

World
Journal of
Bioscience and
Biototechnology



Journal of the
SOCIBI

International Scientific Society
of Biotechnologists

ISSN:



CINTILLO LEGAL

World Journal of Bioscience and Biotechnology, revista electrónica, volumen 1, número 1, enero-marzo 2025, es una publicación trimestral editada por la Sociedad Científica Internacional de Biotecnólogos, Paseo del Angel 6, Ocotlán, Tlaxcala, C.P. 90100, México. Teléfono:(246)1706628, <https://socibiotech.com/journals/wjbb>, email: wjbb@socibi.org. Editor responsable Dra. María del Carmen Sánchez Hernández. Reserva de Derechos al Uso Exclusivo No. 04-2024-120918285500-102, otorgada por el Instituto Nacional de Derechos de Autor. Responsable de la última actualización de este número, Sociedad Científica Internacional de Biotecnólogos, Paseo del Angel 6, Ocotlán, Tlaxcala, C.P. 90100, México. Teléfono (246)1706628, Dra. María del Carmen Sánchez Hernández, fecha de última modificación, 31 de marzo de 2025.

EDITOR IN CHIEF

Dr. Carmen Sánchez

EDITORIAL BOARD

Dr. Ramón I. Arteaga Garibay
Centro Nacional De Recursos Genéticos- INIFAP (Jalisco, Mexico)

Dr. Lydia M. Contreras
The University of Texas (Austin, USA)

Prof. Siu-Wai Chiu
The Chinese University of Hong Kong (Shatin, NT, Hong Kong)

Prof. Ursula Kües
University of Göttingen (Göttingen, Germany)

Dr. Roberto Gaxiola
Arizona State University (Arizona, USA)

Prof. Jose M. Guisan Seijas
Consejo Superior de Investigaciones Científicas (Madrid, Spain)

Dr. Gerardo Gutiérrez Sánchez
The University of Georgia (Georgia, USA)

Dr. Rodrigo Ledesma Amaro
Imperial College London (London, United Kingdom)

Dr. Ma. Eugenia López Arellano
Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (Morelos, Mexico)

Dr. Esteban Marcellin Saldaña
The University of Queensland (Brisbane, Australia)

Dr. Oscar Monroy Hermosillo
Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa (Mexico City, Mexico)

Dr. David Mota Sánchez
Michigan State University (Michigan, USA)

Dr. Angélica María Rodríguez Dorantes
Instituto Politécnico Nacional (Mexico City, Mexico)

Dr. Sergio de Jesús Romero Gómez
Universidad Autónoma de Querétaro (Querétaro, Mexico)

Dr. Sergio Sánchez Esquivel
Universidad Nacional Autónoma de México (Mexico City, Mexico)

Prof. Chien-Jung Tien
National Kaohsiung Normal University (Kaohsiung, Taiwan)

Dr. Lauro Velazquez Salinas
Agricultural Research Service, USDA (New York, USA)

Dr. Gustavo Viniegra González
Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa (Mexico City, Mexico)

Dr. Marilyn Wiebe
VTT Technical Research Centre of Finland (Espoo, Finland)

Table of contents

Sustainable seas, bivalve farming as a natural carbon sink 1-21

Matthias Heilweck and David Moore

Innovation is driving the production of pulquero agave 22-27

Gustavo Viniegra González

Calcium is an essential element in the cellular processes of fungi: A review 28-41

Alejandro Chamorro-Mejía and Carmen Sánchez

Encapsulation of antioxidants extracted from turmeric (*Cúrcuma longa L*) by the electrospinning method 42-53

José María Fernández-Luna, Verónica Santacruz-Vázquez, Santa Toxqui-López, José Luis Córdova-de la Luz, Claudia Santacruz-Vázquez

Knowledge, traditional and scientific classification. An approach to the species of wild edible mushrooms of the genus *Russula* in Mexico 54-71

Díaz-Pérez Adriana, Pacheco-Cobos Luis,
Rodríguez-Palma Ma. Mercedes, Montoya-
Esquivel Adriana, Kong-Luz Alejandro

Dehydration technologies applied to maguey savia 72-89
(aguamiel) *Agave salmiana* for the production of
sweeteners

José Armando Narvaez-Padilla, Daniel Méndez-
Iturbide



Sustainable seas, bivalve farming as a natural carbon sink

Mares sostenibles, la cría de bivalvos como sumidero natural de carbono

Matthias Heilweck¹ and David Moore*²

¹Private address withheld, independent researcher, Kaysersberg, France.

²Private address withheld, independent researcher, Stockport, UK.

*Corresponding author

E-mail address: (D. Moore)

ABSTRACT

Two recent papers have criticized our promotion of large-scale cultivation of shellfish for their shells to capture carbon from the atmosphere. They argue that the carbon in shells comes from (bi)carbonate ions of weathered rocks, not directly from atmospheric CO₂, and that calcification is a carbon source adding CO₂ to the water. Here, we defend our understanding of calcifying biology and biochemistry. Important points in our argument include, atmospheric CO₂ dissolves in rainwater as well as in seawater, forming (bi)carbonate ions without any necessary involvement in rock weathering; microbes, especially fungi, are influential in weathering rocks, it is not an exclusively inorganic chemical domain; shells use the (bi)carbonate ions from the sea surface in pCO₂ equilibrium with the atmosphere, not from the stable depths where (bi)carbonate ions accumulate; calcium carbonate formation in living calcifiers does not take place in open water, but within cells enclosed by lipid bilayer membranes; finally, the fact that bivalves that are cultivated have evolved on tidal shores highlights their ability to thrive under conditions far more challenging than any predicted for the broader ocean even in the distant future. Add the consistent inability of industrial carbon capture and storage (CCS) to effectively remediate carbon emissions, we reaffirm our belief in the biotechnological potential of shellfish for CO₂ sequestration and link this with the fact that the world's aquaculture industries already operate the biotechnology that could sustainably control atmospheric CO₂ levels at reasonable cost, thanks to their correlated benefits in terms of protein supply and ecosystem services.

Keywords: Bivalves, biomechanical processes, mollusc aquaculture, CO₂ sink, fossil fuels, carbon capture

RESUMEN

Dos artículos recientes han criticado nuestra promoción del cultivo a gran escala de mariscos para capturar carbono de la atmósfera en sus conchas. Argumentan que el carbono en las conchas proviene de iones (bi)carbonato de rocas erosionadas, no directamente del CO₂ atmosférico, y que la calcificación es una fuente de carbono que agrega CO₂ al agua. Aquí, defendemos nuestra comprensión de la biología y la bioquímica de la calcificación. Puntos importantes en nuestro argumento incluyen, el CO₂ atmosférico se disuelve tanto en el agua de lluvia como en el agua de mar, formando iones (bi)carbonato sin necesidad de involucrar la erosión de las rocas; los microbios, especialmente los hongos, son influyentes en la erosión de las rocas, no es un dominio exclusivamente químico inorgánico; las conchas utilizan los iones (bi)carbonato de la superficie del mar en equilibrio con el pCO₂ atmosférico, no de las profundidades estables donde se acumulan los iones (bi)carbonato; la formación de carbonato de calcio en calcificadores vivos no ocurre en aguas abiertas, sino dentro de células encerradas por membranas bicapa de lípidos; finalmente, el hecho de que los bivalvos cultivados han evolucionado en costas mareales resalta su capacidad para prosperar en condiciones mucho más desafiantes que cualquier predicción futura para el océano en general. Sumando la incapacidad constante de la captura y almacenamiento de carbono industrial (CCS) para remediar eficazmente las emisiones de carbono, reafirmamos nuestra creencia en el potencial biotecnológico de los mariscos para la captura de CO₂ y lo vinculamos con el hecho de que las industrias de acuicultura del mundo ya operan la biotecnología que podría controlar de manera sostenible los niveles de CO₂ atmosférico a un costo razonable, gracias a sus beneficios correlacionados en términos de suministro de proteínas y servicios ecosistémicos.

Palabras clave: Bivalvos, procesos biomecánicos, acuicultura de moluscos, sumidero de CO₂, combustibles fósiles, captura de carbono

1. Introduction

In several publications in the past three years, we have promoted the notion that massive scale cultivation of shellfish, particularly bivalve mollusc aquaculture, but supplemented by coccolithophore cultivation on a similarly massive scale, could convert sufficient atmospheric CO₂ into the limestone of their bivalve shells and coccoliths to make serious inroads into the atmospheric overburden caused by anthropogenic emissions of CO₂ from fossil fuels (Heilweck & Moore, 2021; Heilweck *et al.*, 2023; Moore, 2020, 2021; Moore *et al.*, 2021, 2022a & b, 2023, Petros *et al.*, 2021).

Unfortunately, two very recent publications have accused us of promoting this biotechnological solution "... without due diligence on the underpinning fundamental science...", stating further that "...We consider proponents of these methods to have an incomplete or incorrect grasp not only of how the ocean carbon cycle functions, but also the up-scaling needed to provide significant climatic benefits..." (quotations from Boyd *et al.*,

2024). The second critical publication claims that our "...main misunderstanding consists of assuming that the carbon trapped in the shell originates from atmospheric CO₂ when it mostly comes from (bi)carbonate ions. While these ions originate from atmospheric CO₂ through the erosion of minerals over geological timescales, their incorporation into shells does not prompt short-term CO₂ compensation..." (quoted from Pernet *et al.*, 2024).

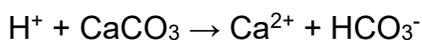
Even more regrettably, both Boyd *et al.* (2024) and Pernet *et al.* (2024) exhibit such a profound lack of understanding of the cell biology and biochemistry of **living organisms**, particularly those capable of calcification, that it completely undermines the credibility of their opinions.

Here we offer a brief defence of our "...incomplete or incorrect grasp..." of ocean chemistry and attempt to address the apparent biological ignorance displayed by certain ocean chemists.

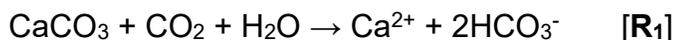
2. Ocean chemistry

We are proposing that anthropogenic emissions of CO₂ could be drawn down from the atmosphere and sequestered in carbonate sediments on the sea floor (Moore *et al.*, 2023; Nordling, 2023). The idea being dismissed by ocean chemists because of their belief that the formation of carbonate sediments produces carbon dioxide, which is expected to escape back to the atmosphere (Gattuso *et al.*, 1999). In addressing this conflict of opinion, we would first claim not to be alone in any misunderstandings of which we might be guilty, for, as noted in the preface of Zeebe & Wolf-Gladrow (2001), "... the key to understanding critical processes of the marine carbon cycle is a sound knowledge of the seawater chemistry, including equilibrium and non-equilibrium properties as well as stable isotope fractionation. Unfortunately, it appears to be quite difficult for non-chemists to obtain a good knowledge of these subjects ..."

It seems that the belief that calcification releases CO₂ to the atmosphere is based on the classical reaction scheme for chemical weathering written by Robert M. Garrels (Garrels, 1965). Garrels wrote a reaction scheme for the **dissolution of limestone** (calcium carbonate) **by rainwater**, as follows,



which summed gives,



The belief that **calcification** releases CO₂ to the atmosphere is due to the erroneous notion that this is a reversible reaction, specifically, that the reaction can proceed thus,



Scheme **R₂** **definitely** describes the formation of limestone by calcifying organisms in the present day, but reaction **R₁** is not easily reversible **in open seawater** because it requires the unlikely event of three aqueous ions colliding with enough energy to drive the reaction;

rather, it is an equilibrium reaction. In line with Le Chatelier's Principle, this scheme operates in reverse **only** if component concentrations, temperature, or pressure change drastically. Garrels recognised this dilemma. In his example, to reverse the reaction scheme (generating calcium carbonate), he explained,

“... Such a solution, on removal to a basin and evaporation in equilibrium with the atmosphere, would maintain its pH, dissolved calcium, and bicarbonate constant, while precipitating CaCO_3 and releasing CO_2 to the atmosphere (Garrels, 1965).”

In the real world such circumstances are found only in shallow tropical seas where, indeed, ooids of calcium carbonate form on the shores and sea floors [<https://en.wikipedia.org/wiki/Ooid>].

This reverse reaction cannot occur in the wider ocean through inorganic chemistry alone; Garrels also recognised this fact, adding to the above quotation (with our emphasis),

“... This simplified model contains the essential characteristics of the commonly accepted calcium cycle, in which the CaCO_3 **precipitated in the oceans as limestones by the agency of organisms** is eventually reexposed to weathering (Garrels, 1965).”

In contrast to this balanced view of 60 years ago, our critics (Boyd *et al.*, 2024; Pernet *et al.*, 2024) limit their attention to open water inorganic chemistry. We quote from Pernet *et al.* (2024), “...calcification releases CO_2 in seawater...” and Boyd *et al.* (2024),

“...Calcification involves CaCO_3 production from bicarbonate and calcium ions, releasing CO_2 . In seawater, the molar ratio of CO_2 released to CaCO_3 precipitated is ~0.6...” and “...the seawater may initially be undersaturated with CO_2 (due to photosynthesis)...”

Since the formation of the Earth, about 4.54 billion years ago, atmospheric CO_2 levels have ranged from 100,000 ppm to 100 ppm (Murphy, 2024). As of August 2024, the concentration of CO_2 in the atmosphere is approximately 421.71 ppm [source, <https://www.co2.earth/daily-co2>]. To compare with the ocean, the concentration of dissolved inorganic carbon (which includes CO_2) is quoted in different units; the average concentration today being around 2.3 millimoles per kilogram (mmol/kg) Zeebe & Wolf-Gladrow, 2001). Allowing for the mass of seawater, this level calculates to approximately 2,300 ppm. Zeebe & Wolf-Gladrow (2001) further state that,

“...The ocean contains about sixty times more carbon in the form of dissolved inorganic carbon than in the pre-anthropogenic atmosphere (~600 Pg C). On time scales $<10^5$ yrs, the ocean is the largest inorganic carbon reservoir (~38,000 Pg C) in exchange with atmospheric carbon dioxide (CO_2) and as a result, the ocean exerts a dominant control on atmospheric CO_2 levels. ... The majority [$>85\%$] of dissolved inorganic carbon in the modern ocean is in the form of HCO_3^- ...”

In the Archean Eon in Earth's history (4 billion to 2.5 billion years ago), when the Earth's crust was formed, the Archean carbon cycle depended on prebiotic formation of calcite, which is the most stable polymorph of calcium carbonate (CaCO_3) and a common and widely distributed mineral in the crust. The CO_2 flux into the Archean oceanic crust is

estimated to have been two orders of magnitude higher than the modern value. Which points to the significance of extremely high CO₂ concentrations in atmosphere and ocean alike, and volcanic temperatures driving reaction **R₂** in a process known as *Archean sea-floor hydrothermal carbonation* (Shibuya *et al.*, 2012). Relaxation of these extreme environmental conditions allowed the emergence of the earliest known life forms, archaea and bacteria towards the end of the Archean Eon.

In the absence of such environmental extremes, formation of calcium carbonate in the present day depends on biological systems. Even Pernet *et al.* (2024) admits this to be the case by including the enzyme carbonic anhydrase in their reaction scheme, we quote,

“... bivalves can convert metabolic CO₂ into (bi) carbonate ions through the action of the enzyme carbonic anhydrase ... an enzyme which catalyses the transformation of bicarbonate ions (HCO₃⁻) to CO₂. The reaction of incorporating metabolic CO₂ that was enzymatically transformed to HCO₃⁻, into the shell is, CO₂ + H₂O + Ca²⁺ ↔ CaCO₃ + 2H⁺...[call this **R₃**]”.

Unfortunately, this seems to be the limit of their biological knowledge, because they end the paragraph with “...This reaction releases 2 hydrogen ions **into seawater**...” (Pernet *et al.*, 2024; with our emphasis), not realising, perhaps, that living organisms do not work that way. Living calcifiers do not carry out the calcification reaction in open seawater, instead these 2 hydrogen ions are used to perform various biological activities, such as the synthesis of ATP. That's life!

As Moore *et al.* (2023) clearly state in their abstract [we have added emphasis to this quotation],

“...**Life's chemistry is specifically isolated from open water**; taking place on enzymatic polypeptide surfaces, within organelles with **ion-selective phospholipid membranes**, contained in a **cell enclosed by phospholipid bilayer membranes**. Ignoring what is known about the biology, physiology, and molecular biology of living calcifiers leads to erroneous conclusions and deficient advice about the potential for calcifier biotechnology to contribute to atmosphere remediation....”

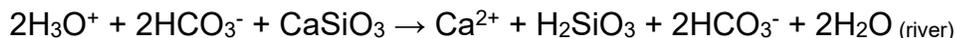
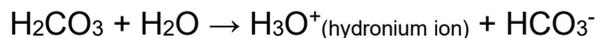
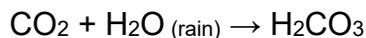
3. Is weathering the primary source of bicarbonate for the ocean?

Another unexpected claim of Pernet *et al.* (2024) is the following,

“...In contrast to direct atmospheric CO₂ capture, mineral weathering is the primary source of HCO₃⁻ for the ocean, as it involves the most important reservoir of carbon on Earth (sediments and rocks, ca. 90 × 10⁶ Gt C). Weathering is the reaction of atmospheric CO₂ and H₂O with silicate and carbonate rocks. Briefly, CO₂ and rainwater produce carbonic acid (H₂CO₃) which can dissolve silicate and carbonate rocks...”

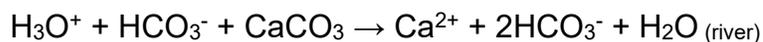
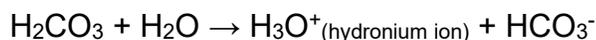
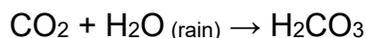
Our understanding is that, in fact, CO₂ is drawn out of the atmosphere by rainwater not by reaction with silicate rocks. Atmospheric CO₂ will dissolve in rainwater as it does in seawater. This process being a key part of the Earth's natural carbon cycle. When CO₂ in the atmosphere comes into contact with H₂O, whether this be a drop of rain or the ocean's surface, the CO₂ dissolves and reacts with water to form carbonic acid. This carbonic acid then dissociates into bicarbonate and carbonate ions. Dividing the hydrosphere into the

oceans and the (freshwater) aquasphere, then rainwater is part of the aquasphere and not part of the atmosphere. When silicate rocks are chemically weathered it is the hydronium ions (H_3O^+) which react with the silicate; the bicarbonate ions are merely spectator ions, existing both as reactants and products in the scheme (McDonald, 2020; https://en.wikipedia.org/wiki/Spectator_ion). Schematically, we represent this as follows,



We consider that the failure to see that calcification draws down atmospheric CO_2 is due to an erroneous interpretation of silicate weathering. Atmospheric CO_2 will dissolve in every raindrop and in every foaming ocean wave on the 70% of the Earth's surface that is covered by 97% of the planet's water.

With regards to carbonate weathering, the hydronium ion reacts with limestone. We would represent this with the analogous scheme as follows,



In this case, one bicarbonate ion comes from the solution of carbon dioxide in rain and a second bicarbonate ion results from the dissolution of calcium carbonate by the hydronium ion produced by the partial dissociation of carbonic acid (H_2CO_3) in water. Therefore, unlike silicate weathering, carbonate weathering **is** a source of HCO_3^- for the ocean and that this results from rainwater drawing down atmospheric CO_2 .

The recent review by Bai *et al.* (2024) clarifies the role of carbonate weathering in the carbon cycle of global terrestrial ecosystems, showing the importance of such carbon sinks in the global carbon cycle to be similar to that of vegetation photosynthesis. We do not wish to be drawn into this controversy, however. Our aim in this paper is to dispel the widely held belief that the main carbon sink in the oceans is organic carbon rather than inorganic carbon, even though the inorganic carbon deposited on the sea floor is at least one order of magnitude greater than the deposition of organic carbon.

We believe the confusion we see in the text of Pernet *et al.* (2024) is caused by their idea that coral reefs and mussels produce CO_2 , and so cannot be a CO_2 sink. But what matters is that these animal calcifiers are a **carbon sink**. They lock up carbonate ions as calcium carbonate thus depleting the dissolved inorganic carbon (DIC) in the ocean, and so draw down CO_2 from the atmosphere. Carbon enters the carbon system as CO_2 from volcanoes and, since the industrial revolution, from anthropogenic sources, and leaves it mainly as carbonate on the sea floor, but also as organic carbon CH_2O , for example, as forest timber and other plant remains that become peat, coal, and oil over geological time. The notion that calcification is not a sink is the fundamental flaw in the text of Pernet *et al.* (2024). It is basic system science. We are discussing a carbon system, not just a carbon dioxide system.

We are also discussing simple arithmetic. When a system removes two bicarbonate ions while producing only one carbon dioxide molecule, how can anyone fail to see it as a carbon sink? The carbon arithmetic is rather simple, $-2+1 = -1$.

With our predilection for championing biological processes, we can't resist pointing out here that microbes, especially fungi, are incredibly influential in transforming rocks, minerals, and metals through various biochemical and biomechanical processes. Fungi can penetrate rocks, forming tunnels and channels, which is a form of biomechanical weathering. They also produce organic acids and other compounds that chemically break down minerals (biochemical weathering). It is this activity that releases from the Earth's rocks most of the essential nutrients and metals which are crucial for plant and microbial growth (Gadd, 2007; Kirtzel *et al.*, 2017; Ehrlich *et al.*, 2021).

Our current problems with our climate stem from an excess of CO₂ in the atmosphere, which is indeed a relatively small reservoir of carbon (600 Gt C) compared to the second biggest reservoir of carbon, the ocean (38,000 Gt C). But the important thing is not so much the size of the reservoir as its capacity to exchange with the atmosphere, the latter being the only reservoir that poses a problem for us through climate change.

The carbon stored as DIC in the ocean originates primarily from cold water surface layers (which absorb more atmospheric CO₂), and secondly, from the mineralisation of organic carbon as it sinks to the sea floor. In these lightless (aphotic) depths, the oceanic DIC pool can be considered as stable, as the global thermohaline circulation has a turnover of 1,000 years or so (Döös *et al.*, 2012). This also implies that the extra anthropogenic DIC accumulated in this reservoir since the industrial era is expected to re-emerge only in several centuries from now.

In contrast, the surface ocean interacts directly with the atmosphere, and both environments are continuously working towards balancing their respective *p*CO₂ levels. The surface ocean has a lower *p*CO₂ than the atmosphere for three reasons,

- Atmospheric *p*CO₂ is constantly increasing because of the burning of fossil fuels.
- Surface oceanic *p*CO₂ is constantly decreasing because of the photosynthetic activity in this euphotic zone.
- Only 0.6% of the absorbed atmospheric CO₂ by surface ocean remains as it is, the rest being converted rapidly into bicarbonates (90.9%) and carbonates (8.5%) and contributes to the air-sea equilibrium.

It follows that bicarbonates in ocean surface waters that are used for shell making originate directly from the atmosphere and not from the global oceanic DIC pool used for the calculations of Pernet *et al.* (2024).

4. Carbonic anhydrase

Calcifying organisms use a highly conserved biomineralization toolkit to make their shells and coccoliths (Marie *et al.*, 2017) that has been described as "... a complex bioceramic assembly process ..." (Evans, 2019). Physiologically the carbonic anhydrase (CA) reaction contributes widely to normal metabolism, to control the acid-base balance of the cell, organelle or tissue; to metabolic respiration in aerobes (as well as gas transport and gas

exchange 'respiration' in the complex organisms that 'breathe'), and, in a chemically different environment, to anaerobic metabolism. CA is also essential in photosynthesis (for more information, view Science Direct at this URL, <https://tinyurl.com/4h3thahn>).

Clearly, then, the chemical reaction that achieves calcification does not take place in laboratory glassware or in open seawater. All living eukaryotic cells use calcium ions (Ca^{2+}) as a signalling molecule. Calcium acting as a second messenger in a host of signal transduction pathways. Consequently, calcium homeostasis is strictly maintained. In coccolithophores, for example, calcium is transported in membrane-bound sacs, called vesicles, containing calcium-loaded particles. These fuse with another "coccolith vesicle" in which coccolith calcification occurs (Gal *et al.*, 2018). Thus, to be returned to the seawater, CO_2 molecules released by \mathbf{R}_2 or hydrogen ions released by \mathbf{R}_3 would have to be transported across at least two ion-selective phospholipid membranes (which might have other uses for them – CO_2 might be channelled to photosynthesis, hydrogen ions might be channelled through a proton gradient to make ATP or cotransport other molecules between compartments). It is, though, most likely that CO_2 released from the calcification assemblage within the vesicle would dissolve in the first aqueous compartment it encounters in a matter of seconds to become a bicarbonate ion which is a candidate for another round of calcification.

Carbonic anhydrases (CAs) are so widely distributed in living organisms, prokaryotes and eukaryotes alike, that it is probably true to say that this is a universal enzyme activity. Interestingly, these zinc-containing polypeptides that catalyse the reversible hydration of CO_2 to bicarbonate are known to exist in at least five distinct families, α , β , γ , δ and ζ that have no significant similarity in amino acid sequence (implying their convergent evolution) and varying in distribution across different organisms. Each family usually also has numerous isoforms that may be differentiated for different functions in the cell, between organelles or between tissues and organs in more complex organisms [https://en.wikipedia.org/wiki/Carbonic_anhydrase]. Sequence diversity of this magnitude demonstrates that enzymic control of the hydration of CO_2 has been, and remains, of such crucial importance to life on this planet that the function has been endowed with exceptionally high positive selection pressure.

For several reasons, therefore, but principally the wide distribution of carbonic anhydrases and the intimate connection of molecules having this enzymic activity with the structural assembly of the crystals that make up shell material, calcifying organisms will make no return of CO_2 to the open ocean or open atmosphere from their calcifying activities, but only controlled emissions of metabolic wastes, like CO_2 , to their local aqueous environment. More details about the conserved biomineralization toolkit of calcifying organisms can be found in Moore *et al.* (2023).

