-metiletenil)-Benceno,	C ₁₀ H ₁₂	132.094	21.383	1438.4	1433.0	0.1123
25	Ácido acético	C ₂ H ₄ O ₂	60.021	21.625	1452.1	1449.0	0.1242
26	2-acetilfurano	C ₆ H ₆ O ₂	110.037	22.646	1510.8	1512.0	0.1252
27	2-furanmetanol acetato	C ₇ H ₈ O ₃	140.047	23.000	1534.6	1539.0	0.2703
28	2,3-Butanodiol	C ₄ H ₁₀ O ₂	90.068	23.152	1544.7	1556.0	0.5360
29	2-Furanmetanol	C ₅ H ₆ O ₂	98.037	24.813	1661.7	1666.0	0.7069
30	5-metil,2-Furanmetanol	C ₆ H ₈ O ₂	112.052	25.609	1723.0	1714.0	0.6102
31	2,2'-metilenobis [5-metil]-furano	C ₁₁ H ₁₂ O ₂	176.084	25.958	1751.4	1731.0	0.0980
32	Acetato de 2-feniletilo	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164.084	26.961	1831.7	1826.0	3.9816
33	Alcohol feniletílico	C ₈ H ₁₀ O	122.073	28.274	1931.4	1923.0	11.5170
34	Ácido octanoico	C ₈ H ₁₆ O ₂	144.115	30.289	2061.7	2070.0	0.1055
35	Ácido nonanoico	C ₉ H ₁₈ O ₂	158.131	32.427	2171.0	2171.0	0.0619

Nota: Lista de compuestos donde (TR) es el tiempo de retención en min e (IK) es el Índice de Kovats. NE: No encontrado.

Cuadro 8. Identificación de compuestos volátiles en extracto metanol de *A. angustifolia* Haw

#	Nombre	Fórmula	Peso molecular	TR	IK	IK literatura	%Área
1	Espirohepta-4,6-dieno	C ₇ H ₈	92.1	17.37	1257.0	1042.0	0.7312
2	1-yodododecano	C ₁₂ H ₂₅ I	296.1	21.466	1443.1	1449.0	0.4947
3	Furfural	C ₅ H ₄ O ₂	96.0	21.913	1468.3	1468.0	0.5875
4	2,4-Heptadienal	C ₇ H ₁₀ O	110.1	21.997	1473.0	1487.0	0.6938
5	5-metilfurfural	C ₆ H ₆ O ₂	110.0	23.76	1584.5	1582.0	0.1636
6	2-Furanmetanol	C ₅ H ₆ O ₂	98.0	24.828	1662.9	1666.0	0.8074
7	Alcohol bencílico	C ₇ H ₈ O	108.1	27.736	1892.4	1886.0	1.8667
8	Alcohol feniletílico	C ₈ H ₁₀ O	122.1	28.275	1931.4	1923.0	0.7217
9	Ácido nonanoico	C ₉ H ₁₈ O ₂	158.1	32.368	2168.2	2169.0	1.3967
10	Ácido hexadecanoico, éster metílico	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270.3	33.582	2220.1	2208.0	14.7719
11	3-etil-4-metil-2,5-dihidro-1H-pirrol-2-ona	C ₇ H ₉ NO ₂	139.1	35.587	2293.5	2267.0	0.9269

Nota: Lista de compuestos donde (TR) es el tiempo de retención en minutos e (IK) es el Índice de Kovats

Los cromatogramas muestran los compuestos en mayor abundancia en el extracto de *A. angustifolia* Haw. El compuesto más abundante fue ácido hexadecanoico, éster metílico (Figura 15) y en vinazas se destacó el alcohol feniletílico seguido de alcohol isoamílico (Figura 16).