5. Proton transport within cells in the context of 'ocean acidification'

As mentioned earlier, many essential biochemical reactions occur within organelles that are enclosed by their own phospholipid membranes. These membranes contain transporters that regulate the movement of ions (such as protons, electrons, and inorganic ions), as well as various molecules and macromolecules, in and out of the enclosed compartments. Some metabolites can simply diffuse across the phospholipid membrane or through membrane pores. In other cases, diffusion is facilitated by highly specific and selective transporters.

Additionally, coupling a facilitated diffusion mechanism with an ATPase proton transporter (= proton pump) creates an active transport system capable of moving molecules against significant chemical diffusion gradients.

A case in point is that Foraminifera actively pump hydrogen ions (protons) out from the site of calcification which is therefore surrounded by a low (acidic) external pH of their own making (Kawahata *et al.*, 2019). Kawahata *et al.* (2019) demonstrate that hydrogen ion pumping by the cell associated with foraminiferal calcification is independent of initial seawater CO₂ concentration or pH and produces a high internal pH (more than pH 9 within the membrane-enclosed site of calcification) and large internal-to-external pH difference (as much as 2 pH units). Corals also regulate their internal pH at the tissue-to-skeleton interface to levels that could counteract the much feared “ocean acidification” (Ohno *et al.*, 2017; McCulloch *et al.*, 2012).

6. Cultivated bivalves live on tidal shores

An often overlooked, indeed ignored, aspect of the biology of many calcifying organisms, especially molluscs, is their ability to adapt to tidal changes in their coastal habitats. During low tide, the seawater trapped within their closed shells, or in rock pools and crevices for mobile animals, heats up, becomes anoxic, and is enriched with CO₂. These conditions are quite similar to those predicted for the broader ocean in the distant future. Since this emersion happens twice daily, these animals have evolved specific adaptations to thrive in such environments.

Bivalves must retain a substantial volume of water within the mantle cavity, enclosed by the shell, as this cavity serves as a respiratory chamber. The shell is produced by the outer epidermal layers of the mantle tissue. During the challenging conditions of emersion, there is a survival advantage in continuing to calcify the now tightly closed, and potentially openly-exposed, shell to strengthen the shell’s valves against predation.

The mantle cavity also houses the primary body tissues of the animal. Unlike the shell, there is a survival advantage in **reducing** the growth rates of body tissues during prolonged emersion, because if the soft tissues were to continue growing steadily and occupy more space, there would be less water inside the shell to meet the metabolic needs of the increased tissue mass (Seed, 1968, 1980; Gimin *et al.*, 2004). Adaptations to cope with these circumstances are not recent developments for shore-dwellers. Since the formation of the Moon, its tidal effects on Earth have been a crucial environmental factor in the evolution of life from its earliest stages (Byrne *et al.*, 2020). The physiological mechanisms that have evolved in shoreline organisms enabling them to tolerate regular emersion will undoubtedly enable them to tolerate some of our more recent anthropogenic environmental challenges.

7. An aside about “ocean acidification”

It is often suggested that bivalve molluscs are negatively impacted by something called ocean acidification. The argument goes like this, increased atmospheric carbon dioxide leads to higher CO₂ levels in the ocean, which lowers the pH and reduces the availability of carbonate ions essential for bivalves to construct and maintain their calcium carbonate shells. The concern is that more acidic conditions would result in thinner, weaker shells,

particularly in larvae, causing physiological stress that adversely affects metabolism, respiration, and excretion, ultimately leading to decreased growth and survival rates.

All of this stress is attributed to acidified seawaters (e.g. Gazeau *et al.*, 2013). However, there are several reasons to question this argument. For example, Kroeker *et al.* (2013) carried out a comprehensive meta-analysis of 155 studies examining biological responses to a 0.5-unit reduction or less in mean seawater pH, which approximates to projected acidification by about the year 2100 AD. They found "... decreased survival, calcification, growth, development and abundance in response to acidification when the broad range of marine organisms is pooled together ..." but stressed variability between species,

"... in multi-species assemblages, suggesting that it is important to consider indirect effects and exercise caution when forecasting abundance patterns from single-species laboratory experiments. Furthermore, the results suggest that other factors, such as nutritional status or source population, could cause substantial variation in organisms' responses. Last, the results highlight a trend towards enhanced sensitivity to acidification when taxa are concurrently exposed to elevated seawater temperature ..." (Kroeker *et al.*, 2013).

Pernet *et al.* (2024) discuss water acidification and total alkalinity (TA) under the mistaken belief, again, that biological calcification is an open water chemical process. They overlook the fact that protons generated within a living cell are tightly regulated by the organism's membrane systems for cellular metabolism, such as ATP synthesis, without being discharged from the cell and therefore without affecting the TA of the seawater.

Marine chemists often state that "many calcifying species exhibit reduced calcification and growth rates in laboratory experiments under high-CO₂ conditions" (quoted from Doney *et al.*, 2009). We have previously noted (Moore *et al.*, 2023) that while this is an undeniable fact, the pH levels used in laboratory experiments are controlled by the experimenter and typically represent conditions expected at the end of this century or later, rather than current conditions. For instance, Orr *et al.* (2005) found that live pteropods exposed to conditions predicted for 2100 AD in a two-day shipboard experiment showed significant shell dissolution. Pteropods are planktonic molluscs that play a role in pelagic food webs worldwide, so this is concerning for ocean biodiversity in 75 years. Fortunately, not all future scenarios are so bleak (Connell *et al.*, 2017); and Nithiyaa *et al.* (2021) noted,

"However, the ocean acidification level of pH 7.50 predicted for the year 2300 showed no significant decrease in shell weight and shell density of *T. granosa* [blood cockle or blood clam] compared to the control pH treatment (pH 7.81)."

Examples of similar experiments are shown by Moore *et al.* (2023) who conclude,

"For oceans a lifetime into the future, acidification is a legitimate concern; but this is irrelevant for the present day and its dire predictions should not influence our choice of biological mechanisms to control climate change today, nor our intent to implement them immediately."

Additionally, the **facts** about ocean acidification are these (Moore *et al.*, 2023),

- In 1800 AD, the oceanic pH was estimated to be a decidedly alkaline 8.2.

- In 2020 AD, the oceanic pH was measured to be a decidedly alkaline 8.1.
- By 2100 AD, the oceanic pH is predicted to be a decidedly alkaline 7.78.

Given that concerns about acidification pertain to **ocean** pH levels anticipated in the next century and beyond, the common belief that human-generated CO₂ has already reduced the ocean pH to harmful levels for calcifying organisms is not yet justified, rather, it is clear that today's ocean pH has no general adverse effect on the behaviour of our principle calcifiers, whether protist, animal, plant, unicellular or multicellular, which in many cases, where the tests have been done, showed a positive response to today's less alkaline (but **described** as 'acidified') oceanic pH conditions. The words we use really matter. To understand what "truth" means, we need to understand how people use words to define, measure, and explain it (Marshall, 2015; Stoknes, 2015; Harford, 2021).

For instance, Marshall (2015) notes that scientists use words like "uncertainty" differently to the lay public. To avoid any thoughts of scientific uncertainty becoming a primary issue in this debate, we wish to quote from Moore *et al.* (2023) and re-emphasise that in relation to 'ocean acidification', "...The **uncertainty** lies in the doubts that exist about the **future date** at which the oceans will become acidified to the point at which calcifiers are grossly adversely affected by oceanic pH. Will it be 2050 AD, 2100 AD or 2150 AD? In contrast, it is **certain** that calcifiers in their natural environments will be adversely affected ... [at] ... pH levels ... that the experimenters choose to use in their laboratory experiments on the topic. It is equally **certain** that today's ocean pH has no general adverse effect on the behaviour of our principle calcifiers...". The words that are used define the interpretation.

And finally, grave warnings about the dire effects of 'ocean acidification' on bivalve calcifiers **all** ignore the fact that a broad range of calcifiers, particularly molluscs that are the best candidates for cultivation, have lifestyles and physiologies that have evolved over many millions of years to cope with the brutal conditions they experience within their shells, caused by the twice daily tidal changes in their coastline habitats (discussed in Section 6 above).

8. The problems with engineering-based Carbon Capture, Utilization, and Storage (CCS or CCUS) techniques

There is clearly a widely held view that the actions we can take to address climate change include (1) reducing fossil fuel use in favour of renewable energy sources; (2) planting trees and conserving/enhancing other photosynthetic plantations, such as peatlands, seagrass meadows and kelp forests; (3) Carbon Capture, Utilization, and Storage, which is the active capture of CO₂ emitted by power plants and industrial facilities to prevent it from entering the atmosphere. There are severe problems with this popular opinion.

We are great believers in planting trees (*etc.*) to restore destroyed forest (*etc.*) ecosystems, and, truly, trees, *Sphagnum* mosses, sedges, or kelp will absorb CO₂ from the atmosphere to build their biomass. But don't expect them to sequester that captured carbon for any serious length of time, say a million years or so. Photosynthetic plants only store captured carbon while they remain alive. With a few notable exceptions, like bristlecone pines, most forest trees live for 200 to 300 years (Stevens, 2020), kelp lifespan is up to 7 years (<https://oceaninfo.com/plants/kelp/>), individual seagrass plants (a flowering plant) will have

a similar lifetime, but the clones they produce may live for several thousand years. Peat is already partly decomposed biomass which only remains as such while flooded and anoxic.

Generally, when a tree, seagrass plant or kelp thallus dies, it is quickly broken down by detritus feeders and hordes of microbes, releasing all the sequestered carbon back into the environment, eventually, as respiratory CO₂. However, a unique aspect of calcifying organisms is that when they die, either naturally or through harvesting as food, they leave behind their calcium carbonate shells, coccoliths or tests as a legacy of sequestered carbon which over geological time, say a few hundred million years, might eventually compact and solidify into fossiliferous limestone. That's permanent sequestration [https://en.wikipedia.org/wiki/Carbon_sequestration]. And to make it happen, the bivalve farmer need do nothing beyond avoiding the shells being incinerated as food waste by returning them to the ocean.

If, as our critics claim (Boyd *et al.*, 2024; Pernet *et al.*, 2024) "...There is currently no evidence challenging the idea that bivalve aquaculture acts as a source of CO₂. In fact, ... bivalve farms are net CO₂ sources..." then there can be no more fossiliferous limestone on this planet. A sad loss after half a billion years of such deposits. We would, of course, counter this Pernet *et al.* (2024) opinion with the recommendation that, with over 80% of the world's shellfish and alga production, they should look to the reasons China is so clearly keen to take advantage of shellfish farming's associated blue carbon markets (Feng *et al.*, 2023; Guo & Nie, 2024; He *et al.*, 2024; Yu *et al.*, 2025, and references therein). We note the evaluation of Feng *et al.* (2023) who, using China as a case study, state that,

"... The carbon in shells and the carbon that enters sediments via bio-deposition are long-lived forms of carbon..." and go on to say that "... a total of 5.64 Gt CO₂-eq, accounting for 17.63% of the total emissions in 2020, can be potentially sequestered at the global scale under the world's largest farming area scenario..." (Feng *et al.*, 2023).

Further decisive support for bivalve farming as a biotechnological solution to removing carbon from the atmosphere is found in the following quotation from the abstract of He *et al.* (2024),

"... Therefore, we definitively conclude that mussel farming is blue carbon positive and propose a new alternative theory that mussel farming areas may have high carbon sequestration potential via an ecologically integrated "3 M" (microalgae–mussel–microbiota) consortium. The "mussel pump" accelerates carbon sequestration and enhances climate related ecosystem services ..." (He *et al.*, 2024).

While Yu *et al.* (2025) concluded that,

"... Although there is a positive correlation between production volume and carbon sink efficiency, further improvements are constrained by the sector's low profitability. To address this, we propose two strategies, (1) reallocating subsidies from capture fisheries to mollusk mariculture, and (2) accelerating carbon trading between mollusk mariculture and other industries. These measures could enable the global mollusk mariculture to enhance both its carbon sink capacity and efficiency, contributing to food security and climate change mitigation..." (Yu *et al.*, 2025).

Dismissal of a time-proved **biotechnological** method of effective carbon capture (Boyd *et al.*, 2024; Pernet *et al.*, 2024) can only be interpreted as implicit support for engineering-based approaches to carbon capture (CCS or CCUS). Regrettably, most current carbon capture projects are focused on capturing emissions from processing CO₂-rich fossil gas. According to a new report by *Oil Change International* (Stockman *et al.*, 2024), the captured CO₂ is most often injected underground **to enhance oil recovery**, which inevitably eventually leads to additional anthropogenic CO₂ emissions and related pollutants.

Originally developed in the 1970s to boost oil production, carbon capture continues to serve this primary purpose. It has minimal impact on reducing emissions and extends the lifespan of polluting energy sources. Quoting the first two sentences of the *Introduction* to this report,

“... Despite 50 years of development and an estimated USD 83 billion in investments since the 1990s, carbon capture has failed to make a dent in carbon emissions. Carbon capture projects consistently fail, overspend, or underperform.” (Stockman *et al.*, 2024).

We estimate that the total mass of bivalve shellfish cultivated globally since 1990 (to the present day) to have been in the region of 400 million tonnes. On average, about half of the mass harvested will have been human food. Using recent reports, the estimated global market value of 400 million tonnes of bivalve shellfish (oysters, clams, mussels, and scallops) would be around USD 786 billion, which, of course, pays for the whole operation. The “food waste” from 400 million tonnes of bivalve shellfish is, on average, 200 million tonnes of shell, the calcium carbonate of which was made from atmospheric carbon dioxide. Thanks to photosynthesis, environmental carbon dioxide is the prime source of organic carbon on this planet (https://en.wikipedia.org/wiki/Carbon_cycle). That’s why this “food waste” should **not** be disposed of by incineration.

Today’s calcifiers can be immediately utilised to provide us with abundant, ocean-cultivated nutritious food. They also permanently sequester CO₂ from the atmosphere, storing at least half their mature body mass as limestone shells in the oceans. In their review of the benefits and trade-offs from natural climate solutions (NCS) in terms of the achievement of the UN’s Sustainable Development Goals (SDGs), Mariani *et al.* (2024) illustrate how natural solutions can inhibit the achievement of an SDG target with the following aquaculture example,

“... NCSs can inhibit the achievement of certain SDG targets, through trade-offs involving factors on which local people depend (e.g. avoiding mangrove conversion into aquaculture ponds can conflict with food production ...)” (Mariani *et al.*, 2024).

Unfortunately, this is the only instance of the word ‘aquaculture’ in this otherwise extensive review and as the words ‘bivalve’ or ‘mollusc/mollusk’ don’t appear at all, the opportunity of appreciating the benefits that accrue from the wide range of ecosystem services that the natural climate solution of bivalve cultivation is lost to this analysis (see Smaal *et al.*, 2019; Moore *et al.*, 2022a).. In fact the benefits provided by bivalve ecosystems align well with the UN’s SDGs, specifically, SDG-2 (Zero hunger), SDG-3 (Good health and well-being; which are encompassed by the healthy food, reef-building, and pollution-filtration services of cultivated shellfish), SDG-12 (Responsible consumption and production), SDG-13 (Climate action), and SDG-14 (Life below water), all of which are detailed in Table 4 of Moore *et al.*,

2022b). Of particular note is the way healthy bivalve reefs, whether cultivated or wild, can deal with run-offs of excess agricultural nitrogenous nutrients that cause algal blooms in coastal zones polluted in this way.

“Through their filtering of water, bivalves remove a proportion of the phytoplankton that in large concentrations otherwise is part of the negative effects of excess nutrient loading. By clearing the water column of particles, bivalves contribute to reductions in turbidity and concentrations of particulate organic nutrients, like nitrogen and phosphorous ... The filtered material is either not ingested and ejected as pseudo-faeces or is ingested and digested, then transformed into bivalve tissue or faecal material that settles in proximity of the bivalves. Nutrients in the ingested material that is transformed into bivalve tissue are immobilized, hence temporarily not accessible for primary production. If the bivalves are removed from the water column, e.g. through harvest, the nutrients are permanently made inaccessible. The material ejected as faeces or pseudo-faeces can enter nutrient cycles that may result in either permanent burial in the sediment or removal through chemical processes; i.e. denitrification. Both processes will result in a nutrient extraction service provided by the bivalves that potentially can be used as a mitigation tool by managers seeking means of remediating effects of excess nutrient loading to coastal ecosystems. This can be realized as either bivalve aquaculture or by promoting or restoring natural bivalve populations...” (Petersen *et al.*, 2019).

In fact, commercially grown bivalves are the only sustainable form of human food that has no negative impact on the environment [<https://www.eco-business.com/opinion/sustainable-shellfish-aquaculture/>]. This is because bivalve molluscs offer several ecosystem services that add value to their environment beyond their food value. These additional bivalve ecosystem services in the habitat restoration context have been listed (National Research Council, 2010) as,

- Turbidity reduction by filtration (as mentioned above, Petersen *et al.*, 2019).
- Biodeposition of organics containing plant nutrients.
- Induction of denitrification associated with organic deposition.
- Sequestration of carbon
- Provision of structural habitats (reef structures) that promote diversity of fish, crustacea and other organisms.
- Habitat and shoreline stabilization.

Jacquet *et al.* (2017) add these advantages of bivalve farming to the above list,

- Bivalves don't require feeding.
- Bivalves build food security.
- Bivalve welfare is not as serious a concern as it is for terrestrial farm animals (i.e. bivalve cultivation is more ethical).

To which we would add, that beyond providing food for humans, bivalve farming can also supply high quality feed supplements for terrestrial livestock and even replace controversial forage fish still used in aquafeed for farmed fish and shrimp (Heilweck, 2022; Moore & Heilweck, 2022).

Carranza & zu Ermgassen (2020) call bivalve cultivation *restorative shellfish mariculture* (RSM), which they define,

“...as the farming of marine shellfish, implying some form of intervention during the species life cycle, in order to address negative socio-ecological issues arising from the unsustainable use of marine ecosystems ...”

To take full advantage of the services that bivalve cultivation can provide to the marine ecosystem, we must also change the paradigm; from shellfish farming for food to shellfish farming for whole-planet ecosystem repair and restoration (Moore *et al.*, 2022c). Take the food represented by shellfish meat as a byproduct from the production of shell and leave or return the shell to the seabed from which it was harvested. Thus, bringing bivalve farming into a comparison between co-benefits of, and trade-offs between, the UN's Sustainable Development Goals allows us to argue that implementation of this natural climate solution allows us to rephrase the core SDG principle of “leave no-one behind” as “move forward together”.

9. Conclusion

In conclusion we restate our firm belief in the biotechnological potential of today's calcifiers for CO₂ sequestration over geological periods of time and link this with the conclusion that the world's aquaculture industries already operate the biotechnology that, **with massive and immediate global expansion**, can sustainably control atmospheric CO₂ levels at reasonable cost (Moore *et al.*, 2023).

In contrast, Boyd *et al.* (2024) opine,

“...We consider proponents of these methods to have an incomplete or incorrect grasp not only of how the ocean carbon cycle functions, but also the up-scaling needed to provide significant climatic benefits...”

We appreciate the admission that “...significant climatic benefits...” are there to be had. However, we believe the **biotechnological** approach is an achievable Grand Challenge that does not require revolutionary and costly engineering, geological or atmospheric interference, nor drastic societal changes; instead, market forces, and particularly in markets for carbon credits, are key to making the polluter pay. If you doubt that humans can achieve the necessary “...significant climatic benefits...” in a reasonable timeframe, consider the story of the oil well. When Edwin Drake drilled the **first** successful oil well in 1859 in Titusville, Pennsylvania, the endeavour was dubbed ‘Drake's Folly’ and Drake himself ‘Crazy Drake.’ Yet, the well soon produced as much oil in a few days as a whaling ship could gather in a four-year voyage [<https://todayinconservation.com/2018/07/august-27-first-oil-well-drilled-1859/>]. We've been burning it ever since, and now look where Crazy Drake has got us!

Our crazy shellfish farmers, “...could restore the atmosphere to the state that existed in 1859 during the next 160 years. All it takes is calcifier cultivation at the **scale**, with the **zeal**, and at the **cost** we have lately so readily and assiduously devoted to ripping fossil fuels out of the Earth...” (Moore, 2023).

Acknowledgments

DM would like to acknowledge, and thank sincerely, Alastair Bain McDonald for fruitful discussions of the 'Garrels reaction' and chemical weathering of rocks.

Author contributions and affiliations

The authors contributed equally to the content of the manuscript. DM was responsible for writing and word processing. The authors retired from academia and industry and have no current institutional affiliations. ORCID IDs, Matthias Heilweck <https://orcid.org/0009-0008-2097-2209>; David Moore <https://orcid.org/0000-0003-3968-0587>.

Conflict of interest

The authors declare no conflicts of interest.

Funding

This work was conducted without external funding, relying solely on our own resources.

References

Bai, X., Zhang, S., Smith, P., Li, C., Xiong, L., Du, C., Xue, Y., Li, Z., Long, M., Li, M., Zhang, X., Yang, S., Luo, Q., Shen, X., 2024. Resolving controversies surrounding carbon sinks from carbonate weathering. *Sci. China Earth Sci.* 67 (9), 2705-2717. <https://doi.org/10.1007/s11430-024-1391-0>.

Boyd, P.W., Gattuso, J.-P., Hurd, C. L., Williamson, P., 2024. Limited understanding of basic ocean processes is hindering progress in marine carbon dioxide removal. *Environ. Res. Lett.* 19, 061002. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/ad502f>.

Byrne, H.M., Green, J.A.M., Balbus, S.A., Ahlberg, P.E., 2020. Tides, A key environmental driver of osteichthyan evolution and the fish-tetrapod transition? *Proc. Math. Phys. Eng. Sci.* 476, article number 20200355. <http://doi.org/10.1098/rspa.2020.0355>.

Carranza, A. & zu Ermgassen, P.S.E., 2020. A global overview of Restorative Shellfish Mariculture. *Front. Mar. Sci.* 7, article 722. <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.00722>.

Connell, S.D., Doubleday, Z.A., Hamlyn, S.B., Foster, N.R., Harley, C.D.G., Helmuth, B., Kelaher, B.P., Nagelkerken, I., Sarà, G., Russell, B.D., 2017. How ocean acidification can benefit calcifiers. *Curr. Biol.* 27, R95-R96. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2016.12.004>.

Doney, S.C., Fabry, V.J., Feely, R.A., Kleypas, J.A., 2009. Ocean acidification, the other CO₂ problem. *Ann. Rev. Mar. Sci.* 1, 169-192. <https://doi.org/10.1146/annurev.marine.010908.163834>.

Döös, K., Nilsson, J., Nycander, J., Brodeau, L., Ballarotta, M., 2012. The World ocean thermohaline circulation. *J. Phys. Oceanogr.* 42, 1445-1460. <https://doi.org/10.1175/JPO-D-11-0163.1>.

Ehrlich, H.L., Newman, D.K., Kappler, A., 2021. Ehrlich's Geomicrobiology, 6th ed. CRC Press (Taylor & Francis Group), Boca Raton, USA.

Evans, J.S., 2019. The biomineralization proteome, protein complexity for a complex bioceramic assembly process. *Proteomics* 19, article number 1900036. <https://doi.org/10.1002/pmic.201900036>.

Feng, J.-C., Sun, L., Yan, J., 2023. Carbon sequestration via shellfish farming, A potential negative emissions technology. *Renew. Sust. Energ. Rev.* 171, article number 113018. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2022.113018>.

Gadd, G.M., 2007. Geomycology, biogeochemical transformations of rocks, minerals, metals and radionuclides by fungi, bioweathering and bioremediation. *Mycol. Res.* 111, 3-49. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2006.12.001>.

Gal, A., Sorrentino, A., Kahil, K., Pereiro, E., Faivre, D., Scheffel, A. 2018. Native-state imaging of calcifying and noncalcifying microalgae reveals similarities in their calcium storage organelles. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 115, 11000-11005. <https://doi.org/10.1073/pnas.1804139115>.

Garrels, R.M., 1965. Silica, Role in the Buffering of Natural Waters. *Science.* 148, 69–69. <https://doi.org/10.1126/science.148.3666.69>.

Gattuso, J.-P., Frankignoulle, M., Smith, S.V., 1999. Measurement of community metabolism and significance in the coral reef CO₂ source-sink debate. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 96, 13017–13022. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.23.13017>.

Gazeau, F., Parker, L.M., Comeau, S., Gattuso, J.-P., O'Connor, W.A., Martin, S., Pörtner, H.-O., Ross, P.M., 2013. Impacts of ocean acidification on marine shelled molluscs. *Mar. Biol.* 160, 2207-2245. <https://doi.org/10.1007/s00227-013-2219-3>.

Gimin, R., Mohan, R., Thinh, L.V., Griffiths, A.D., 2004. The relationship of shell dimensions and shell volume to live weight and soft tissue weight in the mangrove clam, *Polymesoda erosa* (Solander, 1786) from northern Australia. *NAGA, WorldFish Center Quarterly.* 27, Nos. 3 and 4, Jul-Dec 2004. Permalink URL: <https://hdl.handle.net/20.500.12348/2026>.

Guo, S., Nie, H., 2024. Estimation of mariculture carbon sinks in China and its influencing factors. *J. Mar. Sci. Eng.* 12, 724. <https://doi.org/10.3390/jmse12050724>.

Harford, T. 2021. *How to Make the World Add Up, Ten Rules for Thinking Differently About Numbers.* The Bridge Street Press, London.

He, J., Tao, Y., Shao, S., Wei, H., Yan, G., Tang, C., Feng, J., Li, M., Liao, Z., Zhang, X., Tang, C., Buttino, I., Wang, J., Zhu, Z., Yan, X., 2024. The hidden acceleration pump uncovers the role of shellfish in oceanic carbon sequestration. *Sci. Total Environ.* 951, article number 175699. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.175699>.

Heilweck, M. (2022). The High Seas solution. In: Moore D., Heilweck M., Petros. P., (Eds), *Aquaculture, Ocean Blue Carbon Meets UN-SDGS*, Springer, Cham, pp. 97-130 https://doi.org/10.1007/978-3-030-94846-7_4.

Heilweck M., Moore D., 2021. Saving the planet with appropriate biotechnology, 3. The high seas solution/Salvando el planeta con biotecnología apropiada, 3. La solución de alta mar. *Mex. J. Biotechnol.* 6 (1), 92-128. <https://doi.org/10.29267/mxjb.2021.6.1.92>.

Heilweck, M., Moore, D. Fears, W.B., Petros, P., Squires, S.J., Tamburini, E., Waldron Jr., R.P., 2023. An assessment of the potential value for climate remediation of ocean calcifiers in sequestration of atmospheric carbon. In, Flores-Martínez, J.J., (Ed.). Prime Archives in Environmental Research, 2nd Edition, Vide Leaf. Hyderabad, India. Book URL, <https://videleaf.com/product/prime-archives-in-environmental-research-2nd-edition/>. Chapter URL, <https://tinyurl.com/2a689yxr>.

Jacquet, J., Sebo, J., Elder, M., 2017. Seafood in the future, bivalves are better. *Solutions J.* 8, 27–32. URL, <https://thesolutionsjournal.com/seafood-future-bivalves-better/>.

Kawahata, H., Fujita, K., Iguchi, A., Inoue, M., Iwasaki, S., Kuroyanagi, A., Maeda, A., Manaka, T., Moriya, K., Takagi, H., Toyofuku, T., Yoshimura, T., Suzuki, A., 2019. Perspective on the response of marine calcifiers to global warming and ocean acidification - behavior of corals and foraminifera in a high CO₂ world “hot house”. *Prog. Earth Planet. Sci.* 6, article 5 (37 pp). <https://doi.org/10.1186/s40645-018-0239-9>.

Kirtzel, J., Siegel, D., Krause, K., Kothe, E., 2017. Stone-eating fungi, mechanisms in bioweathering and the potential role of laccases in black slate degradation with the basidiomycete *Schizophyllum commune*. In: Sariaslani, S., Gadd, G.M. (Eds). *Advances in Applied Microbiology*, 99, pp. 83-101. <https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2017.01.002>.

Kroeker, K.J., Kordas, R.L., Crim, R., Hendriks, I.E., Ramajo, L., Singh, G.S., Duarte, C.M., Gattuso, J.P. 2013. Impacts of ocean acidification on marine organisms, quantifying sensitivities and interaction with warming. *Glob. Chang. Biol.* 19, 884-1896. <https://doi.org/10.1111/gcb.12179>.

Mariani, G., Moullec, F., Atwood, T.B., Clarkson, B., Conant, R.T. and 18 others, 2024. Co-benefits of and trade-offs between natural climate solutions and Sustainable Development Goals. *Front. Ecol. Environ.* e2807. <https://doi.org/10.1002/fee.2807>.

Marie, B., Arivalagan, J., Mathéron, L., Bolbach, G., Berland, S., Marie, A., Marin, F., 2017. Deep conservation of bivalve nacre proteins highlighted by shell matrix proteomics of the *Unionoida Elliptio complanata* and *Villosa lienosa*. *J. R. Soc. Interface*, 14, article number 20160846. <https://doi.org/10.1098/rsif.2016.0846>.

Marshall, G., 2015. *Don't Even Think About It, Why Our Brains Are Wired to Ignore Climate Change*. Bloomsbury Publishing Plc, New York.

McCulloch, M., Falter, J., Trotter, J., Montagna, P., 2012. Coral resilience to ocean acidification and global warming through pH up-regulation. *Nat. Clim. Chang.* 2, 623-627. <https://doi.org/10.1038/nclimate1473>.

McDonald, A. 2020. Increase in CO₂ during the Last Termination explained by a new inorganic carbon cycle. *European Geosciences Union (EGU) General Assembly 2020*, published online, 4–8 May 2020, EGU2020-19047. <https://doi.org/10.5194/egusphere-egu2020-19047>.

Moore, D., 2020. A biotechnological expansion of shellfish cultivation could permanently remove carbon dioxide from the atmosphere/Una ampliación biotecnológica del cultivo de moluscos bivalvos podría eliminar permanentemente el dióxido de carbono de la atmósfera. *Mex. J. Biotechnol.* 5 (1), 1-10. <https://doi.org/10.29267/mxjb.2020.5.1.1>.

Moore, D., 2021. Saving the planet with appropriate biotechnology, 4. Coccolithophore cultivation and deployment/Salvando el planeta con biotecnología apropiada, 4. Cultivo de cocolitóforos e implementación. *Mex. J. Biotechnol.* 6 (1), 129-155. <https://doi.org/10.29267/mxjb.2021.6.1.129>.

Moore, D., 2023. A shellfish manifesto for sequestering atmospheric carbon in quantity. *Environmental Sciences and Ecology, Current Research*, 4, 1083. URL for PDF, <https://www.corpuspublishers.com/assets/articles/esecr-v4--23-1083.pdf>.

Moore, D., Heilweck, M., 2022. Aquaculture, prehistoric to traditional to modern. In: Moore, D., Heilweck M., Petros, P. (Eds). *Aquaculture, Ocean Blue Carbon Meets UN-SDGS*. pp. 65-95. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-94846-7_3.

Moore, D., Heilweck, M., Fears, W.B., Petros, P., Squires, S.J., Tamburini, E. & Waldron Jr., R.P., 2023. Potential of ocean calcifiers to sequester atmospheric carbon in quantity and even reverse climate change. *Fish. Res.* 7 (1), article 132. URL, <https://tinyurl.com/5am8tdhu>.

Moore, D., Heilweck, M., Petros, P., 2021. Saving the planet with appropriate biotechnology, 2. Cultivate shellfish to remediate the atmosphere/Salvando el planeta con biotecnología apropiada, 2. Cultivar mariscos para remediar la atmósfera. *Mex. J. Biotechnol.* 6 (1), 31-91. <https://doi.org/10.29267/mxjb.2021.6.1.31>.

Moore, D., Heilweck, M., Petros, P., (Eds) 2022a. *Aquaculture, Ocean Blue Carbon Meets UN-SDGS*. Springer, Cham. URL: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-030-94846-7>.

Moore, D., Heilweck, M., Petros, P., 2022b. Diagnosing the problem. In: Moore D., Heilweck M., Petros, P., (Eds), *Aquaculture, Ocean Blue Carbon Meets UN-SDGS*, pp. 1-34. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-94846-7_1.

Moore, D., Heilweck, M., Petros, P., 2022c. Planetary bioengineering on Earth to return and maintain the atmospheric carbon dioxide to pre-industrial levels, Assessing potential mechanisms. *Front. Astron. Space Sci.* 9, 797146. <https://doi.org/10.3389/fspas.2022.797146>.

Murphy, D.J. 2024. Biological carbon sequestration, from deep history to the present day. *Earth.* 5 (2), 195-213. <https://doi.org/10.3390/earth5020010>.

National Research Council, 2010. Ecosystem services of bivalves, implications for restoration. In: *Ecosystem concepts for sustainable bivalve mariculture*, pp 123–132. Report of the Committee on Best Practices for Shellfish Mariculture. The National Academies Press, Washington, DC. <https://doi.org/10.17226/12802>.

- Nithiyaa, N., Ho, A.X., Norhanis, M.R., Zulfigar, Y., Aileen Tan, S.H., 2021. The effect of acidified seawater on shell characteristics of blood cockle, *Tegillarca granosa*. J. Surv. Fish. Sci. 7, 133-142. <https://sifisheressciences.com/index.php/journal/article/view/127/113>.
- Nordling, L., 2023. Can oyster farming help save the planet? Nature, 620, 690–690. <https://doi.org/10.1038/d41586-023-02560-2>.
- Ohno, Y., Iguchi, A., Shinzato, C., Inoue, M., Suzuki, A., Sakai, K., Nakamura, T. 2017. An aposymbiotic primary coral polyp counteracts acidification by active pH regulation. Sci. Rep. 7, 40324. <https://doi.org/10.1038/srep40324>.
- Orr, J. C., Fabry, V.J., Aumont, O., and 24 others, 2005. Anthropogenic ocean acidification over the twenty-first century and its impact on calcifying organisms. Nature, 437, 681-686. <https://doi.org/10.1038/nature04095>.
- Pernet, F., Dupont, S., Gattuso, J.-P., Metian, M., Gazeau, F., 2024. Cracking the myth, Bivalve farming is not a CO₂ sink. Rev. Aquac. 1-13. <https://doi.org/10.1111/raq.12954>.
- Petersen, J.K., Holmer, M., Termansen, M., Hasler, B., 2019. Nutrient extraction through bivalves. In: Smaal, A., Ferreira, J., Grant, J., Petersen, J., Strand, Ø. (Eds), Goods and Services of Marine Bivalves pp. 179-208. Springer Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-96776-9_10.
- Petros, P., Heilweck, M., Moore, D., 2021. Saving the planet with appropriate biotechnology, 5. An action plan/Salvando el planeta con biotecnología apropiada, 5. Un plan de acción. Mex. J. Biotechnol. 6 (2), 1-60. <https://doi.org/10.29267/mxjb.2021.6.2.1>.
- Seed, R., 1968. Factors influencing shell shape in the mussel *Mytilus edulis*. J. Mar. Biolog. Assoc. U.K. 48, 561-584. DOI, <https://doi.org/10.1017/S0025315400019159>.
- Seed, R., 1980. Shell growth and form in the Bivalvia. In: Rhoads, D.C. (Ed.), Skeletal Growth of Aquatic Organisms, Biological Records of Environmental Change, pp. 23-68. Springer Science+Business Media, New York.
- Shibuya, T., Tahata, M., Kitajima, K., Ueno, Y., Komiya, T., Yamamoto, S., Igisu, M., Terabayashi, M., Sawaki, Y., Takai, K., Yoshida, N., Maruyama, S., 2012. Depth variation of carbon and oxygen isotopes of calcites in Archean altered upperoceanic crust, Implications for the CO₂ flux from ocean to oceanic crust in the Archean. Earth Planet. Sci. Lett. 321–322, 64-73. <https://doi.org/10.1016/j.epsl.2011.12.034>.
- Smaal, A., Ferreira, J., Grant, J., Petersen, J., Strand, Ø. (Eds), 2019. Goods and Services of Marine Bivalves. Springer, Cham. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-96776-9>.
- Stevens, A.P., 2020. The faster trees grow, the younger they die. Science News Explores website. URL: <https://www.snexplores.org/article/faster-tree-growth-younger-death>.
- Stockman, L., Douo, M., van der Burg, L., *et al.* (2024). Funding Failure, Carbon Capture and Fossil Hydrogen Subsidies Exposed. Oil Change International [<https://oilchange.org/>], Washington, DC; USA, URL: <https://oilchange.org/publications/funding-failure-carbon-capture-and-fossil-hydrogen-subsidies-exposed/>.

Stoknes, P. E., 2015. What We Think about When We Try Not to Think about Global Warming, Toward a New Psychology of Climate Action. Chelsea Green Publishing Co, White River Junction, VT, USA.

Yu, L., Zhu, J., Guan, X., Zhai, L., Zhao, Z., Mu, Y., Liu, T. (2025). Carbon sink efficiency of Chinese mollusk mariculture. *Aquaculture*, 741781. Pre-proof online 19 October 2024. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2024.741781>.

Zeebe, R.E., Wolf-Gladrow, D.A. (Eds), 2001. CO₂ in seawater, Equilibrium, kinetics, isotopes. Elsevier Oceanography Series, Vol. 65. Amsterdam. URLs, <https://www.sciencedirect.com/bookseries/elsevier-oceanography-series/vol/65/suppl/C> and https://www.soest.hawaii.edu/oceanography/faculty/zeebe_files/Publications/ZeebeWolfEnclp07.pdf.



Innovation is driving the production of pulquero agave

La innovación está impulsando la producción del agave pulquero

Gustavo Viniegra-González*

Departamento de Biotecnología, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Unidad Iztapalapa, Universidad Autónoma Metropolitana.

*Corresponding author

E-mail address: vini@xanum.uam.mx (G. Viniegra-González)

ABSTRACT

The agave, or maguey, has been cultivated for centuries in Mexico using a system called "metepantle" (from the Nahuatl *metl*, agave, and *pantli*, barrier or row). By the late 19th century, plantations of pulquero agave covered more than 200,000 hectares (ha). Currently, only 10,000 ha are cultivated, producing slightly more than 150 million liters of aguamiel (the sap of the agave), which is transformed through fermentation into pulque (*octli*). For more than 50 years, a gradual process of innovation has been underway to diversify the products derived from pulquero agave. This includes the pasteurization of pulque, the creation of new alcoholic beverages, and the use of agave leaves (*pencas*) for making fodder and textiles (such as *ixtle*). These innovations are expanding the market for pulquero agave and benefiting tens of thousands of families in semi-arid regions. This text describes these innovations, focusing on the integral and sustainable utilization of pulquero agave and its derivatives.

Keywords: innovation, pulquero agave, agave byproducts

RESUMEN

El agave o maguey ha sido cultivado por siglos en México usando un sistema llamado "metepantle" (*metl*, agave; *pantli*, barrera o fila). A fines del siglo XIX, las plantaciones de agave pulquero sumaban más de 200 mil hectáreas (ha). Ahora, sólo se cultivan 10 mil ha con una producción un poco mayor de 150 millones de litros de aguamiel (savia del agave) que es transformada por fermentación en pulque (*octli*). Desde hace más de 50 años se inició un lento proceso de innovación para diversificar los derivados del agave pulquero. Esto incluye: la pasteurización del pulque, nuevas bebidas alcohólicas y el aprovechamiento de las *pencas* para fabricar forrajes y textiles (*ixtle*). Estas innovaciones aumentarán el mercado del

agave pulquero y beneficiarán a decenas de miles de familias en zonas semidesérticas. Aquí se describen dichas innovaciones, orientadas al aprovechamiento integral y sostenible del agave pulquero y sus derivados.

Palabras clave: innovación, agave pulquero, subproductos del agave

Del aguamiel al pulque

El pulque es una bebida muy antigua que a fines del siglo XIX se producía en más de 200 mil hectáreas (ha) y ahora sólo se producen algo más de 150 millones de litros en 10 mil ha. Se obtiene de ciertos magueyes o agaves llamados *pulqueros* (*Agave salmiana*, *A. mapisaga*, *A. atrovirens* y *A. americana*) de hoja larga, gruesa y ancha; muy diferentes de otros magueyes, como: el *espadín* (*A. angustifolia*), el *tequilero* (*A. tequilana*), el *ixtlero* (*A. lechuguilla*) o el *henequenero* (*A. foucroydes*); de hojas delgadas, más cortas y estrechas. Los agaves pulqueros tienen un meollo rico en azúcares, necesarios para alimentar el asta floral o *quiote*, del cual saldrán las flores y las semillas para futuras plantas. Si se corta (*capa*) el quiote recién nacido, se obtendrá un jugo dulce llamado “aguamiel”, compuesto de soluciones de: azúcares fermentables, aminoácidos y unos polímeros de fructosa llamados *fructanos*. En el aguamiel prosperan por igual, levaduras que producen alcohol y bacterias lácticas que producen el ácido láctico, parecido al de la leche agria o *jocoque*. Esa acidez, junto con unas gomas viscosas llamadas *dextranos*, le dan el gusto característico a esta bebida. La zona pulquera principal está en el Altiplano formado por parte de los estados de: México, Hidalgo, Tlaxcala y Puebla y la forma tradicional de cultivo se llama *metepantle*, consistente en franjas intercaladas de milpa y de agaves (Fig. 1). En una ha de metepantle se plantan escalonadamente, de 25 en 25, hasta 250 agaves que permitirán producir anualmente 10 mil litros de pulque, los cuales, bien vendidos, generan ingresos mayores de \$100,000 por ha. Cómo los magueyes resisten las sequías, la producción artesanal de pulque es un recurso económico muy valioso para más de 5 mil familias de esa zona, poseedoras en promedio de 2 ha por familia. En el siglo pasado surgió en México la industria cervecera que utiliza la cebada del Altiplano para sus fábricas y la compra pagando menos de \$15,000 por ha, en una superficie de 250,000 ha que, en su mayoría, ha excluido la producción de pulque, porque la industria cervecera tiene mayor capacidad financiera, comercial y política que la industria pulquera, aunque es una bebida con igual contenido alcohólico que el pulque, pero, embotellada con gas, se conserva indefinidamente. En cambio, el pulque, en su forma tradicional perece en pocos días, haciéndolo vulnerable para competir con la cerveza. Desde hace más de medio siglo, los productores de pulque han buscado distintas formas para transformar su industria y algunos de ellos están logrando innovaciones que les permitirán coexistir y progresar en forma paralela a la industria cervecera. Aquí se presentan las innovaciones más prácticas y sencillas cuyo uso creciente puede ampliar mucho los beneficios derivados de los metepantles.



Fig.1. *Metepantle* en la empresa Pulmex de Nanacamilpa de Mariano Arista, Tlaxcala, donde se alternan maíz y agave pulquero (con el permiso del Sr. Cenobio Becerra). Tomado de <https://invdes.com.mx/los-investigadores/el-metepantle-y-elcambio-climatico/>

Innovación en las bebidas del agave pulquero

La pasteurización fue inventada por Louis Pasteur hace más de siglo y medio y consiste en calentar y enfriar rápidamente una bebida para matar la mayor parte de los microorganismos suspendidos en ella. El pulque pasteurizado ya se vende a través de dos marcas registradas y permite su exportación y venta en territorios donde no se produce. El equipo de pasteurización del pulque es fabricado y vendido en México y se parece al equipo de pasteurización de la leche (Fig. 2). Esta alternativa puede ser de gran importancia práctica para aumentar el consumo de pulque y seguramente va a generar nuevas marcas de alcance nacional e internacional.



Fig. 2. Batería de pasteurizadores industriales de pulque fabricados por AMG Industrial. Tomado de www.amgindustrial.com.

Por otra parte, los excedentes no vendidos del pulque se pueden destilar, junto con las mieles fermentadas producidas por cocimiento del *mezontete* o meollo residual hueco, cocidas junto con las partes gruesas de las pencas. Estos destilados del agave pulquero se venden como licores similares al tequila y al mezcal, duplicando la rentabilidad de la producción del agave pulquero. Esta práctica también se está extendiendo en las zonas pulqueras.

En 2005 se solicitó ante el Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial la patente MXJL05000047A para producir un análogo de la cerveza a partir de la fermentación de mieles pasteurizadas de agaves, sean pulqueros o no, inoculadas con levadura, adicionadas de flor de lúpulo y embotelladas con gas. Esta patente será del dominio público en 2025. Dicha “cerveza” tiene la ventaja, frente a la cerveza convencional fabricada con malta de cereales, de contener fructanos que mejoran la salud y estar libre de gluten, que en la cerveza convencional está formado por las proteínas derivadas de la cebada, poco toleradas por el 10% de la población. A la fecha, hay por lo menos tres marcas comerciales de este análogo de cerveza, todas ellas producidas por la fermentación de mieles de agaves, tequilero o mezcalero. Todavía no aparece una marca de cerveza elaborada con aguamiel del agave pulquero. En todo caso, se va a requerir un desarrollo práctico para darle el sabor y aroma que sean del gusto del consumidor.

En consecuencia, la producción de pulque pasteurizado, destilados y “cerveza” de agave pueden aumentar, considerablemente, la demanda de las bebidas alcohólicas derivadas del agave pulquero.

Forrajes y textiles del agave

Las hojas residuales de los agaves representan el 40% de su materia orgánica o biomasa. La forma tradicional de su aprovechamiento es su raspado manual para obtener fibras (*ixtle*) y el picado manual, para su consumo forrajero en forma fresca. Últimamente, se está popularizando el ensilaje o fermentación de las hojas de agave molidas con máquina, que permite conservar el forraje húmedo por varios meses. Además, se ha desarrollado una nueva máquina raspadora para las hojas de estos agaves, que suelen tener una longitud de 1 a 2 metros y un grosor en la base de 10 a 20 centímetros. El esquema de su aprovechamiento (Fig. 3), muestra que de cada tonelada de hojas se pueden obtener 40 kg de *ixtle*, el cual hilado, alcanza un precio de \$100/kg. Además, por cada tres toneladas del residuo fermentado se puede alimentar a un borrego con peso final de 45 kg. De este modo, los productores con metepantles pueden obtener una ganancia adicional por ha de \$20,000 hasta \$50,000, asociados a la venta de *ixtle* y borregos. Así, las pencas pueden proveer de materia prima a dos industrias con demanda creciente: los tejidos biodegradables de *ixtle*, sustitutivos ecológicos de los textiles de plástico no biodegradable y la demanda creciente de la barbacoa de cordero.



Fig. 3. Diagrama del procesamiento de las hojas de agave pulquero. La separación de las fibras se desarrolla mediante una máquina inventada por el Ing. Fernando Cortés Bárcenas.

Conclusión

La industria del agave pulquero tuvo una caída muy importante a partir del inicio del siglo XX. Sin embargo, está experimentando un resurgimiento debido al interés actual de los productores para innovar, desarrollando alternativas a las bebidas tradicionales y mejorando el aprovechamiento de las pencas. De esa manera, será posible sostener y ampliar la producción del agave pulquero, preservando su biodiversidad. Este resurgimiento de la industria del maguey pulquero beneficiará a decenas de miles de pequeños productores que viven expuestos a frecuentes periodos de sequía y pobreza en los Valles Altos del centro de México.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado parcialmente por el proyecto de CONAHACYT (FORDECYT/PRONACES/1312404/2022) y por el Área de Microbiología del Departamento de Biotecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana - Iztapalapa.

Referencias

Erlwein, S., Mira, T.J.R., Velasco, P.A., 2013. Proceso de elaboración del pulque, su importancia económica y concepción social en Apan, Hidalgo. Ejercicios etnográficos, aprendiendo a investigar, 59–103. <https://www.enah.edu.mx/publicaciones/documentos/32.pdf>

López-Méndez, O.X., 2021. Lorá pastelería y repostería. Consultado el 7 de diciembre de 2023. <https://youtu.be/XXx7gHjxbwI>

Ramírez-Rodríguez, R., 2018. La querrela por el pulque: auge y ocaso de una industria mexicana, 1890–1930. El Colegio de Michoacán, Michoacán, México. ISBN: 978-607-544-042-2

Rojas-Rivas, E., Viesca-González, F.C., Espeitx-Bernat, E., Quintero-Salazar, B., 2016. El maguey, el pulque y las pulquerías de Toluca, Estado de México, ¿patrimonio gastronómico turístico? PASOS. Rev. Tur. Patrim. Cult. 14 (5), 1199–1215. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=88147717010>

Sánchez-Marroquín, A., Hope-Hope, P., 1953. Agave juice fermentation and chemical composition studies of some species. J. Agric. Food Chem. 1 (3), 246–249. <https://doi.org/10.1021/jf60003a007>

Viniegra-González, G., 2021. Agave bioindustries: history and future of a strategic bioresource. Energy: Sci. Technol. Manag. 1 (1). <https://amexen.org/energy/index.php/energy/article/view/13/31>



Calcium is an essential element in the cellular processes of fungi: A review

El calcio es un elemento esencial en los procesos celulares de los hongos: Una revisión

Alejandro Chamorro-Mejía² and Carmen Sánchez^{1*}

¹Research Centre for Biological Sciences, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Ixtacuixtla, Tlaxcala, 90120, Mexico.

²Master's Degree in Biotechnology and Natural Resources Management, Autonomous University of Tlaxcala, Ixtacuixtla, Tlaxcala, 90120, Mexico.

*Corresponding author

E-mail address: carmen.sanchezh@uatx.mx (C. Sánchez)

ABSTRACT

Ca²⁺ plays a crucial role in regulating several cellular processes in fungi, including growth, differentiation, and response to environmental stress. This work focuses on the mechanisms by which calcium signaling mediates these processes and how calcium regulation affects fungal metabolism, enzymatic activity, and pathogenicity. Key findings highlight the importance of calcium channels, such as transient receptor potential (TRP) channels, and calcium-binding proteins in maintaining calcium homeostasis within fungal cells. Moreover, calcium's involvement in hyphal growth, protein secretion, and enzyme production, including cellulases and proteases, was examined. The study also explores the interaction between calcium and other ions like magnesium and potassium, which contribute to cellular regulation and fungal development. The findings have significant implications for biotechnological applications, including the optimization of fungal enzyme production for industrial processes. The regulation of calcium levels in culture media may enhance the production of bioactive compounds and improve fungal resistance to stress conditions. These insights open new avenues for industrial applications, especially in agriculture and biotechnology.

Keywords: Calcium homeostasis, calcium signaling, fungal metabolism, enzymatic regulation, stress response, signaling pathways.

RESUMEN

El Ca^{2+} juega un papel fundamental en la regulación de varios procesos celulares en los hongos, como el crecimiento, la diferenciación y la respuesta al estrés ambiental. Este trabajo se centra en los mecanismos mediante los cuales la señalización del calcio media estos procesos y cómo la regulación del calcio afecta el metabolismo fúngico, la actividad enzimática y la patogenicidad. Los hallazgos clave destacan la importancia de los canales de calcio, como los canales de potencial receptor transitorio (TRP), y las proteínas de unión al calcio en el mantenimiento de la homeostasis del calcio dentro de las células fúngicas. Además, se examinó la participación del calcio en el crecimiento de las hifas, la secreción de proteínas y la producción de enzimas, como las celulasas y proteasas. El estudio también explora la interacción entre el calcio y otros iones, como el magnesio y el potasio, que contribuyen a la regulación celular y al desarrollo fúngico. Los hallazgos tienen importantes implicaciones para las aplicaciones biotecnológicas, incluida la optimización de la producción de enzimas fúngicas para procesos industriales. La regulación de los niveles de calcio en medios de cultivo puede mejorar la producción de compuestos bioactivos y aumentar la resistencia fúngica a condiciones de estrés. Estos descubrimientos abren nuevas oportunidades para aplicaciones industriales, especialmente en la agricultura y la biotecnología.