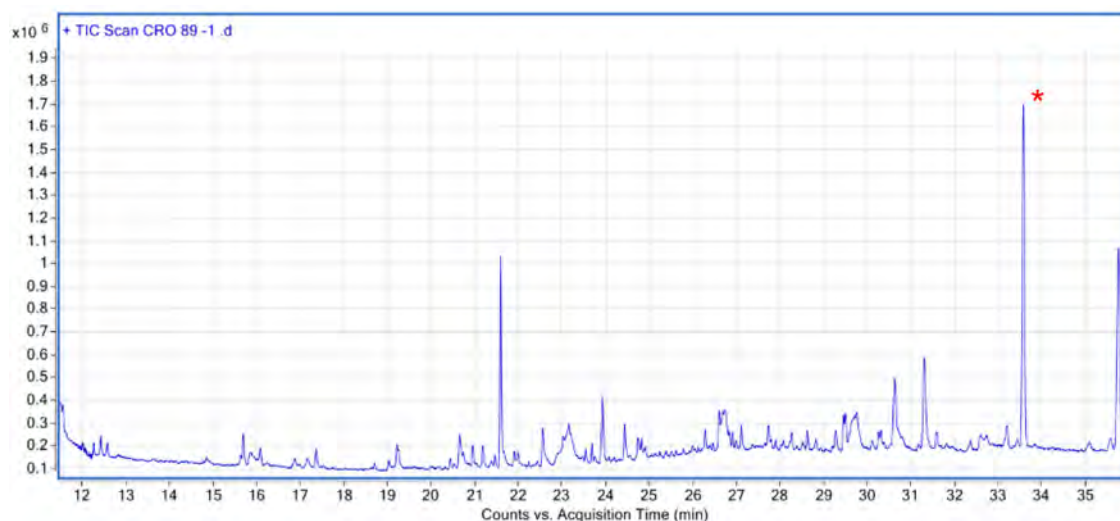


Figura 15. Cromatograma del extracto de metanol de *A. angustifolia* Haw. * Ácido hexadecanoico, éster metílico.

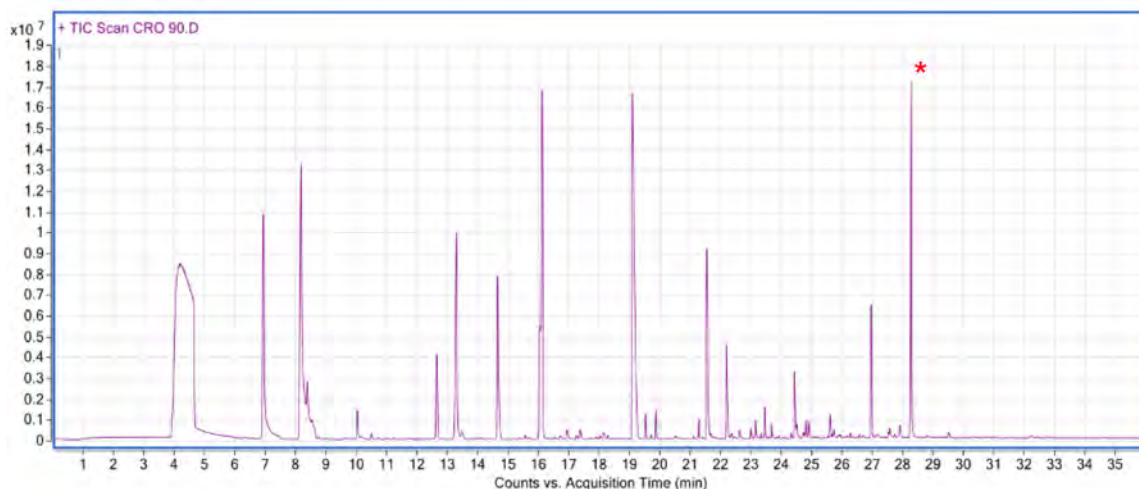


Figura 16. Cromatograma de vinazas. * Alcohol feniletílico.

3.4 Conclusión

Mediante este trabajo de investigación se registraron nuevas especies como *Lasiodiplodia parva*, *L. laelocattleyae* y *Trichothecium roseum* en *Agave angustifolia* Haw y *A. karwiinski* Zuuc, patógenos de importancia agrícola debido a su amplio rango de hospedantes y las enfermedades causantes de pudrición descendiente y rosada en los cultivos, es importante la identificación a nivel molecular para saber qué medidas de control utilizar en contra de éstas ya que existen cepas con alta resistencia a productos químicos.

El extracto de metanol de *Agave angustifolia* Haw inhibió el crecimiento de *Trichothecium roseum* (53 %) mientras que la vinaza de agave inhibió su crecimiento completamente. La vinaza redujo la esporulación y el crecimiento aéreo de manera significativa *Lasiodiplodia parva* y *L. laelocattleyae*.

El estudio fitoquímico permitió identificar 35 compuestos volátiles en el extracto de metanol de hojas de agave y 11 compuestos en las vinazas de agave, entre ellos compuestos antifúngicos y antimicrobianos. Asimismo, la cuantificación de flavonoides y fenoles totales de los subproductos fueron superiores en comparación a lo reportado en la literatura, destacando la importancia de los disolventes y método de extracción para mejorar el rendimiento de los compuestos de interés.