Palabras clave: Homeostasis del calcio, señalización del calcio, metabolismo fúngico, regulación enzimática, respuesta al estrés, vías de señalización.

1. Introducción

El calcio (Ca^{2+}) es un ion esencial en la biología de los hongos, desempeñando un papel crucial como segundo mensajero en numerosos procesos celulares. Este ion actúa en la regulación del crecimiento, la diferenciación y la respuesta a condiciones ambientales adversas, lo que resulta vital para la adaptación y supervivencia de los hongos en diversos ecosistemas (Carafoli y Krebs, 2016; Riquelme *et al.*, 2011). La señalización mediada por Ca^{2+} es un mecanismo altamente conservado que permite a los hongos interactuar eficazmente con su entorno, y su disfunción puede resultar en efectos adversos en la viabilidad y crecimiento celular (Liu *et al.*, 2015; Ferreira *et al.*, 2019).

La homeostasis del calcio se mantiene mediante una compleja red de proteínas transportadoras, canales iónicos y bombas que regulan la concentración de Ca^{2+} dentro de la célula (Chen *et al.*, 2021; Tercan *et al.*, 2021; Pera y Callieri, 1997). Estas estructuras permiten que las células respondan rápidamente a cambios en su entorno, asegurando que el Ca^{2+} se movilice adecuadamente en situaciones de estrés, como la deshidratación o la presencia de patógenos (Zhao *et al.*, 2022; Roy *et al.*, 2021). Alteraciones en esta regulación pueden afectar negativamente la fisiología de los hongos, alterando su capacidad para crecer y desarrollarse en diversos ambientes (Silva *et al.*, 2017).

El Ca^{2+} no solo es vital para el crecimiento de las hifas y la regulación de la presión de turgencia, sino que también influye en la expresión de genes involucrados en procesos como la reproducción y el metabolismo (Riquelme *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2015). Este ion juega un papel crucial en el desarrollo de estructuras celulares críticas, permitiendo que los hongos interactúen adecuadamente con su entorno (Zhao *et al.*, 2022; Chen *et al.*, 2021). Además, la presencia de Ca^{2+} es esencial para la formación de estructuras como las paredes celulares, lo que contribuye a la adaptabilidad de los hongos ante variaciones ambientales (Zhao *et al.*, 2022; Tercan *et al.*, 2021).

Las interacciones de Ca^{2+} con otros iones, como el magnesio (Mg^{2+}) y el potasio (K^+), también son igualmente significativas. Estas interacciones son cruciales para mantener la homeostasis iónica y para la regulación de diversas funciones metabólicas en los hongos (Chen *et al.*, 2021; Liu *et al.*, 2015). Por ejemplo, la presencia de Mg^{2+} puede facilitar la actividad de los canales de Ca^{2+} , lo que permite una mayor entrada de este ion en la célula (Ferreira *et al.*, 2019). Además, se ha demostrado que la concentración de K^+ influye en la actividad de las bombas de Ca^{2+} , lo que resalta la importancia de la regulación iónica en la señalización celular (Berridge *et al.*, 2000; Tercan *et al.*, 2021).

El papel del Ca^{2+} se extiende a las interacciones de los hongos con otros organismos, como en la simbiosis con plantas, especialmente en hongos micorrízicos, donde el Ca^{2+} actúa como mediador en la comunicación y la formación de relaciones mutualistas (Zhao *et al.*, 2022; Roy *et al.*, 2021). Esta relación simbiótica es crucial para el intercambio de nutrientes y la mejora de la salud del suelo, lo que destaca la relevancia del Ca^{2+} en la ecología microbiana (Chen *et al.*, 2021; Silva *et al.*, 2017).

Investigaciones recientes han mostrado que la manipulación de los niveles de Ca^{2+} en medios de cultivo puede influir en la producción de metabolitos y la resistencia a enfermedades, lo que abre nuevas posibilidades para la biotecnología y la agricultura (Silva *et al.*, 2017; Tercan *et al.*, 2021). El Ca^{2+} se ha implicado en la regulación de la biosíntesis de compuestos bioactivos, lo que resalta su potencial en aplicaciones industriales y farmacéuticas (Zhao *et al.*, 2022; Pera y Callieri, 1997).

La comprensión de los mecanismos a través de los cuales los hongos utilizan el Ca^{2+} para regular su fisiología no solo tiene implicaciones en la biología básica, sino que también se traduce en aplicaciones prácticas en agricultura y medicina, donde el ajuste de los niveles de Ca^{2+} puede mejorar la producción de metabolitos y la resistencia a patógenos (Roy *et al.*, 2021; Chen *et al.*, 2021; Liu *et al.*, 2015).

2. ¿Cómo ingresa el calcio a la célula?

La regulación de la entrada de calcio en las células fúngicas es un proceso crucial que implica múltiples mecanismos. Los canales de calcio son esenciales para facilitar la entrada de Ca^{2+} en el citoplasma. Uno de los mecanismos principales a

través del cual los hongos regulan el Ca^{2+} es mediante los canales de potencial transitorio (TRP). Estos canales se activan en respuesta a cambios ambientales, tales como estrés osmótico, cambios en el pH, y la disponibilidad de nutrientes, permitiendo un aumento rápido en la concentración de Ca^{2+} intracelular (Tisi *et al.*, 2016). Además, se ha demostrado que estos canales no solo permiten la entrada de Ca^{2+} , sino que también juegan un papel crucial en la respuesta al estrés, facilitando la activación de rutas de señalización necesarias para la adaptación (Chen *et al.*, 2021; Roy *et al.*, 2021).

La activación de los canales TRP está mediada por múltiples factores. Por ejemplo, en condiciones de estrés, la presencia de azúcares y nitratos puede influir en la expresión y la actividad de estos canales, lo que sugiere una regulación en respuesta a las condiciones de crecimiento (Zhao *et al.*, 2022). En estudios con *Neurospora crassa*, se ha demostrado que la deshidratación activa estos canales, provocando un aumento significativo en la concentración de Ca^{2+} en el citoplasma, lo que a su vez activa rutas de señalización vitales para la supervivencia (Liu *et al.*, 2015).

Además de los canales TRP, las ATPasas de Ca^{2+} son proteínas clave en la regulación de la concentración de Ca^{2+} en el citoplasma. Estas ATPasas utilizan energía del ATP para bombear Ca^{2+} fuera de la célula o hacia compartimentos internos, como el retículo endoplásmico y las vacuolas, lo que ayuda a mantener la concentración de Ca^{2+} en niveles óptimos y prevenir la toxicidad asociada a concentraciones elevadas (Lew, 2011). En *Candida albicans*, se ha evidenciado que la disfunción de estas ATPasas puede llevar a un aumento en la concentración de Ca^{2+} , afectando la viabilidad celular y la capacidad de respuesta a factores estresantes (Pera y Callieri, 1997).

El Ca^{2+} también se moviliza de los depósitos internos, como el retículo endoplásmico, en respuesta a señales ambientales. Este proceso es mediado por proteínas de unión al calcio, que facilitan la liberación de Ca^{2+} desde estos compartimentos hacia el citoplasma (Riquelme *et al.*, 2011). La regulación de esta liberación es crucial, ya que el aumento en la concentración de Ca^{2+} intracelular activa diversas proteínas y vías de señalización que son esenciales para la adaptación al estrés (Liu *et al.*, 2015).

La concentración de Ca^{2+} en el medio de cultivo también afecta su ingreso a la célula. Se ha documentado que en medios con alta concentración de Ca^{2+} , se mejora la tasa de crecimiento de hongos como *Aspergillus niger*, lo que facilita la absorción de nutrientes y la producción de metabolitos (Silva *et al.*, 2017). Este fenómeno se relaciona con la actividad de los canales de Ca^{2+} , que son regulados por la disponibilidad de otros nutrientes en el medio, destacando la importancia de los medios de cultivo en la optimización del crecimiento fúngico (Liu *et al.*, 2015).

El ingreso de Ca^{2+} no es solo un proceso pasivo; también se ve facilitado por la interacción del Ca^{2+} con la estructura de la membrana celular. El Ca^{2+} se une a los fosfolípidos de la membrana, lo que puede alterar su fluidez y afectar la actividad de

las proteínas de membrana (Peng y Chen, 2024). La respuesta a condiciones ambientales adversas también implica un aumento en la concentración de Ca^{2+} en las puntas hifales, donde la señalización mediada por Ca^{2+} es crucial para el crecimiento polarizado de las hifas. Se ha observado que el Ca^{2+} intracelular en las puntas hifales está asociado con un aumento en la exocitosis de vesículas, que son cruciales para el suministro de materiales necesarios para la formación de nuevas hifas y el mantenimiento de la estructura celular (Riquelme *et al.*, 2011).

Finalmente, la manipulación de las condiciones de cultivo, como el pH y la concentración de nutrientes, ha mostrado ser un enfoque prometedor para mejorar la producción de metabolitos en hongos. El ajuste de estos parámetros puede facilitar un aumento en la producción de compuestos de interés industrial, destacando el papel crucial del Ca^{2+} en la biotecnología (Silva *et al.*, 2017). Las investigaciones indican que el Ca^{2+} puede actuar como un regulador en la producción de enzimas y metabolitos en hongos, lo que resalta su importancia en aplicaciones biotecnológicas y en la mejora de procesos industriales (Zhao *et al.*, 2022).

3. Señalización mediadora de Ca^{2+} y su relación con la respuesta condiciones adversas

El flujo de Ca^{2+} intracelular es esencial para la respuesta de los hongos a factores ambientales adversos, como la deshidratación, el estrés osmótico y la presencia de patógenos. En estas situaciones, la concentración de Ca^{2+} intracelular aumenta rápidamente como parte de la señalización mediada por este ion, lo que permite activar diversas rutas de señalización necesarias para la adaptación y supervivencia (Chen *et al.*, 2021; Roy *et al.*, 2021).

Uno de los principales mecanismos de señalización de Ca^{2+} es su capacidad para activar proteínas quinasas y fosfatasa que modulan la fosforilación de proteínas. Este proceso regula la actividad de proteínas clave en la respuesta al estrés, como las chaperonas moleculares, que ayudan a proteger y reparar las proteínas dañadas por el estrés térmico (Berridge *et al.*, 2000; Liu *et al.*, 2015). La calcineurina, un complejo enzimático dependiente de Ca^{2+} , juega un papel crucial en la regulación de genes que están involucrados en la respuesta al estrés y la adaptación a condiciones adversas (Lew, 2011; Riquelme *et al.*, 2011).

En situaciones de estrés, como la deshidratación, los canales potencial receptor transitorio (TRP) de alta afinidad, como Cch1 que es un canal de calcio específico en las células de levadura y hongos, que se activa bajo condiciones adversas (como la deshidratación) y facilita la entrada de Ca^{2+} al interior de la célula. Este aumento de Ca^{2+} intracelular activa las rutas de señalización que inducen respuestas de defensa, como la producción de metabolitos osmorreguladores que protegen la célula de los efectos de la deshidratación (Silva *et al.*, 2017; Zhao *et al.*, 2022).

Tabla 1. Proteínas y canales involucrados en la regulación de calcio en hongos: Funciones, localización y mecanismos de transporte.

Ion/proteína	Función	Ubicación celular	Tipo de transportador	Referencia
Atpasa de Ca ²⁺ en la membrana plasmática (PMCA)	Extracción de Ca ²⁺ del citosol hacia el espacio extracelular, regulando su concentración intracelular.	Membrana plasmática	ATPasa de tipo p	Bowman <i>et al.</i> , 2009; Tisi <i>et al.</i> , 2016
Atpasa de Ca ²⁺ del retículo endoplásmico (SERCA)	Transporta Ca ²⁺ desde el citosol hacia el retículo endoplásmico, manteniendo bajos niveles citosólicos de Ca ²⁺ .	Retículo endoplásmico	ATPasa de tipo p	Chen <i>et al.</i> , 2016
Atpasa de Ca ²⁺ de la vía secretoria (SPCA)	Transporte de Ca ²⁺ hacia el golgi, esencial para la secreción celular y otros procesos.	Golgi	ATPasa de tipo p	Tisi <i>et al.</i> , 2016
Intercambiador de Ca ²⁺ /h ⁺ vacuolar (Vcx1)	Intercambia Ca ²⁺ por C ⁺ , facilitando el almacenamiento de Ca ²⁺ en la vacuola.	Vacuola	Intercambiador Ca ²⁺ /h ⁺	Bowman <i>et al.</i> , 2009
Sistema de alta afinidad para la entrada de Ca ²⁺ (Cch1)	Entrada de Ca ²⁺ en respuesta a estímulos externos como estrés osmótico y nutricional.	Membrana plasmática	Canal de calcio tipo TRP	Liu <i>et al.</i> , 2015

Sistema de baja afinidad para la entrada de Ca^{2+} (Mid1)	Regula la entrada de Ca^{2+} a concentraciones más bajas.	Membrana plasmática	Canal de calcio tipo TRP	Liu <i>et al.</i> , 2015
Intercambiador $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ (CAX)	Intercambia Ca^{2+} con H^+ , contribuyendo a la homeostasis de Ca^{2+} en vacuolas y otros compartimentos.	Vacuola, membrana plasmática	Intercambiador $\text{Ca}^{2+}/\text{h}^+$	Tisi <i>et al.</i> , 2016
Canales TRP (transient receptor potential)	Facilitan la entrada de Ca^{2+} en respuesta a estímulos mecánicos y químicos.	Membrana plasmática	Canal de calcio tipo TRP	Roy <i>et al.</i> , 2021
Uniportador de calcio mitocondrial (MCU)	Permite la entrada de Ca^{2+} en las mitocondrias.	Mitocondria	Uniportador de calcio mitocondrial	Giorgi <i>et al.</i> , 2018

4. Mecanismos de transporte intracelular y función del calcio

El calcio tiene un papel fundamental en los mecanismos de transporte intracelular en los hongos. Su regulación es clave en la movilización de proteínas y vesículas dentro de la célula, lo que es esencial para la comunicación celular, la liberación de metabolitos y la respuesta a estímulos ambientales (Riquelme *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2017).

El Ca^{2+} está involucrado en la exocitosis y la endocitosis, procesos fundamentales para la expansión y crecimiento celular. Durante la exocitosis, el Ca^{2+} facilita la fusión de las vesículas con la membrana plasmática, lo que permite la liberación de proteínas y otras moléculas necesarias para el crecimiento celular. En las puntas hifales, donde se requiere un crecimiento polarizado, la exocitosis mediada por Ca^{2+} es esencial para el desarrollo de nuevas estructuras y la colonización del entorno (Silva *et al.*, 2017).

En la endocitosis, el Ca^{2+} también regula el tráfico de vesículas dentro de la célula. Su entrada activa rutas de señalización necesarias para la internalización de materiales desde el entorno hacia la célula. Este mecanismo es crítico para la obtención de nutrientes y la regulación del equilibrio celular (Liu *et al.*, 2015; Roy *et al.*, 2021).

5. Calcio y su rol en la homeostasis celular

La homeostasis del calcio es fundamental para la estabilidad y el buen funcionamiento de la célula fúngica. Como ya se ha mencionado, el Ca^{2+} se moviliza entre diversos compartimentos intracelulares, como la membrana plasmática, el retículo endoplásmico, las vacuolas y las mitocondrias, mediante proteínas transportadoras. La regulación de estos flujos es esencial para mantener la concentración de Ca^{2+} en niveles seguros, evitando su acumulación excesiva, que podría resultar tóxica para la célula (Berridge *et al.*, 2000; Liu *et al.*, 2015).

Las ATPasas, como la PMCA, son esenciales para la expulsión de Ca^{2+} desde la célula, mientras que las ATPasas SERCA y SPCA transportan Ca^{2+} a compartimentos intracelulares. Estos mecanismos permiten a las células mantener la concentración de Ca^{2+} en el citoplasma a niveles bajos, pero listos para ser movilizados rápidamente cuando sea necesario para la señalización o la respuesta al estrés (Pera y Callieri, 1997; Roy *et al.*, 2021).

El intercambio de Ca^{2+} por H^+ en vacuolas, medido por proteínas como Vcx1, también juega un papel esencial en la regulación de la concentración de Ca^{2+} en el citosol, contribuyendo a la homeostasis y al control del pH celular (Tisi *et al.*, 2016). Estos mecanismos de regulación son clave para la supervivencia de los hongos en condiciones de crecimiento variable.

6. Impacto de calcio en la interacción de hongos con otros organismos

El Ca^{2+} no solo es fundamental para la fisiología interna de los hongos, sino que también juega un papel clave en las interacciones de estos organismos con su entorno, particularmente en las simbiosis micorrízicas con plantas. En estas

interacciones, el Ca^{2+} actúa como mediador en la comunicación entre las raíces de las plantas y los hongos, facilitando la transferencia de nutrientes y promoviendo la salud del suelo (Roy *et al.*, 2021; Zhao *et al.*, 2022).

En los hongos micorrízicos, el Ca^{2+} también regula la formación de estructuras especializadas que son necesarias para el intercambio de nutrientes entre los dos organismos, lo que subraya la importancia de este ion en la simbiosis (Silva *et al.*, 2017). Además, la capacidad de los hongos para regular la concentración de Ca^{2+} en su entorno inmediato también afecta su capacidad para resistir patógenos y competidores en el suelo (Riquelme *et al.*, 2011).

7. Implicaciones biotecnológicas del calcio en hongos

El Ca^{2+} tiene un impacto significativo en diversas aplicaciones biotecnológicas relacionadas con los hongos. Su regulación adecuada puede optimizar la producción de metabolitos y enzimas, que son esenciales en la industria farmacéutica, alimentaria y ambiental. La manipulación de los niveles de Ca^{2+} en los medios de cultivo ha demostrado mejorar la producción de compuestos de interés, como ácidos orgánicos y enzimas hidrolíticas, que tienen aplicaciones industriales (Silva *et al.*, 2017; Zhao *et al.*, 2022).

Además, el Ca^{2+} también puede influir en la resistencia de los hongos a factores estresantes, lo que puede aumentar su eficiencia en la biorremediación o en la producción de proteínas terapéuticas (Tercan *et al.*, 2021). A medida que se continúa investigando el papel del Ca^{2+} en los procesos metabólicos, se abren nuevas oportunidades para su aplicación en diversas industrias.

8. El papel del calcio en la regulación del crecimiento de hifas

El Ca^{2+} también regula el crecimiento polarizado de las hifas en los hongos. Durante el crecimiento de las hifas, el Ca^{2+} se acumula en las puntas hifales, lo que es esencial para la exocitosis y la expansión de la célula en esa región. Esta acumulación de Ca^{2+} se asocia con la fusión de vesículas que contienen materiales necesarios para la formación de nuevas estructuras celulares (Riquelme *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2017).

La regulación del Ca^{2+} intracelular en las puntas hifales está mediada por canales de calcio tipo TRP, como Cch1 y Mid1. Estos canales permiten la entrada de Ca^{2+} en respuesta a diversos estímulos ambientales, lo que facilita el crecimiento de la hifa en dirección hacia fuentes de nutrientes. Además, la interacción entre Ca^{2+} y el citoesqueleto, en particular con actina y microtúbulos, también es crucial para la polarización del crecimiento de las hifas, permitiendo a los hongos colonizar y adaptarse a nuevos ambientes (Liu *et al.*, 2015; Zhao *et al.*, 2022).

La capacidad de los hongos para regular la concentración de Ca^{2+} en las puntas hifales también está asociada con la quimiotaxis, un proceso que permite a los hongos orientarse y moverse hacia áreas con nutrientes o hacia sitios de infección en organismos hospedadores. Esta regulación precisa de Ca^{2+} es crucial para la supervivencia de los hongos, especialmente en ambientes competitivos o patógenos (Roy *et al.*, 2021; Silva *et al.*, 2017).

9. Respuesta condiciones adversas y regulación de Ca^{2+} en hongos

Los hongos, como otros organismos, enfrentan una variedad de factores estresantes que pueden afectar su crecimiento y supervivencia. Estos factores incluyen la deshidratación, el estrés térmico, la presencia de patógenos y cambios en la concentración de nutrientes. El Ca^{2+} juega un papel crucial en la respuesta de los hongos a estos factores estresantes, mediando la activación de rutas de señalización que permiten a las células adaptarse a las condiciones adversas (Liu *et al.*, 2015; Roy *et al.*, 2021).

En condiciones de deshidratación, el Ca^{2+} intracelular se acumula en la célula, lo que activa varias rutas de señalización relacionadas con la protección celular. El Ca^{2+} regula la expresión de genes relacionados con la síntesis de proteínas de choque térmico y otras moléculas protectoras, que ayudan a la célula a sobrevivir a la deshidratación. Además, el Ca^{2+} también regula la producción de metabolitos osmorreguladores que mantienen la integridad celular y protegen las estructuras celulares de la deshidratación (Zhao *et al.*, 2022; Pera y Callieri, 1997).

En respuesta al estrés térmico, el Ca^{2+} intracelular también se acumula en las células y activa proteínas chaperonas que ayudan a prevenir el daño celular causado por temperaturas extremas. Además, el Ca^{2+} regula la activación de la calcineurina, un complejo enzimático dependiente de Ca^{2+} , que desempeña un papel clave en la resistencia al estrés térmico (Lew, 2011; Riquelme *et al.*, 2011).

10. Implicaciones en la biotecnología y la agricultura

La regulación de Ca^{2+} tiene importantes implicaciones en la biotecnología y la agricultura. Los hongos son esenciales en muchos procesos industriales, como la producción de enzimas, metabolitos y compuestos bioactivos. La manipulación de la concentración de Ca^{2+} en los medios de cultivo puede mejorar la eficiencia de estos procesos, aumentando la producción de compuestos de interés (Silva *et al.*, 2017; Zhao *et al.*, 2022).

En la industria de la biotecnología, el Ca^{2+} se utiliza para optimizar la producción de metabolitos como los ácidos orgánicos, los antibióticos y las enzimas. Por ejemplo, la adición de Ca^{2+} al medio de cultivo ha demostrado mejorar la producción de celulasas en hongos como *Aspergillus niger*, lo que facilita la degradación de la celulosa y otros polisacáridos. Esta capacidad para mejorar la eficiencia de las enzimas es crucial para la industria de la biotecnología, donde las enzimas se utilizan en la producción de bioetanol, la biorremediación y la fabricación de productos alimenticios (Ferreira *et al.*, 2019; Silva *et al.*, 2017).

Además, en la agricultura, los hongos desempeñan un papel clave en el biocontrol de patógenos y en la promoción del crecimiento de las plantas a través de la simbiosis micorrízica. El Ca^{2+} regula la formación de estructuras micorrízicas y la interacción entre los hongos y las plantas, lo que mejora el intercambio de nutrientes y protege a las plantas de enfermedades (Zhao *et al.*, 2022; Roy *et al.*, 2021).

Conclusión

El calcio es un ion esencial para la fisiología de los hongos, regulando una amplia variedad de procesos celulares, desde el crecimiento y la diferenciación hasta la respuesta al estrés. La homeostasis del Ca^{2+} se mantiene a través de un complejo sistema de transporte intracelular que involucra bombas, intercambiadores y canales iónicos. Además, el Ca^{2+} desempeña un papel fundamental en la adaptación de los hongos a condiciones ambientales cambiantes y en la interacción con otros organismos en su ecosistema.

Las aplicaciones biotecnológicas y agrícolas de los hongos se ven potenciadas por el papel del Ca^{2+} en la regulación de su fisiología y en la mejora de la producción de metabolitos y enzimas. A medida que la investigación en el campo de la señalización del calcio continúa avanzando, se abren nuevas oportunidades para manipular estos procesos en aplicaciones industriales, de biorremediación y en la mejora de la agricultura sostenible.

Referencias

Abadeh, A., Lew, R.R., 2013. Mass flow and velocity profiles in *Neurospora* hyphae: partial plug flow dominates intra-hyphal transport. *Microbiology*, 159(Pt_11), 2386-2394. <https://doi.org/10.1099/mic.0.071191-0>

Ahmad, T., Rasool, S., Sarwar, M., Haq, A.-ul, Hasan, Z.-ul, 2000. Effect of microbial phytase produced from a fungus *Aspergillus niger* on bioavailability of phosphorus and calcium in broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*, 83(1), 103-114.

Berridge, M.J., Lipp, P., Bootman, M.D., 2000. The versatility and universality of calcium signaling. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 1(1), 11-21. <https://doi.org/10.1038/35036035>

Biggs, A.R., Wu, D., MacKenzie, R.W., 1997. Calcium signaling in plant and fungal cells: a comparative study. *Fungal Biology*, 101(5), 443-454. [https://doi.org/10.1016/S0953-7562\(97\)80120-6](https://doi.org/10.1016/S0953-7562(97)80120-6)

Bowman, B.J., Draskovic, M., Freitag, M., Bowman, E.J., 2009. Structure and distribution of organelles and cellular location of calcium transporters in *Neurospora crassa*. *Eukaryotic Cell*, 8, 1-12. <https://doi.org/10.1128/ec.00174-09>

Carafoli, E., Krebs, J., 2016. Why calcium? How calcium became the second messenger. *The EMBO Journal*, 35(6), 569-578. <https://doi.org/10.15252/emboj.201593339>

Chen, L., Zou, G., Wang, J., Wang, J., Liu, R., Jiang, Y., Zhao, G., Zhou, Z., 2016. Characterization of the Ca^{2+} -responsive signaling pathway in regulating the expression and secretion of cellulases in *Trichoderma reesei* Rut-C30. *Molecular Microbiology*, 100(3), 560-575. <https://doi.org/10.1111/mmi.13334>

Chen, Y., Fan, X., Zhao, X., et al., 2021. cAMP activates calcium signaling via phospholipase C to regulate cellulase production in the filamentous fungus *Trichoderma reesei*. *Biotechnology for Biofuels*, 14, 62. <https://doi.org/10.1186/s13068-021-01914-0>

Chen, Y., Wang, Z., Yang, F., 2021. Calcium signaling in fungi and its implications in biotechnology. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105(7), 2565-2577. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11201-5>

Dzurendova, S., Zimmermann, B., Kohler, A., Reitzel, K., Nielsen, U. G., Dupuy-Galet, B. X., Leivers, S., Horn, S. J., Shapaval, V., 2021. Calcium affects polyphosphate and lipid accumulation in *Mucoromycota* fungi. *Journal of Fungi*, 7(4), 300. <https://doi.org/10.3390/jof7040300>

El-Gendi, H., Saleh, A. K., Badierah, R., Redwan, E. M., El-Maradny, Y. A., El-Fakharany, E. M., 2022. A comprehensive insight into fungal enzymes: structure, classification, and their role in mankind's challenges. *Journal of Fungi*, 8(1), 23. <https://doi.org/10.3390/jof8010023>

Ferreira, A., Garcia, C., de Melo, L., 2019. Calcium-dependent regulation of fungal enzymes. *Journal of Fungal Biology*, 125(3), 123-134. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2018.05.003>

Garcia, L. F., Lacerda, M. F. A. R., Thomaz, D. V., de Souza Golveia, J. C., Pereira, M. das G. C., de Souza Gil, E., Santiago, M. F., 2019. Optimization of laccase–alginate–chitosan-based matrix toward 17 α -ethinylestradiol removal. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 49(4), 375–383. <https://doi.org/10.1080/10826068.2019.1573195>

Hamam, A., Lew, R.R., 2012. Electrical phenotypes of calcium transport mutant strains of a filamentous fungus, *Neurospora crassa*. *Eukaryotic Cell*, 11, 1-12. <https://doi.org/10.1128/ec.05329-11>

Jackson, S.L., Heath, I.B., 1993. Roles of calcium ions in hyphal tip growth. *Microbiological Reviews*, 17(2), 367-382.

Lange, M., Peiter, E., 2020. Calcium transport proteins in fungi: the phylogenetic diversity of their relevance for growth, virulence, and stress resistance. *Frontiers in Microbiology*, 10, 3100. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.03100>

Lee, C.H., Jin, E.S., Lee, J.H., Hwang, E.T., 2020. Immobilization and stabilization of enzyme in biomaterialized calcium carbonate microspheres. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, 553591. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.553591>

Lew, R., 2011. How does a hypha grow? The biophysics of pressurized growth in fungi. *Nature Reviews Microbiology*, 9, 509–518. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2591>

Lew, R.R., 2015. Calcium ions in fungal signaling and growth: a review. *Fungal Biology Reviews*, 29(1), 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2015.01.001>

Liu, S., Hou, Y., Liu, W., Lu, C., Wang, W., Sun, S., 2015. Components of the calcium-calcineurin signaling pathway in fungal cells and their potential as antifungal targets. *Eukaryotic Cell*, 14, 1-12. <https://doi.org/10.1128/ec.00271-14>

Liu, W., Zhang, K., Zheng, Q., 2015. Calcium signaling in fungi: a molecular perspective. *Fungal Biology Reviews*, 29(3), 172-180. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2015.07.001>

Moreau, R.A., 1987. Calcium-binding proteins in fungi and higher plants. *Journal of Dairy Science*, 70(7), 1504–1512.

Pera, A., Callieri, D., 1997. Role of calcium in the hydrolysis of polysaccharides by fungal enzymes. *Enzyme and Microbial Technology*, 21(4), 269-275. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(96\)00185-1](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(96)00185-1)

Pereira, J. de C., Giese, E. C., Moretti, M. M. de S., Gomes, A. C. dos S., Perrone, O. M., Boscolo, M., Martins, D. A. B., 2017. Effect of metal ions, chemical agents and organic compounds on lignocellulolytic enzymes activities. *InTech*. <https://doi.org/10.5772/65934>

Riquelme, M., Yelton, S., 2011. Calcium signaling in fungi: the calmodulin case. *Fungal Genetics and Biology*, 48(8), 747-757. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2011.05.007>

Roy, B.C., Chatterjee, S., 2021. Calcium and signaling in fungal cells: potential and applications. *Current Genetics*, 67(4), 853-861. <https://doi.org/10.1007/s00294-021-01140-0>

Silva, C., Kadoya, T., Nakasone, K., 2017. Calcium signaling in fungi: role in growth and stress responses. *Mycoscience*, 58(5), 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.myc.2017.07.003>

Tercan, M., Altuntas, M., Kucuk, C., 2021. The effects of calcium on the enzyme production of fungi in biotechnological applications. *Biotechnology Reports*, 31, e00645. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2021.e00645>

Tisi, R., Rojas, C.A., García, L., Rodríguez, A., Vargas, M., 2016. Mechanisms of calcium regulation in fungi. *Fungal Genetics and Biology*, 86, 49-59. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2015.10.004>

Veerana, M., Yu, N.-N., Bae, S.-J., Kim, I., Kim, E.-S., Ketya, W., Lee, H.-Y., Kim, N.-Y., Park, G., 2022. Enhancement of fungal enzyme production by radio-frequency electromagnetic fields. *Journal of Fungi*, 8(11), 1187. <https://doi.org/10.3390/jof8111187>

Yu, N. -N., Ketya, W., Choi, E. -H., & Park, G. (2022). Plasma Promotes Fungal Cellulase Production by Regulating the Levels of Intracellular NO and Ca²⁺. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(12), 6668. <https://doi.org/10.3390/ijms23126668>

Zhao, Y., Tan, Y., Li, Y., 2022. The role of calcium in fungal growth and development. *Fungal Biology*, 126(2), 101-112. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2022.01.001>



Encapsulation of antioxidants extracted from turmeric (*Cúrcuma longa L*) by the electrospinning method

Encapsulación de antioxidantes extraídos de *Cúrcuma (Cúrcuma longa L)* por el método de electrohilado

¹José María Fernández-Luna, ¹Verónica Santacruz-Vázquez, ²Santa Toxqui-López, ³José Luis Córdova-de la Luz, *¹Claudia Santacruz-Vázquez

¹Facultad de Ingeniería Química, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Avenida San Claudio y 18 sur, C.P. 72570 Puebla, Puebla, México

²Facultad de Ingeniería, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Avenida San Claudio y 18 sur, C.P. 72570 Puebla, Puebla, México

³Instituto de Fisiología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Prol. de la 14 Sur 6301, Cd Universitaria, Cdad. Universitaria, 72592 Puebla, Puebla, México

*E-mail: clausanva@yahoo.com.mx

ABSTRACT

Antioxidant compounds extracted from turmeric (*Cúrcuma longa L.*) were encapsulated through the electrospinning method using aluminum foil and glass slides as collectors. Curcuminoids were extracted from turmeric root using ethanol as a solvent. Various emulsions were electrospun: Emulsion (A) consisted of 10% polyvinyl alcohol (PVA) with curcumin extracted with ethanol, and Emulsion (B) was composed of 10% PVA, curcumin extracted with ethanol, and 2% glacial acetic acid (GAA). The obtained microfibers demonstrated optimal curcumin encapsulation with Emulsion (A). Scanning electron microscopy (SEM) characterization revealed structural defects in the microfibers from Emulsion (B), showing a widening effect with a diameter of 0.897 μm . In contrast, the microfibers from Emulsion (A) exhibited a smaller diameter of 0.485 μm without such defects. Confocal microscopy further determined that the microfibers from Emulsion (A) responded to ultraviolet light excitation at specific wavelengths: 405 nm, 488 nm, and 561 nm. These results indicate that the composition of Emulsion (A) produces microfibers with a homogeneous distribution of curcumin, optimizing antioxidant encapsulation.

Keywords: antioxidants, electrospinning, encapsulations, microfiber, nanotechnology, turmeric.

RESUMEN

Se encapsularon compuestos antioxidantes extraídos de la *Cúrcuma (Cúrcuma longa L.)* mediante el método de electrohilado usando como colector papel aluminio y portaobjetos

de vidrio. Se extrajeron los curcuminoides de cúrcuma de raíz usando etanol como disolvente. Se electrohilaron distintas emulsiones, la emulsión (A) compuesta de alcohol polivinílico (PVA) al 10% con curcumina extraída con etanol, y la emulsión (B) compuesta de PVA al 10%, curcumina extraída con etanol y ácido acético glacial (AAG) al 2%. Las microfibras obtenidas revelaron la óptima encapsulación de la curcumina cuando se usó la composición de la emulsión (A), al caracterizar las microfibras mediante microscopía electrónica de barrido (MEB) se determinó un defecto en la estructura de la microfibra (B) de ensanchamiento con un diámetro de 0.897 μm , no así la de la emulsión (A), que mostró un diámetro de 0.485 μm . A través del microscopio confocal se determinó que la microfibra (A) mostraba una respuesta a la excitación de la luz ultravioleta en longitudes de onda específicas: 405 nm, 488 nm, 561 nm. Estos resultados indican que la composición de la emulsión (A) produce microfibras con una distribución homogénea de curcumina, optimizando la encapsulación de antioxidantes.

Palabras clave: antioxidantes, cúrcuma, electrohilado, encapsulación, microfibra, nanotecnología.

1. INTRODUCCIÓN

La cúrcuma (*Cúrcuma longa L*) conocida también como turmeric en el país asiático, es originaria de este continente y es perteneciente a la familia Zingiberaceae (Mesa et al., 2000). La raíz de cúrcuma o rizoma de cúrcuma es destacada por su impacto en la industria alimentaria, ya que su incorporación conserva los alimentos y además aporta un sabor característico y distintivo, lo que lo convierte en un componente esencial del curry (Río et al., 2009). Además, se han identificado propiedades medicinales significativas e importantes en la cúrcuma, que son atribuidas de forma importante a los curcuminoides, que son un conjunto de compuestos fenólicos presentes en la raíz de cúrcuma o rizoma. Estos compuestos han demostrado ser eficaces en la protección contra enfermedades de carácter cancerígeno (Jayaprakasha et al., 2005). Actualmente, existe un gran interés de manera creciente en el uso de la *Cúrcuma longa L*. como agente terapéutico potencial para prevenir distintas patologías de este tipo (Zhou et al., 2011). En los curcuminoides, la curcumina es el compuesto fenólico más investigado. Aunque estos curcuminoides se conocen desde hace algunos años anteriores, su estudio e investigación ha cobrado mayor relevancia e investigación en años recientes. Este incremento en el interés de estudio está relacionado con la preocupación por los efectos adversos de los inhibidores sintéticos del ciclo oxigenasa-2 (COX-2), promovidos por la industria de fármacos (Bengmark et al., 2009).

Aunado a lo anterior, es sabido sobre el creciente interés por nuevas nanoestructuras en campos como la biotecnología, telecomunicaciones, informática (Moghe y Gupta, 2008), áreas biomédicas, síntesis química, separación (Ohkawa et al., 2009), agricultura e industria alimentaria (Morgalev et al., 2010), ha motivado a científicos e ingenieros a desarrollar nanoestructuras que mejoren los procesos y aumenten la eficiencia en la producción (Moghe y Gupta, 2008) de bienes y servicios. En la actualidad, la técnica de electrohilado se ha combinado con el proceso sol-gel para producir compuestos y nanofibras inorgánicas. Es posible procesar polímeros como polivinilpirrolidona, alcohol polivinílico y polióxido de etileno, utilizando soluciones que contienen un precursor sol-gel, seguido de la eliminación selectiva de la fase orgánica mediante calcinación en presencia de aire (Xie y Xia, 2008; Feltrini et al., 2022). Esta técnica utiliza fuerzas eléctricas para generar fibras de tamaños micro y nanométricos (Anh et al., 2006). Se aplica un alto voltaje a la solución polimérica, lo que forma una estructura conocida como "cono de Taylor", de donde se desprenden las fibras (Doshi y Reneker, 1995; Taylor, 1969). Factores como el

voltaje, caudal, distancia, humedad y concentración del polímero influyen en el proceso (Li y Wang, 2013), por lo que es fundamental considerar estos parámetros para obtener el tamaño de fibra adecuado según las especificaciones.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Etanol: Se utilizó como disolvente para la extracción de la curcumina. Se selecciono por su alta capacidad de extraer compuestos fenólicos.

Ácido acético glacial (AAG): Se utilizo para mejorar la conductividad de la emulsión a electrohilar.

2.1 Extracción de la curcumina

Cúrcuma de raíz fresca: Obtenida del Mercado Hidalgo, de la Cd de Puebla de Zaragoza, Méx. La raíz fue lavada, cortada en pequeños fragmentos y procesada para la extracción.

Se diseño una serie de diluciones para identificar la mejor extracción de la curcumina obtenida de la cúrcuma (Tabla 1)

Tabla 1. Tabla de diluciones de cúrcuma de raíz usando etanol como disolvente.

Gramos de cúrcuma de raíz	Volumen de etanol
0.5	5 ml
1	5 ml
2	5 ml

El diseño de experimentos consistió en colocar los gramos de cúrcuma de raíz y sumergirlos en los 5 ml del volumen de etanol, homogeneizarlos de forma manual agitando las diluciones durante 1 minuto.

a. Preparación del alcohol polivinílico (PVA)

Previamente obtenido el extracto de cúrcuma (*cúrcuma longa L*) se procedió a la preparación de PVA de la marca Meyer de alta densidad, grado técnico hidrolizado al 87%. Se pesaron 10 gramos de PVA y se midieron 90 ml de agua destilada y se homogenizó utilizando un agitador magnético con placa calefactora de la marca IKA modelo C-MAG HS7 durante 4 horas. Previamente obtenido el PVA al 10 %, se homogenizó con el extracto de cúrcuma los diferentes experimentos realizados en la investigación.

b. Preparación de las emulsiones a electrohilar

De acuerdo con la obtención del extracto son solvente se formuló la siguiente composición para la microfibra (Tabla 2).

Tabla 2. Composición de las emulsiones para la nanofibra, usando cúrcuma de raíz.

Emulsión	PVA al 10%	AAG al 2%	Cúrcuma de raíz	Etanol
A	5 ml	--	2 g	5 ml
B	5 ml	5 ml	2 g	5 ml

La emulsión (A) está compuesta de PVA al 10%, extracto de cúrcuma con etanol y la emulsión (B) está compuesta de PVA al 10%, extracto de cúrcuma con etanol y 5 ml de ácido acético glacial al 2%.

c. Elaboración de las microfibras por el método de electrohilado

Las soluciones se vertieron en el embolo de la jeringa del equipo de electrohilado mismas que deben estar a temperatura ambiente. Para el proceso de electrohilado se experimentaron las condiciones de voltaje total entre 20 y 15 kV tomando en cuenta que el

equipo se encuentra conectado en serie, la velocidad rotatoria del rodillo colector se probó en el rango de 500-509 rpm y la distancia entre el inyector y el rodillo colector oscilo entre los 21 cm. El equipo de electrohilado con el que se trabajó, permite manipular las variables más importantes en el proceso, como son el voltaje que va de 0 a 30 kV, la velocidad del rodillo colector donde se coloca el material como soporte que en este caso fue el papel aluminio y portaobjetos de virio, y por último la distancia entre la punta de la aguja y el rodillo conector, este último se maneja manualmente que va de 20 a 21 cm de distancia. Algunas de las características con las que cuenta el equipo se encuentran divididas en tres partes; la primera se encuentra ubicada en la parte de arriba del equipo, es aquí donde se encuentran las fuentes de voltaje independiente a la carga positiva (+) y la carga negativa (-) estas tienen un rango de 0 a 30 kV.

La segunda parte del equipo de electrohilado está estructurada por una base en la cual se encuentra el inyector, mismo que podemos manipular, este es posible moverlo hacia la izquierda y la derecha para poder manipular la distancia que hay entre la punta de la aguja y el rodillo colector.

Por último, la tercera parte de cómo está constituido el equipo de electrohilado se encuentra por debajo de la segunda parte está formada por diferentes controles con sus respectivas pantallas indicadoras donde nos indican la velocidad en la que va el rodillo colector, la temperatura en la que está operando el equipo y también tiene un botón de encendido y apagado importante ya que se maneja kV. En el colector del equipo electrospinning se colocó el papel aluminio para soportar a la microfibras, posteriormente se retiró y se colocó el portaobjetos de vidrio para soportar a la microfibras.

2.5 Análisis de las microfibras obtenidas a través de microscopía de campo claro

Las fibras fueron analizadas y observadas con un microscopio de campo claro. Se utilizo un aumento de 100x, con un ajuste de iluminación en el que se utilizó una lampara de luz ultravioleta para optimizar la visibilidad de la estructura de la fibra. De esta manera se pudo identificar la estructura de la fibra de manera general y la fluorescencia que deben emitir si es que existe curcumina en su composición.

2.6 Análisis de las microfibras a través de Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)

Las estructuras de las microfibras se evaluaron usando microscopía electrónica de barrido. El microscopio que se empleó para la caracterización es un MEB de bajo vacío, modelo JSM-5300 con una diferencia de potencial de 20 Kv, detectando electrones retro-dispersados y en amplificaciones de 1000, 5000 y 10000 X.

2.7 Análisis de las microfibras a través del Microscopio Confocal

Las microfibras con curcumina encapsulada se observaron y analizaron en el microscopio con focal en el que tiene la capacidad de excitar a la muestra a distintas longitudes de onda.

3.RESULTADOS

3.1 Extracción de la curcumina

La extracción de la curcumina (Fig. 1) resultó ser óptima utilizando como disolvente etanol



Fig 1. Extracción de curcumina usando etanol como disolvente.

3.2 Condiciones óptimas de encapsulación de la curcumina

La encapsulación de la curcumina mediante el método de electrohilado resultó óptima para ambas emulsiones, considerando las siguientes condiciones y variables (Tabla 3) con las que se manipuló el equipo, con el objetivo de generar el cono de Taylor de manera correcta y evitar el escurrimiento en la salida del inyector, así como lograr que en el colector se logre obtener toda la microfibr.

Tabla 3. Condiciones óptimas de operación del equipo de electrospinning.

Emulsión	A	B
Temperatura	22°C	22°C
Humedad Relativa	57 %	56 %
Tiempo de electrohilado	30 min	30 min
Voltaje	25 kV	25 Kv
Velocidad del rotor	509 rpm	509 rpm
Distancia de la aguja- Rotor	21 cm	21 cm

3.3 Microscopía de campo claro

Lo observado en el microscopio de campo claro con iluminación de luz ultravioleta (Fig. 2) revelaron que se encontraba la curcumina dentro de la estructura de la nanofibra, aunque con una menor resolución. Bajo la excitación de la luz ultravioleta la muestra mostro emisión de luz con una intensidad de fluorescencia a una longitud de onda de 460 nm.



Figura 2. Microfibra excitada a una longitud de onda de 460 nm

3.4 Microscopio electrónico de Barrido (MEB)

Con el Microscopio Electrónico de Barrido, se pudo observar la superficie del electrohilado, sin embargo, no se logra observar la presencia de la curcumina, la microfibras elaborada al utilizar etanol como disolvente, sin utilizar AAG mostró una mejor uniformidad (Fig. 3) al compararla con la microfibras a la que se le adicionó AAG (Fig. 4), observándose un ensanchamiento de las microfibras.

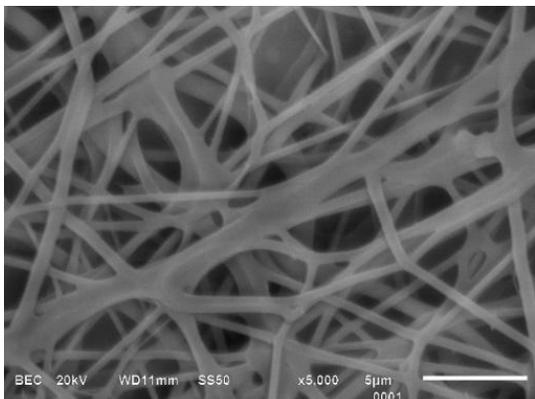


Fig 3. Observación microscópica en SEM de microfibras A a 5000X

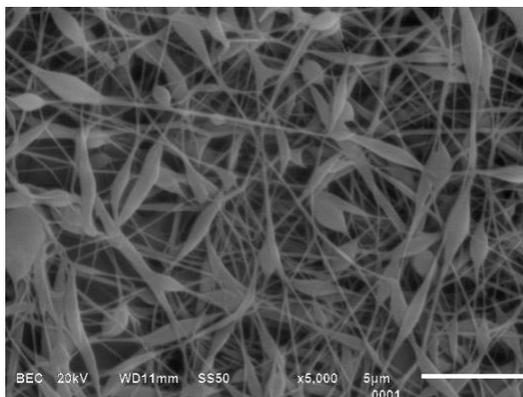


Fig 4. Observación microscópica en SEM de microfibras B a 5000X

Mediante el Software Image J versión 2018, se realizó la determinación longitudinal de las fibras para determinar el ancho de éstas (Tabla 4). Observándose que la muestra del tratamiento A tuvo un diámetro promedio menor que las muestras del tratamiento B, debido a la presencia de abultamientos o ensanchamiento de las microfibras al utilizar AAG.

Tabla 4. Medidas de las microfibras a través del Software Image J

Muestra	A	B
Promedio (μm)	0.485	0.897
Desviación Estándar. (μm)	0.125	0.295
Mínimo (μm)	0.321	0.502
Máximo (μm)	0.753	1.877

3.5 Microscopio confocal

El análisis mediante el uso del microscopio confocal sin el uso de excitación de la muestra, permitieron un análisis tridimensional de las microfibras y la presencia de curcumina presente en ellas (Fig 5). Las microfibras mostraron respuesta a la excitación de la longitud de onda del espectro de luz ultravioleta, a 405 nm (Fig. 6), 488 nm (Fig. 7), 561 nm (Fig. 8) que corresponde a la presencia de la curcumina. De esta manera se confirmó la correcta y óptima encapsulación de la curcumina y revelando su estructura interna. Las imágenes obtenidas mediante microscopía confocal dieron pauta a definir que las microfibras de las formulaciones (A) mostraron respuesta a la excitación y emitieron fluorescencia, no así la de la microfibras (B) que no mostró fluorescencia a la excitación de la luz ultravioleta a diferentes longitudes de onda de del espectro electromagnético.

Las condiciones del análisis en el microscopio confocal fueron las siguientes:

- Calibración ($\mu\text{m}/\text{px}$) = 0.16
- Óptica: Plan Apo λ 20x

Tabla 5. Datos del análisis en microscopía confocal

Índice	Bucle espectral	Color
1	DAPI	 Azul
2	FITC	 Verde
3	Rhodamine Red-X	 Rojo

Tabla 6. Detalles de la adquisición de datos del microscopio confocal

Características	DAPI	FITC	Rhodamine Red-X
Longitud de onda de emisión (nm)	447	525	785
Longitud de onda de excitación (nm)	405	488	561
Pinhole Size	40	40	40
Serie de canales	1	2	3

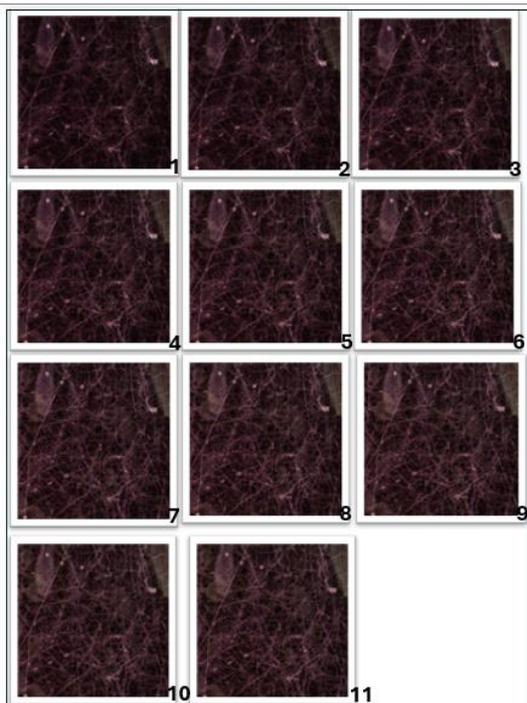


Fig 5. Microfibras (A) vista en el microscopio confocal

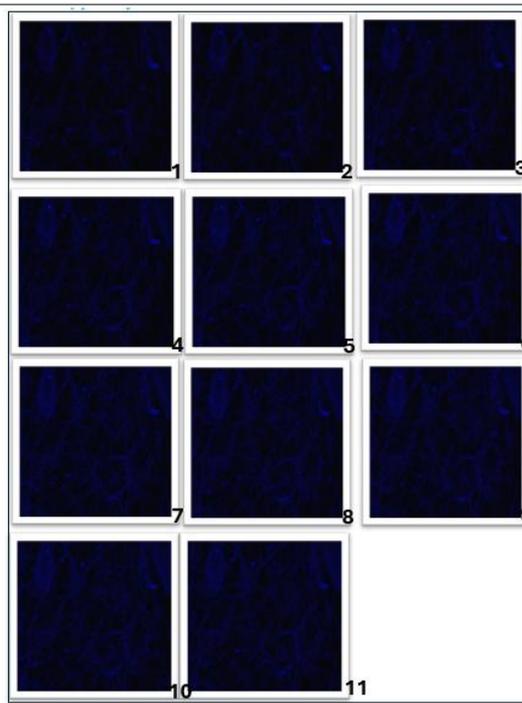


Fig 6. Microfibras (A) vista en microscopio confocal con bucle espectral DAPI

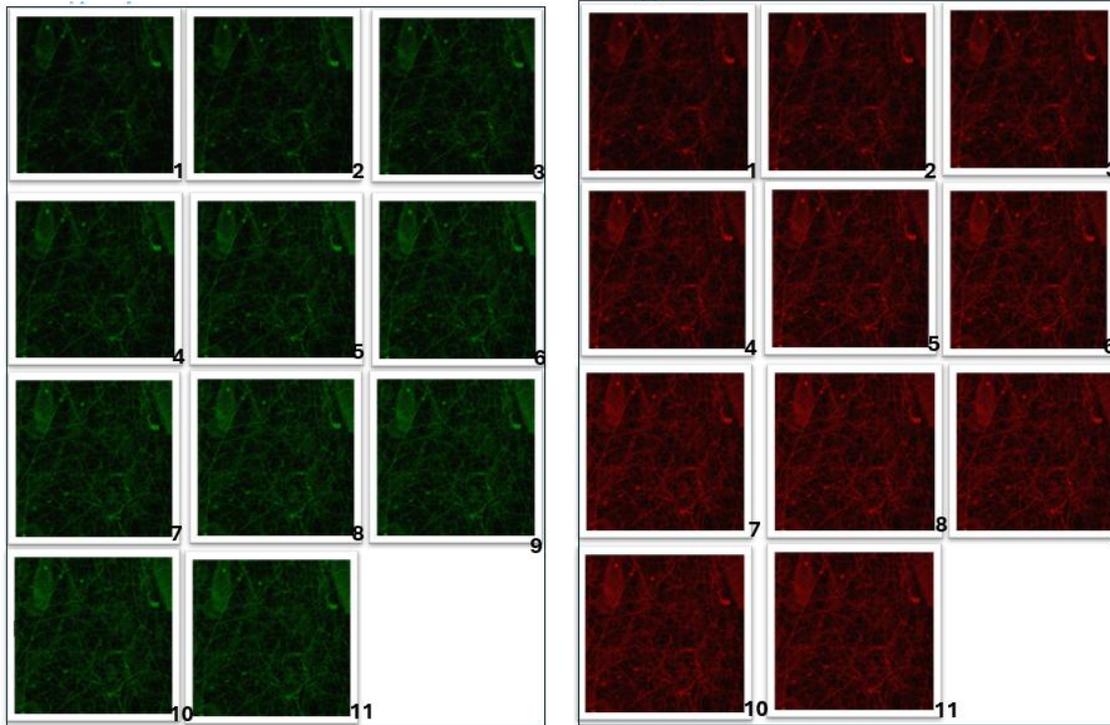


Fig 7. Microfibra (A) con bucle espectral FITC (Fluorescein Isothiocyanate)

Fig 8. Microfibra (B) con bucle espectral Rhodamine Red-X

Tabla 7. Posición de la imagen en el plano del microscopio confocal

Número de Imagen	Posición Z (μm)	Rango (μm)	Z Paso (μm)	Z Torsión (μm)	Abajo (μm)
1	-2.50	5.00	0.50	2571.70	2566.70
2	-2.00	5.00	0.50	2571.70	2566.70
3	-1.50	5.00	0.50	2571.70	2566.70
4	-1.00	5.00	0.50	2571.70	2566.70
5	-0.50	5.00	0.50	2571.70	2566.70
6	0.00	5.00	0.50	2571.70	2566.70
7	0.50	5.00	0.50	2571.70	2566.70
8	1.00	5.00	0.50	2571.70	2566.70
9	1.50	5.00	0.50	2571.70	2566.70
10	2.00	5.00	0.50	2571.70	2566.70
11	2.50	5.00	0.50	2571.70	2566.70

Las muestras electrohildas en el portaobjetos de vidrio se capturaron a 20x, con un escaneo de z-stack que permite observar la distribución tridimensional (Fig. 9) de la curcumina en toda la microfibra y así verificar su encapsulación.