Los subproductos de la industria del mezcal artesanal son una alternativa potencial para el control de plagas y hongos como las vinazas y el extracto de metanol de las pencas de agave que dan la oportunidad de desarrollar estrategias de control utilizando extractos botánicos a futuro, dando valor a los residuos generados por la producción de mezcal y permitiendo el crecimiento económico a los productores.

El fungicida botánico de extracto de gobernadora (PROGRANIC MEGA®) y el fungicida químico Captan® 50 WP mostraron ser altamente eficientes para el control de hongos y plagas en el cultivo de *Agave*, por lo que pueden ser utilizados para el control de los hongos.

El uso de los subproductos de la industrial del mezcal para el control de agentes patógenos en el sector agrícola puede generar beneficios económicos para los productores y reducir el uso de fungicidas químicos evitando la alta resistencia en cepas de importancia agrícola.

Como perspectiva se considera determinar el valor de concentración inhibitoria media (IC₅₀) *in vitro* de los extractos, vinazas, y de los fungicidas comerciales, así como, determinar la dosis de prueba de campo para finalmente, realizar una formulación de los subproductos para su aplicación en campo.

3.5 Literatura citada

- Abdollahzadeh, J., Javadi, A., Goltapeh, E. M., Zare, R., & Phillips, A. (2010). Phylogeny and morphology of four new species of Lasiodiplodia from Iran. *Persoonia - Molecular Phylogeny And Evolution Of Fungi*, 25(1), 1-10. <https://doi.org/10.3767/003158510x524150>
- Abubacker, M., & Deepalakshmi, T. (2013). In vitro Antifungal Potentials of Bioactive Compound Methyl Ester of Hexadecanoic Acid Isolated from *Annona muricata* Linn. (Annonaceae) Leaves. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 10(2), 879-884. <https://doi.org/10.13005/bbra/1211>
- Almazán-Morales, A., Moreno-Godínez, M. E., Hernández-Castro, E., Vázquez-Villamar, M., Mora-Aguilera, J. A., Cabrera-Huerta, E., & Alvarez-Fitz, P. (2022). Phytochemical profile and in vitro activity of *Agave angustifolia* and *A. cupreata* extracts against phytopathogenic fungi. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 40(2). <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2202-6>

- Alves, A., Crous, P. W., Correia, A., & Phillips, A. J. L. (2008). Morphological and molecular data reveal cryptic speciation in *Lasiodiplodia theobromae*. *Fungal Diversity*, 28, 1–13.
- Bailón-Salas, A. M., Ordaz-Díaz, L. A., & Domínguez-Calleros, P. A. (2022). Agave durangensis vinasse as a biocide for forest pest control. *BioResources*, 17(1), 1285-1300. <https://doi.org/10.15376/biores.17.1.1285-1300>
- Bermúdez-Bazán, M., Castillo-Herrera, G. A., Urias-Silvas, J. E., Escobedo-Reyes, A., & Estarrón-Espinosa, M. (2021). Hunting Bioactive Molecules from the Agave Genus: An Update on Extraction and Biological Potential. *Molecules*, 26(22), 6789. <https://doi.org/10.3390/molecules26226789>
- Brann, M., & Hartley, D. (2016). Nursing student evaluation of NIOSH workplace violence prevention for nurses online course. *Journal Of Safety Research*, 60, 85-91. <https://doi.org/10.1016/j.jsr.2016.12.003>
- DeShields, J. B., & Kc, A. N. (2021). Morphological and Molecular Characterization of *Alternaria* spp. Isolated from European Pears. *Plant Disease*, 105(9), 2531-2540. <https://doi.org/10.1094/pdis-10-20-2143-re>
- Da Silva França, K. R., De Medeiros Ferro, M. M., Feijó, F. M., Da Silva, S. J. C., De Melo, M. P., De Andrade Lima, G. S., & Assunção, I. P. (2024). First report of *Lasiodiplodia hormozganensis* and *Lasiodiplodia laeliocattleyae* causing crown rot disease in banana fruits in Brazil. *Crop Protection*, 184, 106784. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2024.106784>
- Gnanesh, B. N., Arunakumar, G. S., Tejaswi, A., Supriya, M., Manojkumar, H. B., & Devi, S. S. (2022). Characterization and Pathogenicity of *Lasiodiplodia theobromae* Causing Black Root Rot and Identification of Novel Sources of Resistance in Mulberry Collections. *The Plant Pathology Journal*, 38(4), 272-286. <https://doi.org/10.5423/ppj.oa.01.2022.0005>
- Gong, D., Bi, Y., Li, S., Li, Y., & Wang, Y. (2019). *Trichothecium roseum* infection promotes ripening of harvested muskmelon fruits and induces the release of specific volatile compound. *Journal Of Plant Pathology*, 101(3), 529-538. <https://doi.org/10.1007/s42161-018-00231-0>
- Gong, D., Bi, Y., Li, Y., Zong, Y., Han, Y., & Prusky, D. (2019). Both *Penicillium expansum* and *Trichothecium roseum* Infections Promote the Ripening of Apples and Release Specific Volatile Compounds. *Frontiers In Plant Science*, 10, 338. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00338>
- González-Álvarez, M., Moreno-Limón, S., Salcedo-Martínez, S. M., & Pérez-Rodríguez, E. C. (2015). Evaluación in vitro de la actividad antifúngica de extractos de agave (*Agave scabra*, Salm Dyck) sobre hongos postcosecha. *Phyton – Revista Internacional de Botánica Experimental*, 84(2), 427–434. <https://doi.org/10.32604/phyton.2015.84.427>
- Harishchandra, D. L., Zhang, W., Wedaralalage, T. C. K., Li, X., & Cheewangkoon, R. (2023). Identification of the Postharvest Pink Mold Rot Fungus