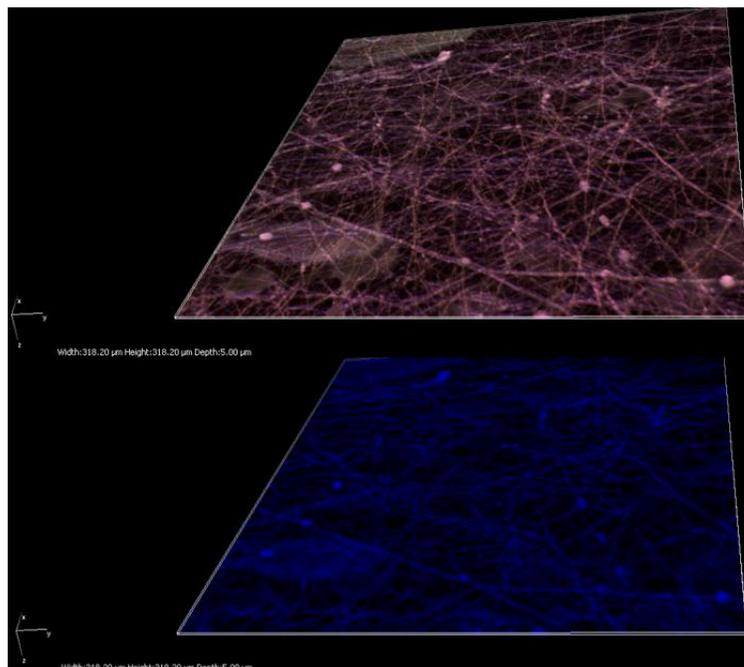


Fig 9. Estructura tridimensional de la microfibr (A)

4. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos revelan que el uso de etanol como disolvente de la cúrcuma de raíz proporciona una eficacia en la obtención de la curcumina, esto de acuerdo con los estudios previos que decretan la correcta capacidad de utilizar etanol para extraer curcuminoides (Mesa et al., 2000; Casas et al., 2009). La encapsulación de la curcumina mediante la técnica de electrospinning resultó en una homogeneidad uniforme y con una estructura óptima de la microfibr, de manera particular en la formulación de la emulsión (A). Esto contrasta con la formulación (B), donde el uso de AAG como agente conductor de la emulsión a electrohilar generó defectos de ensanchamiento en las microfibras atribuyéndose a las alteraciones de la viscosidad y de la conductividad como lo han señalado Moghe y Gupta (2008) en contextos similares.

La curcumina, es el compuesto principal de la *Cúrcuma longa L.* responde con fluorescencia a la excitación con luz ultravioleta, esto se debe a su estructura química, esta incluye grupos cromóforos y sistemas conjugados de electrones π . Esto permite la absorción de la luz en la región ultravioleta, lo que excita a las moléculas a un estado de mayor energía. Cuando regresan al estado fundamental, las moléculas emiten energía en forma de luz visible, generando fluorescencia Sheikh et al (2018).

La caracterización por microscopia confocal reveló la fluorescencia de las microfibras con curcumina, de manera particular en las longitudes de onda específicas: 405, 488 y 561 nm, lo que valida la preservación de las propiedades bioactivas de la curcumina encapsulada. Este hallazgo es consistente con Zhou et al. (2011), quienes observaron y determinaron las propiedades ópticas de los curcuminoides de la cúrcuma que pueden mantenerse tras procesos de encapsulación adecuados. Así mismo, el diámetro promedio más pequeño y uniforme (0.485 μm) de las microfibras de la formulación (A) indican que las condiciones a las que se controló el electrohilado y la composición química seleccionadas optimizan la morfología de las microfibras, contrastando trabajos como los de Xie y Xia (2008) sobre la influencia de los parámetros de electrospinning en calidad de las fibras.

En correlación, los defectos observados en las microfibras de la formulación (B) resaltan la necesidad de un mejor control de los parámetros de electrohilado y su composición química de las emulsiones a electrohilar. Esto sugiere que el AAG incrementa la conductividad, pero afecta negativamente la formación del cono de Taylor y la estabilidad estructural de las microfibras, como se ha señalado en estudios previos (Ohkawa et al., 2009).

La fluorescencia observada en las microfibras encapsuladas, junto con la correcta estructura homogénea, resalta el potencial de esta técnica para las aplicaciones de la biomedicina e industrias alimentarias, las áreas que requieren estructuras controladas para que se garantice la liberación eficiente de los compuestos bioactivos.

5. CONCLUSIÓN

La encapsulación de la curcumina extraída de la cúrcuma de raíz mediante el método de electrospinning demostró ser una técnica óptima y eficaz para preservar y distribuir de manera uniforme los compuestos bioactivos de las microfibras. El uso de etanol como disolvente de la cúrcuma permitió obtener fibras con un diámetro uniforme y propiedades fluorescentes intactas, destacando la formulación (A) como la más eficiente, sin embargo, el uso de AAG en la formulación (B) evidenció las limitaciones, generando defectos estructurales que disminuyen la calidad de las microfibras.

La microfibra (A) mostró fluorescencia, esto demostró que la curcumina fue correctamente extraída y encapsulada, la microfibra (B) no mostró fluorescencia esto atribuyéndole a la adición de AAG que degrada a la curcumina.

Estos resultados resaltan la importancia de optimizar los solventes y las operaciones de la técnica de electrohilado para mejorar la calidad de las fibras producidas. Las implicaciones de este estudio abren la posibilidad de explorar aplicaciones de estas microfibras en áreas como los sistemas biomédicos y en recubrimientos para la conservación de alimentos. Investigaciones posteriores pueden centrarse en la estabilidad térmica de las microfibras encapsuladas.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado de la BUAP por el apoyo complementario de la investigación a través Beca estudiantil otorgada a José María Fernández Luna, a través del programa: Becas por proyecto de investigación VIEP 2024 y al instituto de Fisiología de la BUAP por proporcionar el uso del microscopio confocal.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

José María Fernández-Luna realizó el trabajo experimental y escribió el manuscrito, Claudia Santacruz-Vázquez proporciono la idea principal del proyecto y diseño el estudio, José Luis Córdova-de la Luz realizó la caracterización de las microfibras en el microscopio confocal y Verónica Santacruz-Vázquez, Santa Toxqui-López realizaron el análisis de datos.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses en la realización de esta investigación ni en la publicación de este manuscrito.

REFERENCIAS

- Ahn, Y. C., Park, S. K., Kim, G. T., Hwang, Y. J., Lee, C. G., Shin, H. S., & Lee, J. K. (2006). Development of high efficiency nanofilters made of nanofibers. *Current Applied Physics*, 6(6), 1030–1035. <https://doi.org/10.1016/j.cap.2005.07.013>
- Bengmark, S., Mesa, M., & Gil, A. (2009). Efectos saludables de la cúrcuma y de los curcuminoides. *Nutrición Hospitalaria*, 24(3), 264–272. https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112009000300003
- Casas, J., Castillo, H., Noy, J., Palomares, A., & Rodríguez, R. (2009). Elaboración de papel indicador a base de extractos naturales: una alternativa fundamentada en experiencias de laboratorio para el aprendizaje del concepto de pH. *Revista Eureka Enseñ. Divul. Cien.*, 9(2), 302-314. <https://revistas.uca.es/index.php/eureka>
- Doshi, J., & Reneker, D. H. (1995). Electrospinning process and applications of electrospun fibers. *Journal of Electrostatics*, 35(2-3), 151-160. [https://doi.org/10.1016/0304-3886\(95\)00041-8](https://doi.org/10.1016/0304-3886(95)00041-8)
- Feltrin, F. da S., Agner, T., Sayer, C., & Lona, L. M. F. (2022). Curcumin encapsulation in functional PLGA nanoparticles: A promising strategy for cancer therapies. *Advances in Colloid and Interface Science*, 300, 102582. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2021.102582>
- Jayaprakasha, K., Rao, L., & Sakariah, K. (2005). Chemistry and biological activities of *C. longa*. *Trends in Food Science and Technology*, 16(12), 533-548. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.08.006>
- Li, Z., & Wang, C. (2013). Effects of working parameters on electrospinning. En *One-Dimensional Nanostructures* (pp. 15–28). Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-36427-3_2
- Mesa, D., Ramírez, M., Aguilera, M., Ramírez, A., & Gil, A. (2000). Pharmacological and nutritional effects of *Cúrcuma longa* L. extracts and applyingides. *Ars Pharmaceutica*, 41(3), 307-321. <https://www.latindex.org/latindex/ficha/1748#:~:text=Ars%20Pharmaceutica%20es%20una%20revista,%2C%20Farmacolog%C3%ADa%2C%20y%20Atenci%C3%B3n%20Farmac%C3%A9utica>
- Moghe, A. K., & Gupta, B. S. (2008). Co-axial electrospinning for nanofiber structures: Preparation and applications. *Polymer Reviews*, 48(2), 353-377. <https://doi.org/10.1080/15583720802022257>
- Morgalev, Y. N., Khoch, N. S., Morgaleva, T. G., Gulik, E. S., Borilo, G. A., Bulatova, U. A., Morgalev, S. Y., & Ponyavina, E. V. (2010). Biotesting nanomaterials: Transmissibility of nanoparticles into a food chain. *Nanotechnology in Russia*, 5(11-12), 851-856. <https://doi.org/10.1134/S1995078010110157>
- Nambiar, S., & Yeow, J. T. W. (2011). Conductive polymer-based sensors for biomedical applications. *Biosensors and Bioelectronics*, 26(5), 1825-1832. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2010.09.046>
- Ohkawa, K., Hayashi, S., Nishida, A., Yamamoto, H., & Ducreux, J. (2009). Preparation of pure cellulose nanofiber via electrospinning. *Textile Research Journal*, 79(15), 1396-1401. <https://doi.org/10.1177/0040517508101455>
- Ríos, E., Duque, A., & León, F. (2009). Spectroscopy and chromatography characterization of curcumin extracted from the rhizome of turmeric crops in the department of Quindío

- (Colombia). *Revista Investigación Universidad del Quindío*, 19(1), 18-22. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962017000100007
- Sheikh, S., Sturzu, A., Kalbacher, H., Nagele, T., Weidenmaier, C., Horger, M., Schwentner, C., Ernemann, U., & Heckl, S. (2018). A novel fluorescence-labeled curcumin conjugate: Synthesis, evaluation and imaging on human cell lines. *Current Pharmaceutical Design*, 24(16), 1821–1826. <https://doi.org/10.2174/1381612824666180406103317>
- Xie, J., & Xia, Y. (2008). Electrospinning: An enabling technique for nanostructured materials. *Material Matters: 3-D Nano and Micro Structures*, 3(1), 19–22. https://www.sigmaaldrich.com/MX/es/technical-documents/technical-article/materials-science-and-engineering/solid-state-synthesis/electrospinning-an?srsId=AfmBOop9pq8cxynlk7KOnTdgyMdRoswNR2I9Ni7f-5V5Ej8j_b8xkXqO
- Zhou, H., Beevers, C. S., & Huang, S. (2011). The targets of curcumin. *Current Drug Targets*, 12(3), 332–347. <https://doi.org/10.2174/138945011794815356>
- Zong, X., Kim, K., Fang, D., Ran, S., Hsiao, B. S., & Chu, B. (2002). Structure and process relationship of electrospun bioabsorbable nanofiber membranes. *Polymer*, 43(16), 4403–4412. [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(02\)00275-6](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(02)00275-6)
- Ravindran, P. N., Babu, K. N., Sivaraman, K. (2007). *Turmeric: The Genus *Cúrcuma**. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Taylor, G. (1969). Electrically driven jets. *Proceedings of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 313(1515), 453-475.



SOCIBI

Sociedad Científica Internacional
de Biotecnólogos A.C.

World Journal of Bioscience and Biotechnology 2025, 1 (1):54-71

Journal homepage: <https://socibiotech.com/world-j-biosci-biotechnol>



REVIEW

ISSN:

Knowledge, traditional and scientific classification. An approach to the species of wild edible mushrooms of the genus *Russula* in Mexico

Conocimiento, clasificación tradicional y científica. Un acercamiento a las especies de hongos silvestres comestibles del género *Russula* en México

Díaz-Pérez Adriana¹; Pacheco-Cobos Luis²; Rodríguez-Palma Ma. Mercedes³; Montoya-Esquivel Adriana*³; Kong-Luz Alejandro³

¹Centro de Investigación en Ciencias Biológicas. Maestría en Biotecnología y Manejo de Recursos Naturales. Universidad Autónoma de Tlaxcala.

²Facultad de Biología, Universidad Veracruzana. ³Laboratorio de Biodiversidad, Centro de Investigación en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala, México.

*Corresponding author

E-mail address: ametnomicol@hotmail.com (Montoya-Esquivel)

ABSTRACT

Russula is one of the genera with the greatest biological diversity, in addition to its ecological importance in forests due to its associations with other trees and plants. People in rural communities living in areas surrounding forests, due to their in-depth knowledge of their environment, have classified them as inedible and edible species, assigned them common names, and identified morphological aspects that allow them to distinguish between edible and inedible species, as well as toxic species. They know the growth sites of fungi and the timing of sporome formation. However, despite the research conducted in these areas, problems have arisen in the scientific identification of sections of the genus *Russula*. Taxonomic classification of fungi, but particularly of *Russula*, has undergone significant changes thanks to advances in phylogenetic systematics, allowing more closely related groups to be integrated into current classification systems. Despite these efforts, many species continue to be identified and compared with European species even though they are known to be distinct species.

Resumen

Uno de los géneros con mayor diversidad biológica es *Russula*, además de su importancia ecológica en los bosques por las asociaciones que tienen con otros árboles y plantas. Las

personas de las comunidades rurales que habitan en las zonas aledañas a los bosques, debido a su profundo conocimiento de su entorno las han clasificado como especies no comestibles y comestibles, les han asignado nombres comunes, identifican los aspectos morfológicos que les permite distinguir entre una especie comestible y una que no lo es, e inclusive con una especie tóxica. Conocen los sitios de crecimiento de los hongos, la temporalidad de la formación de esporomas. Sin embargo y pese a las investigaciones realizadas en estos rubros se ha presentado una problemática en la identificación científica de las secciones del género *Russula*. La clasificación taxonómica en los hongos, pero en particular en *Russula* ha tenido cambios significativos gracias a los avances en la sistemática filogenética y ha permitido que grupos más afines se integren a los sistemas de clasificación actuales. A pesar de los esfuerzos, muchas especies siguen siendo identificadas y comparadas con las especies de Europa, aunque se sabe ya que son especies distintas.

Introducción

La Etnomicología es la disciplina que nace en México en la década de finales de los 50's y que actualmente se le considera el máximo exponente en esta área del conocimiento. Es el país donde se realiza una gran cantidad de trabajos de investigación que recopila, cataloga, analiza y plantea nuevas alternativas y estrategias para consolidar el método de obtención de información en una de las ramas de la Etnobiología más jóvenes (Moreno-Fuentes y Garibay-Orijel 2014).

La diversidad de los hongos comestibles en México, es una de las más importantes en términos de número de especies conocidas y aprovechadas, ubica a nuestro país entre los dos primeros lugares a escala internacional en materia de etnomicología (Moreno-Fuentes 2013). De hecho, hasta el momento es el segundo país con mayor número de especies de hongos silvestres consumidas de manera tradicional, sólo después de China (Garibay-Orijel y Ruan-Soto 2014).

El reino Fungi representa una de los más grandes acervos de la biodiversidad de México, posee una gran variación morfológica y de ciclos de vida (Herrera y Ulloa 1990), y además sus interacciones ecológicas son cruciales en todos los ecosistemas por la asociación micorrízica que tienen con las plantas (Ramírez 1995; Villareal y Pérez-Moreno 1989).

En lo que se refiere al conocimiento de la diversidad de hongos en México, Guzmán (1998) estimó que se conocen 4, 500 especies de macrohongos y 2 000 de microhongos; basado en revisiones bibliográficas y de especímenes de herbario. Estos representan sólo el 6.6% de lo que se conoce en el mundo. En México había reportadas 205 especies de hongos comestibles, según Villareal y Pérez-Moreno (1989), en su mayoría en los bosques de coníferas y en los bosques mesófilos de montaña.

Los últimos listados taxonómicos y etnomicológicos en México han registrado 11 especies de propiedades neurotrópicas que se han usado durante generaciones con fines rituales. Especies alimenticias se conocen 371 y 170 especies de hongos y líquenes medicinales. Además se deben considerar un poco más de 10 bebidas autóctonas y alóctonas tradicionales donde los hongos microscópicos son los protagonistas de los procesos de fermentación en dichas bebidas. Sin embargo, han sido reportadas alrededor de 100 especies de hongos con algún

grado de toxicidad, de las cuales 7 son consideradas mortales si se consumen al confundirlas con hongos comestibles (Moreno-Fuentes y Garibay-Orijel 2014).

En relación con la distribución que se tiene de los hongos en general, por entidades federativas aún se desconoce en la mayor parte del territorio mexicano. Sin embargo hay estados en la república que tienen los siguientes datos publicados: Veracruz hasta el 2017 cuenta en su acervo con 4,230 especies (INECOL, 2020), Jalisco 1, 040 especies (Sánchez-Jácome y Guzmán-Dávalos 2011), Estado de México 726 (Frutis-Molina y Valenzuela 2009), Sonora 658 (Esqueda *et al.* 2010), Durango con 614, Chihuahua con 580 (Aguirre *et al.* 2014) Tamaulipas con 563 (García-Jiménez y Guevara-Guerrero, 2005), Morelos con 480 (Contreras-MacBeath *et al.* 2006), Quintana Roo con 447 (Yuridia-López *et al.* 2011), Aguascalientes con 372 (Pardavé Díaz *et al.* 2007), para el estado de Tlaxcala registradas 226 especies de macromicetos para el Parque Nacional La Malinche (Kong *et al.* 2004), Puebla con 181 (Vázquez-Mendoza y Valenzuela, 2010), Campeche con 154 (Ancona-Méndez *et al.* 2010) y Yucatán con 153 (Yuridia-López *et al.* 2011). Los 17 Estados restantes, no se han obtenido datos dónde se mencionen el total de especies presentes en la actualidad.

Se han realizado diversas investigaciones para llevar acabo un acercamiento al conocimiento del número de especies de hongos que se encuentran presentes en el territorio nacional. Además, diferentes estimaciones por diversos autores han arrojado datos demasiado dispares, por ejemplo Guzmán (1998) estimó que se conocían 4500 especies de macrohongos y 2000 microhongos, datos basados en investigaciones bibliográficas y ejemplares disponibles dentro de colecciones biológicas., sin embargo, estos datos solo representarían el 6.6% de lo que se conocía alrededor del mundo, considerando la propuesta presentada por Kirk *et al.* (2008). Hawksworth (citado en Guzmán 1998) consideró que en México habría más de 200 000 especies de hongos, por lo que, considerando estos últimos datos el porcentaje de conocimiento de las especies es del 3.2%. Para Müller *et al.* (2007) propusieron que para tener una estimación más cercana a la presente en la naturaleza se debía considerar la relación planta-hongo en las diferentes regiones y/o por tipos de vegetación del país, así el número de macrohongos y microhongos estaría entre los 9 000 y 11 000 especies y considerando que hay plantas que no son especialistas en las interacciones con los hongos se pueden considerar entre 90 000 y 110 000 especies.

Diferentes registros con categoría científica, como Cifuentes (2008), proporcionó 2 135 registros de especies de hongos para México, agrupados en Basidiomycota (1 486 especies en 353 géneros y 87 familias), Ascomycota (646 especies en 275 géneros y 86 familias, incluyendo líquenes), Zygomycota (2 especies) y Oomycota (1 especie). No obstante, estos datos no reflejan con exactitud el número real de especies que se han citado para el país, porque muchas de éstas no están incluidas en bases de datos que la CONABIO o que otras dependencias gubernamentales o institutos o herbarios han recopilado.

Dentro de los Basidiomycetes hay una gran diversidad de hongos, particularmente en hongos agaricoides de las familias Amanitaceae, Boletaceae, Cortinariaceae, Inocybaceae Russulaceae, Entolomataceae o Tricholomataceae (Malloch *et al.* 1980; Smith y Read 1997; citado en Kong 2003). Por el número de especies, Russulaceae es una de las familias más diversas que se desarrollan en los bosques de pináceas, fagáceas y betuláceas del mundo

(Singer 1986). Sin embargo, las especies mexicanas no han sido suficientemente estudiadas. Actualmente se han registrado alrededor de 66 especies (Herrera y Guzmán 1961, Montoya y Bandala 1996, Acosta y Kong 1991, Laffèrre y Gilbertson 1992, Cifuentes *et al.* 1993, Rodríguez *et al.* 1993, Chacón 1995, Nava y Valenzuela 1997, García *et al.* 1998, Kong 1998 citado en Kong *et al.* 2002).

Los estudios de los hongos han abordado distintas áreas de la micología, como la biodiversidad de nuestro país, los usos y las costumbres de los pueblos originarios y la combinación de ambos para enriquecer tanto el conocimiento científico de las especies de interés alimentario como aquellas especies que tienen un papel fundamental en los distintos ecosistemas presentes en México (Montoya *et al.* 2003). La importancia cultural que algunos hongos tienen, el conocimiento tradicional que compone los saberes de las distintas etnias del país así como la cosmovisión que estos organismos contienen en sí mismos ha permitido una vasta recopilación de saberes y que cada vez ha ido avanzando con mejores técnicas metodológicas y no solo quedándose en las fases descriptivas de ciertas culturas sino profundizando en el conocimiento empírico que se tienen de organismos tan complejos.

El conocimiento tradicional

El conocimiento micológico tradicional es descrito como el conjunto de conocimientos que las personas de las comunidades locales poseen sobre los hongos de su ambiente, dicho conocimiento es la base de todo el proceso de aprovechamiento de los hongos silvestres (Bautista 2013). Se han realizado estudios en varias comunidades principalmente en las zonas aledañas a bosques, particularmente en bosques templados. El género *Russula* contiene diversas especies útiles desde el punto de vista alimentario (Härkönen *et al.* 1993). Particularmente en los bosques de encinos (*Quercus*) y en bosques de oyameles (*Abies*) se han observado la mayor diversidad de especies comestibles del género. Para las especies de *Russula* se les han asignado nombres comunes, en diversos idiomas que van desde el Náhuatl, Tutunakú, Zapoteco, y en todas las variantes de estas lenguas pero además en español, como “Cacalote”, “Tecax blanco”, “Xtakne-Tonkgolo” “Borregos”, “Pastelitos”, “Moraditos”, “Coloraditos”, “Duraznos”, etcétera (Montoya 1997; Kong 2003; Díaz-Pérez 2019).