- (Trichothecium roseum) on Grapes in China. *Chiang Mai Journal Of Science*, 50(4), 1-11. <https://doi.org/10.12982/cmjs.2023.040>
- Leal G., I., Chirinos, E., Leal, M., Morán, H., & Barrera, W. (2003). Caracterización fisicoquímica de la vinazade Agave cocui y su posible uso agroindustrial. *Multiciencias*, 3(2), . Li, G., Arnold, R. J., Liu, F., Li, J., & Chen, S. (2015). Identification and Pathogenicity of Lasiodiplodia Species from Eucalyptus urophylla × grandis, Polyscias balfouriana and Bougainvillea spectabilis in Southern China. *Journal Of Phytopathology*, 163(11-12), 956-967. <https://doi.org/10.1111/jph.12398>
- López-Romero, Julio César, González-Ríos, Humberto, Valenzuela-Melendres, Martín, Ayala-Zavala, Jesús Fernando, & Meza-Callado, Ana Guadalupe. (2023). Compuestos químicos, capacidad antioxidante y antimicrobiana de dos extractos metanólicos de hojas de Agave angustifolia. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 10(spe3), e3644. Epub 26 de agosto de 2024. <https://doi.org/10.19136/era.a10niii.3644>
- Lorenzo-Santiago, M. A., Rodríguez-Campos, J., Rendón-Villalobos, R., García-Hernández, E., Vallejo-Cardona, A. A., & Contreras-Ramos, S. M. (2023). Thermal Treatment to Obtain 5-Hydroxymethyl Furfural (5-HMF), Furfural and Phenolic Compounds from Vinasse Waste from Agave. *Molecules*, 28(3), 1063. <https://doi.org/10.3390/molecules28031063>
- Martínez-Jiménez, R., Ruiz-Vega, J., Caballero-Caballero, M., Silva-Rivera, M. E., & Montes-Bernabé, J. L. (2019). Agaves silvestres y cultivados empleados en la elaboración de mezcal en Sola de Vega, Oaxaca, México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 22, 477–485.
- De Melo Sacramento, V., De Andrade Royo, V., Veloso, P. H. F., Souto, K. S. F., Caldeira, A. S. P., Martins, C. H. G., De Souza, S. L., De Siqueira, E. P., Cassiano, F. R., De Melo Júnior, A. F., De Oliveira, D. A., Mnezes, E. V., & De Almeida Alves, T. M. (2025). Diplopterys pubipetala (Malpighiaceae): Insights into Antioxidant, Antibacterial, and Antifungal Activities with Chemical Composition Analysis via UHPLC-MS/MS and GC/MS. *Molecules*, 30(4), 946. <https://doi.org/10.3390/molecules30040946>
- Morreeuw, Z. P., Ríos-González, L. J., Salinas-Salazar, C., Melchor-Martínez, E. M., Ascacio-Valdés, J. A., Parra-Saldívar, R., Iqbal, H. M. N., & Reyes, A. G. (2021). Early Optimization Stages of Agave lechuguilla Bagasse Processing toward Biorefinement: Drying Procedure and Enzymatic Hydrolysis for Flavonoid Extraction. *Molecules*, 26(23), 7292. <https://doi.org/10.3390/molecules26237292>
- Niazi, S. K., Basavarajappa, D. S., Kumaraswamy, S. H., Bepari, A., Hiremath, H., Nagaraja, S. K., Rudrappa, M., Hugar, A., Cordero, M. A. W., & Nayaka, S. (2023). GC-MS Based Characterization, Antibacterial, Antifungal and Anti-Oncogenic Activity of Ethyl Acetate Extract of Aspergillus niger Strain AK-6 Isolated from Rhizospheric Soil. *Current Issues In Molecular Biology*, 45(5), 3733-3756. <https://doi.org/10.3390/cimb45050241>