El conocimiento profundo y detallado que se tiene de uso el género *Russula* para varias de las comunidades rurales, además de un conocimiento del entorno biológico, desde la identificación de las estructuras morfológicas que pueden ser clave para la diferenciación de especies tóxicas de las comestibles, la forma de reproducción, conocimiento ecológico pues se conocen con detalle el lugar donde se forman los esporomas y las asociaciones que tienen con ciertos árboles (asociaciones micorrízicas) así como las épocas específicas del año en donde se puede obtener el recurso fúngico (Caamal-Caamal *et al.* 2007)

Especies de importancia alimentaria del género *Russula*

En México se han realizado listados de especies nuevas para género *Russula* con interés alimentario (Tabla 1) a través de estudios y revisiones taxonómicas, sin embargo, existen algunos elementos que han limitado el conocimiento de las especies que pertenecen a este género; entre ellos: la falta de guías de campo, monografías y claves de determinación que

consideren las especies presentes en el territorio nacional (Montoya 1997, Kong 2003, Montoya *et al.* 2004).

En el área de la etnomicología, las especies de hongos identificadas de interés alimentario del género *Russula* son abundantes pero solo para ciertos complejos de especies como es el caso del complejo de *Russula delica*, no así con los otros grupos del género como en el caso de las secciones *Integrae*, *Sanguinea* y *Tenellula* (los hongos del género *Russula* que presentan una coloración rojiza en el píleo) (Montoya *et al.*, 2004 y Díaz-Pérez 2019).

Clasificación tradicional

La relación entre las diferentes culturas indígenas y su medio ambiente puede ser estudiada a través de la taxonomía Folk, la cual ha permitido por medio de su composición y estructura del estudio y el entorno natural y el contexto histórico que tienen las culturas originarias. La similitud entre la taxonomía Folk y la taxonomía científica tiene una forma universal de entender los fenómenos biológicos que los rodean. Precisamente es por eso que es indispensable el estudio de la taxonomía Folk para entender muchos de los elementos que componen los saberes tradicionales y socioculturales de las distintas comunidades rurales cercanas a los bosques y los recursos que obtienen de ellos (Tun 2016).

La taxonomía Folk se define como un sistema de clasificación que han desarrollado en las sociedades humanas como producto de las necesidades de la misma (Goyenechea 2006). Este sistema está basado generalmente, en atributos superficiales de los seres vivos y es realizado sin los paradigmas utilizados en las ciencias biológicas actuales, porque para la especie humana, que tiene una compulsión por el orden (Stuessy 1990). El hombre, por naturaleza, clasifica u organiza en su pensamiento los diversos elementos materiales o fenomenológicos que observa durante su vida diaria. De aquí, que los grupos humanos tienden a clasificar. Dichas clasificaciones implican, no obstante, ciertas premisas, las cuales son tomadas en cuenta, de una manera consciente o instintiva. Por ejemplo, deben considerarse una serie de atributos o caracteres que han de servir como criterios en la clasificación y, naturalmente, los objetivos que se persiguen. Así, de manera histórica, pueden distinguirse tres grandes tipos de clasificaciones: artificiales, mecánicas y naturales o filogenéticas (Radford 1986).

La sistemática o taxonomía se entiende como la disciplina que estudia la clasificación de los seres vivos. No obstante, en ocasiones el segundo término es reservado a aspectos meramente teóricos relacionados con los principios y procedimientos clasificatorios (Morrone, 2001). Al principio de la civilización, los sistemas de clasificación se basaban parcialmente en la utilidad alimenticia, medicinal y enteógena de plantas, o en sus propiedades tóxicas o venenosas (Moore *et al.*, 1995) y hongos (Samorini, 2001).

Crear sistemas de clasificación es un imperativo en la biología. El caso de los hongos no ha sido la excepción, aunque plantea un gran reto, pues después de las bacterias y los insectos, son probablemente el grupo más diverso en el planeta. Su enorme diversidad es evidente en su morfología, genética, fisiología y ecología, lo cual concuerda con dichos cálculos. Hawksworth *et al.* (1995) estimaron una cifra mundial de 1,500,000 morfoespecies de hongos,

mientras que para México, Guzmán (1998) ha calculado alrededor de 200,000 especies, de las cuales conocemos hasta el momento solamente 3,000, esto es, cerca del 3.3%.

Entre los personajes más importantes en la construcción de los sistemas de clasificación al interior de los hongos se encuentran Dillenius, Bulliard, Persoon, Fries y Saccardo y, más recientemente, micólogos como Singer y Hawksworth. Sin embargo, sólo se hará referencia a dos de ellos, a manera de ejemplo, para comparar el tipo de criterios y caracteres en un sistema de clasificación científica de hongos, en aquellos tiempos, y con respecto a una etnoclasificación. El grupo de los hongos ha sido subdividido bajo diversos criterios prácticos, aunque artificiales, por el mundo científico, independientemente de las clasificaciones naturales. Las entidades derivadas han recibido diversos nombres.

Ahora bien, los principios en los que se fundamenta la taxonomía Folk pueden sugerir que ésta última, deba ser considerada como un sistema clasificatorio de segunda categoría por debajo de la taxonomía científica. Sin embargo, la trascendencia de ambas taxonomías estará en función del propósito para el que se pretenda usar (Tun 2016; Barrera 1979). Por el hecho de la taxonomía científica se basan en las propiedades evolutivas de los linajes por comparación morfológica.

Sin embargo, a pesar de las distintas investigaciones de entoclasificación en varias culturas faltan muchos trabajos en México por su gran diversidad, aunado a los problemas que presentan las clasificaciones científicas en algunos grupos de hongos de interés alimentario, debido a su morfología por la presencia de complejos de especies o de especies crípticas dentro de los hongos. Un claro ejemplo es el caso del género *Russula* y considerando que es uno de los géneros más diversos en la naturaleza y al que le pertenecen un considerable número de especies consumidas en muchas de las culturas del país (Montoya *et al.* 2004; Kong 2003).

Tabla 1. Especies de interés alimentario reportadas en distintas zonas en México

No.	Tipo de sustrato	Hábito	Nombre científico	Registro México
1	Terrícola	Ectomicorrizógeno	<i>Russula</i> cf. <i>dissimulans</i> Shaffer	2014
2	Terrícola	Ectomicorrizógeno	<i>Russula variata</i> Banning	2014
3	Terrícola	Ectomicorrizógeno	<i>Russula</i> aff. <i>crustosa</i> Peck	2014
4	Terrícola	Ectomicorrizógeno	<i>Russula</i> sect. <i>Heterophyllae</i>	2014
5	Terrícola	Ectomicorrizógeno	<i>Russula flavida</i> Frost	2014
6	Terrícola	Ectomicorrizógeno	<i>Russula</i> aff. <i>pseudoaeruginea</i> (Romagn.) Kuyper y Vuure	2014
7	Terrícola	Ectomicorrizógeno	<i>Russula</i> aff. <i>odorata</i> Romagn	2019
8	Terrícola	Ectomicorrizógeno	<i>Russula macropoda</i> Singer	1997
9	Terrícola	Ectomicorrizógeno	<i>Russula mexicana</i> Burl	2019
10	Terrícola	Ectomicorrizógeno	<i>Russula murrillii</i> Burl	2019
11	Terrícola	Ectomicorrizógeno	<i>Russula</i> sp. 2 secc. <i>Integrae</i>	2019
12	Terrícola	Ectomicorrizógeno	<i>Russula</i> sp. 1 secc. <i>Integrae</i>	2019
13	Terrícola	Ectomicorrizógeno	<i>Russula</i> sp. 4 secc. <i>Sanguinea</i>	2019
14	Terrícola	Ectomicorrizógeno	<i>Russula</i> sp.3 Sg. <i>Tenellula</i>	2019
15	Terrícola	Ectomicorrizógeno	<i>Russula brevipes</i> Peck	Sin información
16	Terrícola	Ectomicorrizógeno	<i>Russula delica</i> Fr.	Sin información
17	Terrícola	Ectomicorrizógeno	<i>Russula romagnesiana</i> Shaffer	Sin información
18	Terrícola	Ectomicorrizógeno	<i>Russula cyanoxantha</i> (Sch.) Fr.	1997
19	Terrícola	Ectomicorrizógeno	<i>Russula mariae</i> Pk.	1997
20	Terrícola	Ectomicorrizógeno	<i>Russula</i> aff. <i>ornaticeps</i> Burl	1997
21	Terrícola	Ectomicorrizógeno	<i>Russula</i> aff. <i>rubroalba</i> (Sing.) Romagn	1997
22	Terrícola	Ectomicorrizógeno	<i>Russula herrerae</i> Kong	1997
23	Terrícola	Ectomicorrizógeno	<i>Russula aciculocystis</i>	1997
24	Terrícola	Ectomicorrizógeno	<i>Russula alutacea</i>	1997
25	Terrícola	Ectomicorrizógeno	<i>Russula</i> aff. <i>anthracina</i>	1997
26	Terrícola	Ectomicorrizógeno	<i>Russula</i> aff. <i>densifolia</i>	1997
27	Terrícola	Ectomicorrizógeno	<i>Russula</i> cf. <i>mexicana</i>	2005

28	Terrícola	Ectomicorrizógeno	<i>Russula acrifolia</i>	2005
29	Terrícola	Ectomicorrizógeno	<i>Russula xerampelina</i>	2009
30	Terrícola	Ectomicorrizógeno	<i>Russula nigricans</i> (Bull) FR.	1975
31	Terrícola	Ectomicorrizógeno	<i>Russula ochroleuca</i> (Pers.) FR.	1975
32	Terrícola	Ectomicorrizógeno	<i>Russula olivacea</i> (Schaffer.) FR.	1961
33	Terrícola	Ectomicorrizógeno	<i>Russula persicina</i> Krombil	1998
34	Terrícola	Ectomicorrizógeno	<i>Russula parazurea</i> Schaff	1997
35	Terrícola	Ectomicorrizógeno	<i>Russula puellaris</i> Fr.	1975
36	Terrícola	Ectomicorrizógeno	<i>Russula pusilla</i> Peck	1957
37	Terrícola	Ectomicorrizógeno	<i>Russula queletti</i> Fr.	1979
38	Terrícola	Ectomicorrizógeno	<i>Russula romellii</i> Maire	1961
39	Terrícola	Ectomicorrizógeno	<i>Russula rubra</i> Fr.	1929
40	Terrícola	Ectomicorrizógeno	<i>Russula sphagnophila</i> Kauffman	1975
41	Terrícola	Ectomicorrizógeno	<i>Russula vesca</i> Fr.	1961
42	Terrícola	Ectomicorrizógeno	<i>Russula violacea</i> Quel.	1975
43	Terrícola	Ectomicorrizógeno	<i>Russula virescens</i> (Schaff) Fr.	1929

El género *Russula*: definición, posición taxonómica y descripción del esporoma

Historia de las Rusuláceas

Agaricomycetes es una clase de hongos con alrededor de 100 familias, 1.147 géneros y 20.951 especies descritas (Kirk *et al.* 2010), incluyendo formas familiares como setas, orejas de palo, hongos coraloides, gasteroides y resupinatos (Binder *et al.* 2005).

El concepto Frisón que define el aspecto morfológico macroscópico del basidioma dominó los sistemas de clasificación en Agaricomycetes hasta el final de Siglo 20. Antes de eso, los hongos resupinados, amanitas, coraloides y los gasteroides se relacionaron de acuerdo con la morfología del basidioma, y era inconcebible que taxones con morfologías distintas clasificados juntos (Miller *et al.* 2006).

El sistema de clasificación Fries (1874) agrupó taxones con basado en las características morfológicas del himenóforo. Posteriormente Donk (1964, 1971) dividió las 6 familias de Aphylophorales, quienes incluir orejas de palo, del sistema Fries en 23 familias; Singer (1986) dividieron los Agaricales, los hongos típicos, en 17 familias; y Dring (1973) dividió la vieja clase Gasteromycetes, de hongos con himenio cerrado, en 9 órdenes con 23 familias (Hibbett & Thorn 2001). Sin embargo, la simplicidad anatómica, un escaso registro fósil (con el fósil más antiguo de un agaricomyceto que data del Cretácico, 200 m.a.), y la alta plasticidad fenotípica, dificultan la separación homologías de homoplasma, haciendo que el estudio de las relaciones evolutivas en hongos complejos (Hibbett y Donoghue 1995; Hibbett *et al.* 1997; Larsson y Larsson 2003).

Donk en 1971 fue el primero en discutir una posible relación entre géneros como *Hericium* Pers., *Equinodoncio* Ellis y Everh., *Gloeocystidiellum* Donk, *Boidinia* Stalpers y Hjortstam, *Russula* y *Lactarius*. Todos estos géneros tienen hifas gloeíferas y basidiosporas con ornamentación amiloide, pero con características macromorfológicas muy diferentes. Esta hipótesis se amplió y desarrollado por Oberwinkler (1977) quien ratificó la propuesta de un clado rusuloide (Larsson y Larsson 2003). Singer (1986) agrupó esporas con ornamentación amiloide, hifas sin fíbulas, trama himenoforal con esferocistos y / o hifas laticíferas en Russulinae Sing., Dentro de los Agaricales, que comprende en este suborden dos familias: Bondarsewiaceae, con *Bondarsewia* Singer y Russulaceae, que se compone de *Russula* y *Lactarius*. Posteriormente con base en estudios moleculares Hibbett y Donoghue (1995) y Hibbett *et al.* (1997) argumentó el reconocimiento de un solo linaje rusuloide, Russulales Kreisel ex PM Kirk, PF Cannon & JC David, donde se agrupan géneros con hifas gloeíferas y basidiosporas con ornamentación amiloide.

Miller *et al.* (2001) exploró la filogenia molecular de taxones agaricoides, gasteroides y pleurotoides en Russulales y sugirió el sinónimo de *Macowanitas* Kalchbr, *Gymnomyces* Masee y Rodway, *Cistangio* Singer y AH Sm., *Martellia* Mattir en *Russula*, y el sinónimo de *Zelleromyces* Singer y AH Sm. E *Arcangelliella* Cavara en *Lactarius*, puede justificarse taxonómicamente. En este estudio, los géneros de gasteroides se agruparon dentro de taxones establecidos en *Russula* y *Lactarius* sugiriendo múltiples orígenes de la forma gasteroide. Además, Larsson y Larsson (2003) proporcionaron para el estudio un mapa detallado de taxones de aphylophorales - rusuloide, incluyendo también representantes con morfologías diferentes. Todas las especies de agaricomycetos con sistema de hifas gloeopleurales incluidos en el análisis de Larsson y Larsson (2003) se agruparon en el clado rusuloide.

El monofiletismo de Russulales fue corroborado a través de la análisis de la secuencia de ADN innumerables veces durante los últimos décadas (Hibbett y Donoghue 1995; Hibbett *et al.* 1997; Hibbett y Binder 2002; Larsson y Larsson 2003; Binder *et al.* 2005; Miller *et al.* 2006) y el orden se caracteriza por la presencia de hifas oleosas y productos laticíferas, la gran mayoría de especies con esporas con ornamentación amiloide, y un sistema heterogéneo que consta de hifas generalmente sin fíbulas y con presencia de células globulares de paredes delgadas, denominadas esferocistos. Russulales comprende 12 familias, aproximadamente 80 géneros y 4.000 especies. Dentro de Russulales más de un tercio de las especies conocidas son géneros pertenecientes al Russulaceae Lotsy, familia definida por la presencia de esferocistos (células grandes, isodiamétricas) en la trama del sombrero, laminillas y estípites. A familia la gran mayoría de las especies conocidas son taxones agaricoides pertenecientes a *Russula* o *Lactarius* (Miller *et al.* 2006). *Lactarius furcatus* Coker y especies previamente asignado a *Russula* subsección *Ochricompaetae* Bills y O.K. Mill ahora están agrupados en el género *Multifurca* Buyck y Hofstetter. Los otros taxones de *Russula* formar un grupo monofilético. *Lactarius* se dividió en dos géneros: (1) *Lactarius*, que incluye los antiguos subgéneros *Piperitas* (Ex J. Kickx f.) Kauffman, *Russularia* P. Ex Burl.) Kauffman y *Plinthogalus* (Burl.) Hesler y AH Smith y 2) *Lactifluus* (Pers.) Hesler & A.H. Smith, *Lactariopsis* (Henn.) R. Heim, *Russulopsis* Verbekene la sección *Edules* Verbeken y sección *Panuoidei* Singer (Buyck *et al.* 2010; Norvell 2011; Hackel 2014; Verbeken & Nuytinck 2013). Aunque las relaciones dentro de la familia se aclararon en la última década, la clasificación infragenérica, especialmente en *Lactifluus* y *Russula*, todavía es inconsistente (Hackel 2014).

Delimitación de los géneros Russulaceae

Todavía no existe una clasificación natural y completa de *Russula* apoyado por algún tipo de análisis filogenético molecular. Desafortunadamente, circunscripciones anteriores de taxones infragenéricos en *Russula* en Europa, (donde se originó la mayor parte de la clasificación de este género), resultó en un sistema de consenso utilizable (Miller & Buyck 2002). Los principales sistemas de clasificación en *Russula* son tres: 1) Romagnesi ha compartido *Russula* en dos subgéneros, *Compacta* (P.) Bien., que incluye las secciones *Nigricatinae*, *Archaeinae* R. Heim ex Buyck & Sarnari e *Plorantinae* Romagn. 2) Singer dividió el género en 7 secciones, *Compacta* sensu Romagnesi se dividió en 3 secciones *Archaeinae*, *Plorantes* e *Compactae*. 3) Sarnari (1988) dividido en 17 secciones y 28 subsecciones que incluyen seis subgéneros (Miller & Buyck 2002). Según Miller y Buyck (2002), aparentemente muchos las diferencias parecen ser de nomenclatura. La larga historia taxonómica en *Russula* en Europa ha dado lugar a una gran cantidad de nombres diferentes para taxones infragenéricos similares (Miller y Buyck 2002).

Hesler y Smith (1979) presentan el arreglo principal taxonómico de *Lactarius* dividiéndolo en seis subgéneros: *Lactarius*, *Plinthogalus*, *Lactifluus*, *Tristes*, *Piperite* y *Russularia*. Estos subgéneros fueron posteriormente segregados en *Lactarius* (*Russularia*, *Piperites* e *Plinthogalus*) y *Lactifluus* (*Lactarius*, *Lactifluus* y *Lactariopsis* e L. sect. *Edules*) (Buyck et al. 2008; Verbeken y Nuytinck 2013).

Según Buyck et al. (2008) la distinción formal entre *Russula* y *Lactarius* depende enteramente de los caracteres asociados con el hifas laticíferas. En *Russula* no está ramificado y no se extiende en el himenio. En *Lactarius* los pseudocistidos del sistema laticífero ramificado se extienden hacia el himenio. Además, especímenes de *Lactarius* exuda látex cuando se manipula o corta, mientras especímenes de *Russula* no.

Según Van de Putte (2012) ni *Lactifluus* ni *Lactarius* se puede definir mediante caracteres sinapomórficos. Sin embargo, existen algunas tendencias morfológicas que podrían ayudar en la identificación de género. *Lactifluus* contiene muchas especies con velo, velutinoso a tomentoso píleo, así como especies anilladas. Píleo zonificado y viscoso a glutinoso, por otro lado, están ausentes en miembros de *Lactifluus*, pero se encuentran comúnmente en *Lactarius*. Las especies de pleurotooides se registraron solo en *Lactifluus*, Mientras que las especies angiocarpianas solo se encontraron en *Lactarius*. Microscópicamente, esferocistos himeniales, cistidos himeniales de pared engrosada (lamprocistidios), así como elementos de la pared engrosados en pileipellis son más típicos de *Lactifluus*. Cistidios himeniales de paredes delgadas con contenido granular y en forma de aguja, llamados macrocistidios, son comunes en *Lactarius* y típico de *Russula* (Van de Putte 2012).

Una de las diferencias más llamativas entre *Lactarius* y *Lactifluus* es la distribución geográfica (Van de Putte 2012). A pesar de que *Lactarius* presentando muchas especies con distribución tropical o subtropical, es notable que incluye especies conocidas por las regiones templadas y boreales. *Lactifluus*, por otro lado, son pocas las especies que ocurren en las regiones templadas, y la mayoría de los taxones se encuentran en los trópicos y subtrópico.

Multifurca puede ser reconocido por la combinación de varios caracteres: píleo, laminillas de color claro y zonificado concéntricamente bifurcados regularmente de amarillo a salmón en el basidioma maduro, contexto zonificado, espón oscuro y esporas pequeñas (máximo 7,1 x 5,9 µm) débilmente ornamentado. La distribución actualmente conocida para el género es el sur de América del Norte, Costa Rica, Nueva Caledonia Tailandia, India y China (Buyck *et al.* 2008; Wang y Liu 2010; Lebel *et al.* 2013).

Russulaceae es muy conocida en Europa, América del Norte y recientemente se han iniciado más estudios en las regiones tropicales América Central y África. Hasta el momento están registrados a nivel mundial 650 especies de *Lactarius*, 118 de *Lactifluus*, 5 de *Multifurca* y 750 de *Russula* (Kirk *et al.* 2008; Verbeken *et al.* 2011; Van de Putte 2012). Se conocen pocos registros para México, de especies nativas de Russulaceae (Herrera y Guzmán 1961, Montoya y Bandala 1996, Acosta y Kong 1991, Laffèrrire y Gilbertson 1992, Kong 1998 citado en Kong *et al.* 2002).

El género *Russula* (Persoon 1796), lo componen alrededor de 750 especies, comprende esporomas terrícolas, carnosos y aéreos de consistencia granulosa, con o sin presencia de anillo, sin volva, con coloraciones que van desde el blanquecino, amarillento, rosado, rojizo, anaranjado, azul, verdes, parduzcos e incluso grisáceo o negruzcos, con láminas y lámelulas y que tienen interacciones con plantas para la formación de ectomicorrizas. Caracterizados microscópicamente por poseer en sus estructuras hifas lactíferas y una trama compuesta por esferocistos, con esporas subglobosas, elipsoides y ornamentadas verrugosas, verruculosas, con espinas aisladas o crestas alineadas formando retículos incompletos o completos (Singer 1986).

La creación de un sistema de clasificación más estable en un clado grande y complejo como Russulaceae es fundamental ayudar durante el proceso de identificación por género. Un esquema de calificación sólido también puede ayudar a identificar ejemplares más eficazmente y útil para la separación de entidades taxonómicas.

Posición taxonómica del género *Russula* hábitat y ecología

El género *Russula* actualmente tiene la siguiente posición taxonómica: pertenece al reino Fungi, phylum Basidiomycota, clase Basidiomycetes, subclase Agaricomycetidae, orden Russulales Kreisel 1969, familia Russulaceae Losty (1907) y el género *Russula* Persoon (1796). Este género está definido por la ausencia de látex, la presencia de esferocistos, incluso en la trama laminar, tiene las basidiosporas con ornamentación amiloide y por tener esporadas de color blanco, crema, ocre o amarillentas (Singer 1986).

La morfología del género *Russula*

Para conocer la identidad de cualquier especie del género *Russula*, es indispensable el conocer bien los caracteres en fresco que presentan los materiales recolectados. Es necesario recopilar y analizar información precisa no sólo de los caracteres macro-morfológicos en fresco, sino también de los caracteres micro-morfológicos (Tabla 2), datos ecológicos y reacciones químicas

de las recolecciones. Esto se debe a que *Russula* es un género muy diverso y muchas de sus especies morfológicamente son similares entre sí (Kong 2003).

Tabla 2. Datos considerados en las descripciones macro y micromorfológicas de los esporomas en el género *Russula*.

Caracteres morfológicos			
Caracteres macromorfológicos		Caracteres micromorfológicos	
Píleo	Forma	Basidiosporas	Tamaño
	Ornamentación		Forma
	Color		Ornamentación
	Margen		Placa
	Borde	Basidios	Tamaño
	Diamétero		Forma
	Consistencia		Esterigmas
	Pileipelis	Cistidios	Forma
	Textura		Terminación apical
Láminas	Unión		Reacciones químicas
	Frecuencia		Tipo de inserción
	Bifurcaciones		Proyección
	Lamélulas	Células marginales	Queilocistidio
	Forma		Fértiles
	Ancho		Estéril
	Consistencia	Subhimenio	Composición
	Forma del borde	Trama	Tipo de esferocistos
	Color		Tipos de hifas
Estípite	Tamaño	Pileipelis	Reacciones químicas
	Forma		Pileomacrocistidios
	Ornamentación		Estructura
	Velo		Composición
	Color		Hifas primordiales
	Consistencia		Crines
	Terminación en la base		Pigmentos

Conclusiones

Frente a la evidencia que se ha recabado bibliográficamente, los problemas que presentan, tanto la taxonomía Folk como la científica en lo que corresponde al género *Russula* son muchos y muy variados, principalmente los atribuidos a la taxonomía científica que tiene una particularidad de hacer las clasificaciones con base en caracteres morfológicos por similitud y esto se ha convertido en un problema a la hora de la identificación a nivel de especies. Las clasificaciones actualmente deben de tomar caracteres sinapomórficos basados en caracteres moleculares y los caracteres morfológicos de los individuos de cada especie. Esto hará que las clasificaciones e identificaciones se hagan de una forma mucho más eficiente y se podrán separar especies crípticas o complejos de especies que se han reportado como una sola especie.

El género *Russula* es uno de los más importantes en cuanto a las especies de interés alimentario para las diferentes culturas de los pueblos originarios del país. Sin embargo la escasez de trabajos dirigidos sólo al género deja muchas interrogantes por cubrir a pesar de los esfuerzos realizados por los investigadores del área etnomicológica. Especies que se han reportado en los diferentes listados que son utilizadas como alimento se han reportado como tóxicas en la taxonomía científica.