- Reyes-García, G., Ortega-Acosta, S. Á., Palemón-Alberto, F., Ortega-Acosta, C., Domínguez-Monge, S., Terrones-Salgado, J., Castañeda-Vildozola, Á., Toledo-Hernández, E., Cruz-Lagunas, B., & Flores-Simon, O. U. (2022). First Report of Lasiodiplodia theobromae Causing Leaf Rot on Agave angustifolia in Mexico. *Plant Disease*, 107(2), 574. <https://doi.org/10.1094/pdis-05-22-1270-pdn>
- Rodríguez-Félix, E., Contreras-Ramos, S., Davila-Vazquez, G., Rodríguez-Campos, J., & Marino-Marmolejo, E. (2018). Identification and Quantification of Volatile Compounds Found in Vinasses from Two Different Processes of Tequila Production. *Energies*, 11(3), 490. <https://doi.org/10.3390/en11030490>
- Rodríguez-Gálvez, E., Hilário, S., Lopes, A., & Alves, A. (2020). Diversity and pathogenicity of Lasiodiplodia and Neopestalotiopsis species associated with stem blight and dieback of blueberry plants in Peru. *European Journal Of Plant Pathology*, 157(1), 89-102. <https://doi.org/10.1007/s10658-020-01983-1>
- Rojo-Báez, I., Álvarez-Rodríguez, B., García-Estrada, R. S., León-Félix, J., Sañudo-Barajas, A., & Allende-Molar, R. (2017). Situación actual de Colletotrichums spp. en México: Taxonomía, caracterización, patogénesis y control. *Revista Mexicana de Fitopatología(En Línea)/Revista Mexicana de Fitopatología*, 35(3). <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1703-9>
- Sánchez-Fernández, R. E., Pérez-López, A., Morales-Solis, A., Manilla-Tellez, Y., Reyes-Carmona, E. D., & Avila-Urbe, G. (2025). Chemistry of Mezcal: Volatile Profile of Artisanal Mezcal Made from Wild Agaves of Oaxaca. *Foods*, 14(7), 1222. <https://doi.org/10.3390/foods14071222>
- Stashenko, E.E., & Martínez, J.R. (2010). Algunos aspectos prácticos para la identificación de analitos por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.
- Vega-Ramos, K. L., Uvalle-Bueno, J. X., & Gómez-Leyva, J. F. (2013). Molecular Variability among Isolates of Fusarium oxysporum Associated with Root Rot Disease of Agave tequilana. *Biochemical Genetics*, 51(3-4), 243-255. <https://doi.org/10.1007/s10528-012-9559-4>
- Vera-Guzmán, A., Guzmán-Gerónimo, R., López, M., & Chávez-Servia, J. (2018). Volatile Compound Profiles in Mezcal Spirits as Influenced by Agave Species and Production Processes. *Beverages*, 4(1), 9. <https://doi.org/10.3390/beverages4010009>
- Zhang, H., Du, H., & Xu, Y. (2021). Volatile Organic Compound-Mediated Antifungal Activity of Pichia spp. and Its Effect on the Metabolic Profiles of Fermentation Communities. *Applied And Environmental Microbiology*, 87(9). <https://doi.org/10.1128/aem.02992-20>

4. CONCLUSIONES GENERALES

Los subproductos derivados de la industria del mezcal, como las pencas del maguey y las vinazas, representan una alternativa viable y sustentable con potencial biológico para el control de hongos fitopatógenos en el cultivo de *Agave* sp. Los aislamientos obtenidos de las pruebas de patogenicidad confirmaron la presencia de hongos de importancia económica.

El uso de subproductos agroindustriales disminuye el uso de fungicidas químicos, el impacto ambiental y ofrece una alternativa para el manejo de plagas y enfermedades en el cultivo de *Agave* sp.

El trabajo de investigación abre las posibilidades del desarrollo de formulaciones fúngicas a partir de los residuos y genera un valor para los productores agrícolas.