La clasificación Folk en el género, es utilitaria, al menos en los artículos consultados. Se clasifican por las comunidades como “hongos comestibles” y como “hongos no comestibles” u “hongos venosos”, aunque este último término es para determinar varios grados de toxicidad presentes en estos hongos. Sin embargo, el conocimiento tradicional que hay de las especies del género *Russula* en las distintas zonas rurales del país es profundo y muy amplio. Conocen el entorno natural donde se desarrollan las especies de interés alimentario, reconocen las estructuras morfológicas y les asignan nombres comunes que les da la comunidad incorporándolos así a su cultura.

Referencias

Acosta, R. y Kong, A. (1991). Guía de las excursiones botánicas y micológicas al Cerro El Peñón y Cañada Grande del estado de Tlaxcala. IV Congreso Nacional de Micología. Jardín Botánico Tizatlán, Folleto 8:1-82. Tlaxcala.

Aguirre, A. E., Ulloa, M., Aguilar, S., Cifuentes, J. y Valenzuela, R. (2014). Biodiversidad de hongos en México. Revista Mexicana de Biodiversidad, 85(Supl.), S76-S81.

Ancona-Méndez, L., Cetz-Zapata, G. y Garma-Baéz, P. (2010). Hongos. En G. J. Villalobos-Zapata y J. Mendoza-Vega (coord.), La biodiversidad en Campeche. Estudio de estado (pp. 186-189). CONABIO, Gobierno del estado de Campeche, Universidad de Campeche, El Colegio de la Frontera Sur.

Bautista-González, J. A. (2013). Conocimiento tradicional de hongos medicinales en seis localidades diferentes del país [Tesis de Licenciatura]. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.

- Bernal, J. D. (1979). La ciencia en la historia. UNAM-Nueva Imagen.
- Binder, M., Hibbett, D. S., Larsson, K.-H., Larsson, E., Langer, E. y Langer, G. (2005). The phylogenetic distribution of resupinate forms across the major clades of mushroom-forming fungi (Homobasidiomycetes). *Systematics and Biodiversity*, 3(2), 1-45.
- Buyck, B., Hofstetter, V., Eberhardt, U., Verbeken, A. y Kauff, F. (2008). Walking the thin line between *Russula* and *Lactarius*: the dilemma of *Russula* subsect. *Ochricompactae*. *Fungal Diversity*, 28, 15-40.
- Buyck, B., Hofstetter, V., Verbeken, A. y Walley, R. (2010). (1919) Proposal to conserve *Lactarius* nom. cons. (Basidiomycota) with a conserved type. *TAXON*, 59(1), 295-296.
- Caamal, L., Montoya, A., Trejo, L. y Castillo, C. (2017). Estado del arte relativo al conocimiento tradicional de los hongos silvestres en el estado de Tlaxcala, México. *Mexican Journal of Biotechnology*, 2(1), 1-14.
- Chacón, S. (1995). Nuevos registros de Agaricales (Fungi) de México. *Acta Botánica Mexicana*, 30, 9-12.
- Cifuentes, J. (2008). Hongos. Catálogo taxonómico de especies de México. En *Capital natural de México, Vol. 1: conocimiento actual de la biodiversidad*. CONABIO.
- Cifuentes, J., Villegas, M. y Pérez-Ramírez, L. (1993). Hongos macroscópicos. En I. Luna Vega y J. Llorente Bousquets (eds.), *Historia Natural del Parque Ecológico Estatal Omiltemi, Chilpancingo, Guerrero, México* (pp. 59-126). CONABIO-UNAM.
- Contreras-MacBeath, T., Jaramillo, F. y Boyás, J. C. (2006). Estudio del Estado de Morelos.
- Díaz-Pérez, A. (2019). Conocimiento tradicional de los hongos comestibles silvestres, a través de un estudio de caso en San Felipe Hidalgo, Nanacamilpa, Tlaxcala [Tesis de licenciatura]. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM.
- Donk, M. A. (1964). A conspectus of the families of the Aphyllophorales. *Persoonia*, 3, 199-324.
- Donk, M. A. (1971). Progress in the study of the classification of the higher basidiomycetes. En R. H. Petersen (ed.), *Evolution in the higher basidiomycetes* (pp. 3-25). University of Tennessee Press.
- Dring, D. M. (1973). Gasteromycetes. En G. C. Ainsworth, F. K. Sparrow y A. S. Sussman (eds.), *The Fungi, an advanced treatise* (Vol. IV B, pp. 451-478). Academic Press.
- Esqueda, M., Coronado, M., Gutiérrez, A., Valenzuela, R., Chacón, S., Gilbertson, R. L., Herrera, T., Lizárraga, M., Moreno, G., Pérez, S. E. y Van Devender, T. R. (2010). Hongos. En F. E. Molina-Freaner y T. R. Van Devender (eds.), *Diversidad biológica de Sonora* (pp. 189-205). UNAM, CONABIO.
- Fries, E. M. (1874). *Hymenomycetes Europaei*. E. Berling.

Frutis, M. I. y Valenzuela, R. (2009). Macromicetos. En G. Ceballos, R. List, G. Garduño, R. López-Cano, M. J. Muñozcano-Quintanar, E. Collado y J. E. San Román (comps.), La diversidad biológica del Estado de México. Estudio de estado (pp. 243-249). Gobierno del Estado de México.

García, J., Pedraza, D., Silva, C. I., Andrade, R. L. y Castillo, J. (1998). Hongos del estado de Querétaro. Universidad Autónoma de Querétaro.

García-Jiménez, J. y Guevara, G. (2005). Macromicetos (Hongos Superiores) de Tamaulipas. Biodiversidad Tamaulipeca, 1, 67-79.

Garibay-Orijel, R. y Ruan, S. F. (2014). Listado de los hongos consumidos como alimento tradicional en México. En Á. Moreno-Fuentes y R. Garibay-Orijel (eds.), La Etnomicología en México. Estado del Arte. Red de Etnoecología y Patrimonio Biocultural (CONACyT)-Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

Goyenechea, I. (2006). Sistemática: su historia, sus métodos y sus aplicaciones en las serpientes del género *Conopsis*. *Ciencia Ergo Sum*, 14(1), 54-62.

Guzmán, G. (1998). Inventorying the fungi of Mexico. *Biodiversity and Conservation*, 7, 369-384.

Hackel, J. (2014). Origins and diversification of neotropical taxa in a cosmopolitan lineage of ectomycorrhizal fungi (Basidiomycota: Russulaceae) [Tesis de Maestría]. Université Toulouse III – Paul Sabatier.

Härkönen, M., Saarimäki, T. y Mwasumbi, L. (1993). Tanzanian mushrooms and their uses 2. An edible species of *Coprinus* section *Lanatu*. *Karstenia*, 33, 51-59.

Hawksworth, D. L., Kirk, P. M., Sutton, B. C. y Pegler, D. N. (1995). *Ainsworth and Bisby's dictionary of the fungi* (8a ed.). CAB International.

Herrera, T. y Guzmán, G. (1961). Taxonomía y ecología de los principales hongos comestibles de diversos lugares de México. *Anales del Instituto de Biología de la UNAM*, 32, 33-135.

Herrera, T. y Ulloa, M. (1990). *El Reino de los hongos, micología básica y aplicada*. UNAM-Fondo de Cultura Económica.

Hesler, L. R. y Smith, A. H. (1979). *North American species of Lactarius*. University of Michigan Press.

Hibbett, D. S. y Donoghue, M. J. (1995). Progress toward a phylogenetic classification of the Polyporaceae through parsimony analysis of mitochondrial ribosomal DNA sequences. *Canadian Journal of Botany*, 73(Supl. 1).

Hibbett, D. S., Pine, E. M., Langer, E., Langer, G. y Donoghue, M. J. (1997). Evolution of gilled mushrooms and puffballs inferred from ribosomal DNA sequences. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94, 12002-12006.

- Hibbett, D. S. y Thorn, R. G. (2001). Basidiomycota: Homobasidiomycetes. En M. M. Lemke (ed.), *The Mycota VII Part B* (pp. 1-50). Springer-Verlag.
- Kirk, P. M. y Stalpers, J. (2010). *Dictionary of Fungi* (10a ed.). CAB International.
- Kirk, P., Cannon, P. F., Minter, D. W. y Stalpers, J. A. (2008). *Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi* (10a ed.). CAB International.
- Kong, A. (1998). Ectomycorrhizal Agaricales of Tlaxcala, México. *Mellvainea*, 13(2), 13-24.
- Kong, A., Montoya, A. y Estrada-Torres, A. (2002). *Russula herrerae*, a new species with marginal veil from Mexico. *Mycologia*, 92(2), 290-296.
- Kong, A., Montoya, A. y Estrada-Torres, A. (2004). Hongos macroscópicos. En J. A. Fernández y J. C. López-Domínguez (comps.), *Diversidad del Parque Nacional Malinche* (pp. 223). Coordinación General de Ecología, Gobierno de Tlaxcala.
- Kong-Luz, A. (2003). El género *Russula* (Fungi, Russulales) en el Parque Nacional la Malinche [Tesis de Maestría]. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Laferrière, J. E. y Gilbertson, R. L. (1992). Fungi of Nabogame, Chihuahua, Mexico. *Mycotaxon*, 44, 73-87.
- Larsson, E. y Larsson, K. H. (2003). Phylogenetic relationships of russuloid basidiomycetes with emphasis on aphyllporalean taxa. *Mycologia*, 95, 1037-1065.
- Lebel, T. y Tonkin, J. E. (2007). Australasian species of *Macowanites* are sequestrate species of *Russula* (Russulaceae, Basidiomycota). *Australian Systematic Botany*, 20, 355-381.
- Malloch, D. W., Pirozynski, K. A. y Raven, P. H. (1980). Ecological and evolutionary significance of mycorrhizal symbioses in vascular plants (a review). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 77, 2113-2118.
- Miller, S. L. y Buyck, B. (2002). Molecular phylogeny of the genus *Russula* in Europe with a comparison of modern infrageneric classifications. *Mycological Research*, 106, 259-276.
- Miller, S. L., Larsson, E., Larsson, K. H., Verbeken, A. y Nuytinck, J. (2006). Perspectives in the new Russulales. *Mycologia*, 98(6), 960-970.
- Miller, S. L., McClean, T. M., Walker, J. F. y Buyck, B. (2001). A Molecular Phylogeny of the Russulales Including Agaricoid, Gasteroid and Pleurotoid Taxa. *Mycologia*, 93(2), 344-354.
- Montoya, L. y Bandala, V. M. (1996). New and interesting species of *Lactarius* from Mexico including scanning electron microscope observations. *Mycotaxon*, 57, 411-424.
- Montoya, A., Kong, A., Estrada-Torres, A., Cifuentes, J. y Caballero, J. (2004). Useful wild fungi of La Malinche National Park, Mexico. *Fungal Diversity*, 17, 115-143.
- Moore, R., Clark, W. D. y Stern, K. R. (1995). *Botany*. Wm. C. Brown Publishers.

Moreno-Fuentes, Á. y Garibay-Orijel, R. (eds.). (2014). La Etnomicología en México. Estado del Arte. Red de Etnoecología y Patrimonio Biocultural (CONACyT)-Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

Moreno-Fuentes, Á. (2013). Un recurso alimentario de los grupos originarios y mestizos de México: los hongos silvestres. *Anales de Antropología*, 48(1).

Morrone, J. J. (2001). Sistemática, biogeografía y evolución. Los patrones de la biodiversidad en el tiempo-espacio. UNAM.

Müller, G. M., Schmit, J. P., Leacock, P. R., Buyck, B., Cifuentes, J., Desjardin, D. E., Halling, R. E., Hjortstam, K., Iturriaga, T., Larsson, K. H., Lodge, D. J., May, T. W., Minter, D., Rajchenberg, M., Redhead, S. A., Ryvarden, L., Trappe, J. M., Watling, R. y Wu, Q. (2007). Global diversity and distribution of macrofungi. *Biodiversity and Conservation*, 16, 37-48.

Nava, R. y Valenzuela, R. (1997). Los macromicetos de la sierra de Nanchititla; I. *Polibotánica*, 5, 21-36.

Oberwinkler, F. (1977). Das neue System der Basidiomyceten. En W. Frey, H. Hurka y F. Oberwinkler (eds.), *Beiträge zur Biologie der neideren Pflanzen* (pp. 59-104). Gustav Fischer Verlag.

Pardavé-Díaz, L. M., Flores-Pardavé, L., Franco-Ruiz Esparza, V. y Robledo-Cortés, M. (2007). Contribución al conocimiento de los hongos (macromicetos) de la Sierra Fría, Aguascalientes. *Investigación y Ciencias de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*, 37, 4-12.

Radford, S. (1986). *Fundamentals of plant systematics*. Harper International Edition.

Ramírez, J. (1995). Los hongos, inflorescencias de la tierra poco valoradas. *Biodiversitas*, 2, 7-10.

Rodríguez, O., Guzmán-Dávalos, L. y Vázquez, L. S. (1993). Nuevos registros de hongos para México. *Micología Neotropical Aplicada*, 6, 61-71.

Samorini, G. (2001). *Funghi allucinogeni, studi etnomicologici*. Telesterion.

Sánchez Jácome, M. R. y Guzmán D., L. (2011). Hongos citados para Jalisco, II. *Ibuganda*, 16, 25-60.

Sarnari, M. (1988). *Monographia illustrata del genere Russula in Europa*. Associazione Micologica Bresadola.

Singer, R., Araujo, I. y Ivory, M. H. (1983). *Ectotrophically Mycorrhizal Fungi of the Neotropical Lowlands, Especially Central Amazonia*. Nova Hedwigia.

Singer, R. (1986). *The Agaricales in Modern Taxonomy*. Koeltz Scientific Books.

Smith, S. E. y Read, D. J. (2008). *Mycorrhizal Symbiosis* (3a ed.). Academic Press.

Stuessy, T. F. (1990). Plant taxonomy. The systematic evaluation of comparative data. Columbia University Press.

Tun, T. C. E. (2016). Taxonomía popular y taxonomía científica: ¿hay correspondencia? [Tesis de Posgrado]. Centro de Investigación Científica de Yucatán.

Van de Putte, K. (2012). Hidden diversity exposed: a case study of *Lactifluus volemus* sensu lato [Tesis Doctoral]. Ghent University.

Vázquez-Mendoza, S. y Valenzuela-Garza, R. (2010). Macromicetos de la Sierra Norte del estado de Puebla, México. *Naturaleza y Desarrollo*, 8, 46-61.

Verbeken, A. y Nuytinck, J. (2013). Not every milkcap is a *Lactarius*. *Scripta Botanica Belgica*, 51, 162-168.

Villarreal, L. y Pérez, M. J. (1989). Los hongos comestibles silvestres de México: Un enfoque integral. *Micología Neotropical Aplicada*, 2, 77-114.

Wang, X. H. y Liu, P. G. (2010). *Multifurca* (Russulales), a genus new to China. *Cryptogamie, Mycologie*, 31(1), 9-16.

Yuridia-López, C., Guevara-Guerrero, G. y Alonso Riverol, J. I. (2011). Hongos macromicetos. En C. Pozo (ed.), *Riqueza biológica de Quintana Roo. Un análisis para su conservación* (Tomo 2, pp. 24-29). El Colegio de la Frontera Sur.



SOCIBI

Sociedad Científica Internacional
de Biotecnólogos A.C.

World Journal of Bioscience and Biotechnology 2025, 1 (1):72-89

Journal homepage: <https://socibiotech.com/world-j-biosci-biotechnol>



REVIEW

ISSN:

Dehydration technologies applied to maguey savia (aguamiel) *Agave salmiana* for the production of sweeteners

Tecnologías de deshidratación aplicadas en savia de maguey (aguamiel) *Agave salmiana* para la elaboración de edulcorantes

José Armando Narvaez-Padilla*¹, Daniel Méndez-Iturbide²

¹Centro de Investigación de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Tlaxcala, Tlaxcala, México.

²Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela de Nutrición, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Tlaxcala, México.

*Corresponding author

*Email: quimfiloslife@gmail.com (Narvaez-Padilla)

ABSTRACT

In the current landscape of the food industry and nutrition, the search for healthy alternatives to sugar has driven interest in natural products such as agave nectar. This review provides a comprehensive overview of agave nectar production, starting with the botanical characteristics of the *Agave* genus and exploring information from various studies on the chemical composition, nutritional characteristics, and potential as a natural sweetener of agave nectar. Additionally, different dehydration technologies were found, including conventional evaporation, rotary evaporation distillation, freeze-drying, and spray drying, each with their respective advantages and disadvantages. Agave nectar emerges as a prominent example of how tradition and innovation come together to create products that satisfy tastes and promote a healthier and more sustainable lifestyle for individuals with conditions associated with type II diabetes.

Key words: *Agave salmiana*, Agave sap, Maguey honey, Natural sweeteners.

RESUMEN

En el actual panorama de la industria alimentaria y la nutrición, la búsqueda de alternativas saludables al azúcar ha impulsado el interés en productos naturales como el aguamiel de maguey. Este trabajo de revisión ofrece una visión completa de la producción de miel de maguey, partiendo de las generalidades botánicas del género *Agave*, y encontrando en diversos trabajos información sobre la composición química, características nutricionales y potencial como edulcorante natural del aguamiel de maguey. Además, se encontraron diferentes tecnologías de deshidratación, incluyendo la evaporación convencional, la destilación por rota-evaporación, la liofilización y el secado por aspersión, con sus respectivas ventajas y desventajas. La miel de maguey emerge como un ejemplo destacado de cómo la

tradición y la innovación se unen para crear productos que satisfacen los paladares y promueven un estilo de vida más saludable y sostenible en personas con patologías asociadas con la diabetes Mellitus tipo II.

Palabras clave: *Agave salmiana*, Aguamiel, Miel de maguey, Edulcorantes naturales,

1. Introducción

En el mundo de la alimentación y la nutrición, la búsqueda de alternativas saludables al azúcar refinado ha adquirido una importancia creciente en la última década. En este contexto, las propiedades únicas del aguamiel de maguey, extraído de la planta *Agave salmiana*, han captado la atención de consumidores y productores por igual. La miel de maguey, conocida por su sabor distintivo y su riqueza nutricional, se ha convertido en un producto de gran interés en la industria alimentaria.

Este artículo ofrece una exploración integral de todos los aspectos relacionados con la producción de miel de maguey, desde las generalidades botánicas del género *Agave* hasta las tecnologías de deshidratación aplicadas en su procesamiento. Comenzaremos por comprender el contexto botánico y geográfico de la planta *Agave salmiana*, identificando su importancia. Luego, examinaremos el aguamiel de maguey desde una perspectiva química, revelando su composición físico-química y características nutricionales. No solo destacaremos sus propiedades como un edulcorante natural, sino también su potencial enriquecedor en la industria de alimentos.

En la última sección, profundizaremos en las tecnologías de deshidratación utilizadas en la producción de miel de maguey. Examinaremos en detalle las ventajas y desventajas de métodos como la evaporación convencional, la destilación por rota-evaporación, la liofilización y el secado por aspersión, brindando una visión integral de las opciones disponibles para los productores y su impacto en la calidad del producto final.

La miel de maguey, con su equilibrio entre tradición y tecnología, se presenta como un ejemplo destacado de cómo la diversidad botánica puede contribuir a la promoción de opciones más saludables y sostenibles en la industria alimentaria. Su singularidad no solo resalta el potencial de los productos naturales, sino que también subraya la importancia de valorar y preservar la riqueza cultural y botánica de las regiones donde se cultiva.

A lo largo de este artículo, exploraremos los distintos elementos que componen esta historia, destacando la relevancia de la miel de maguey en la industria de alimentos y en la elección de productos más saludables por parte de los consumidores.

2. Generalidades del género *Agave*

El género *Agave* pertenece a la familia de las *Asparagaceae* y comprende un grupo diverso de plantas suculentas, conocidas comúnmente como agaves. Estas plantas son nativas de las regiones áridas y semiáridas de América, desde el suroeste de Estados Unidos hasta América del Sur. El género *Agave* es conocido por su resistencia a las condiciones adversas y su capacidad para almacenar agua en sus hojas suculentas. (Cruz Vasconcelos, S. T. 2019)

Los agaves presentan una serie de características morfológicas distintivas:

- Hojas suculentas y carnosas dispuestas en rosetas basales.
- Inflorescencias que pueden alcanzar alturas impresionantes con flores en forma de campana.
- Espinas en los bordes de las hojas en muchas especies.
- Altura y forma de la planta que varían según la especie. (Cruz Vasconcelos, S. T. 2019)

Respecto a su clasificación taxonómica existe un consenso, éste permite tener identificados con plenitud los elementos a tomar en cuenta para que se emplee una correcta caracterización en campo cuando la investigación así lo requiere, para lo cual están disponibles fichas monográficas que exponen estos detalles a nivel morfológico y que brindan la posibilidad de analizar cuidadosamente la especie sobre la cual descansa la investigación, a continuación se presentan los detalles Taxonómicos del Género *Agave* (Vargas Vázquez, C. G. 2009)

Reino: *Plantae*

División: Angiospermas (plantas con flores)

Clase: Monocotiledóneas

Orden: *Asparagales*

Familia: *Asparagaceae*

Género: *Agave*

A nivel fisiológico diversas investigaciones han escrito que los agaves utilizan fotosíntesis crasulácea, una adaptación que les permite conservar agua al abrir sus estomas durante la noche para reducir la pérdida de agua. (Huezcas-Garrido, 2022)

Además de que presentan una adaptación de almacenamiento de agua en las hojas para sobrevivir en condiciones de sequía. Lo que permite que la planta pueda adaptarse a ubicaciones geográficas muy diversas incluso en aquellas cuyo volumen de precipitación anual es extremadamente bajo, ésta planta puede someterse a estrés hídrico, mismo que puede jugar como un parámetro de calidad cuando a nivel económico se evalúa el beneficio derivado de los procesos productivos que engloba la planta.

Es importante también definir que la planta posee una larga vida útil respecto a la producción de hojas (pencas), esto le confiere amplias posibilidades productivas, estudios señalan que la madurez de la planta es alcanzada en condiciones basales aproximadamente a los 18 o 20 años, cuando ocurre o se expresa la capacidad de producir una única inflorescencia al final de su ciclo de vida. (Huezcas-Garrido, 2022)

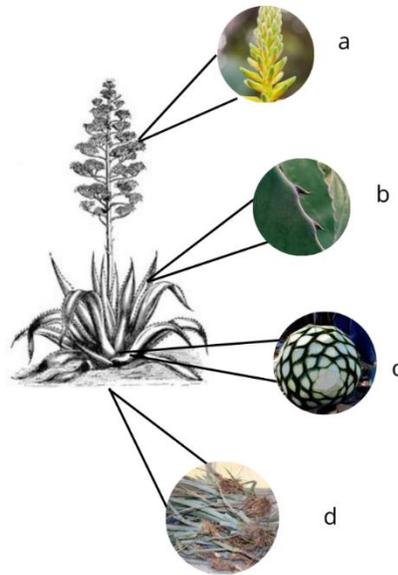


Fig.1. Anatomía proximal del maguey *Agave salmiana* a) Escarpo foral, b) Hoja o penca en roseta, c) Piña, d) Raíz

2.1. Introducción a la especie *Agave Salmiana*

Agave salmiana es una especie de *agave* que se encuentra principalmente en el centro de México, es notable por ser la planta de la cual se obtienen las materias primas para la elaboración de la bebida alcohólica tradicional conocida como pulque, en el centro de México más que de una bebida se trata de un ritual que proviene desde los tiempos del esplendor de las culturas mesoamericanas, como lo es la cultura y todo el mundo Nahuatl, éste maguey ha tenido un proceso de domesticación que en este momento de las investigaciones es irrazonable, no obstante la gran versatilidad de adaptaciones a los diferentes medios ha permitido su supervivencia y su importancia nivel productivo ha permitido que su cultivo ya no sea solo basal sino ahora tecnificado. Algunas de sus características más notables incluyen:

- Tamaño medio a grande, con rosetas de hojas que pueden alcanzar hasta 2 metros de diámetro.
- Hojas largas, carnosas y puntiagudas, con espinas a lo largo de los márgenes.
- Inflorescencia alta y robusta con flores amarillas o verdes.
- Su nombre específico "salmiana" hace referencia al término náhuatl "tlachiquero" que significa "quien extrae aguamiel". (Cruz Vasconcelos, S. T. 2019)

2.2. Características fisicoquímicas de agua miel *Agave Salmiana*

El aguamiel es un líquido dulce y acuoso que se extrae del corazón de las rosetas de *Agave salmiana* antes de que la planta florezca. Tiene propiedades fisicoquímicas y nutricionales notables: Rico en azúcares, principalmente fructosa y glucosa. Contiene minerales como calcio, hierro y magnesio. Su perfil de nutrientes y sabor varía según la región y el tiempo de

recolección. El aguamiel se utiliza tradicionalmente como endulzante y también puede fermentarse para producir bebidas alcohólicas como el pulque (Bautista, N., & Arias, G. C, 2008).

El aguamiel es básicamente el exudado de la planta conocida como maguey, el cual se obtiene por procesos artesanales cuando la planta alcanza un estado de madurez previo a su reproducción, el maguey es capado, posteriormente raspado y finalmente se obtiene el néctar exudado tal como lo describe (Bautista, N., & Arias, G. C, 2008)

Se han descrito las propiedades nutricionales del aguamiel, entre las que se encuentran una importante cantidad de azúcares reductores y no reductores, proteínas, minerales, vitaminas hidrosolubles, aminoácidos, etc. (Huezcas-Garrido, 2022). Además, se ha encontrado la presencia de Fructooligosacáridos y minerales como calcio, hierro y zinc (Hernández-Ramos et al., 2020)

Así mismo, componentes bioactivos, los cuales son metabolitos secundarios de la planta que pasan a formar parte de su composición química final, algunas de las moléculas que se han reportado son saponinas, alcaloides, flavonoides, vincristinas y vinblastinas. Siendo además de mayor importancia los tipos de carbohidratos presentes en el aguamiel, según estudios la fructosa es el carbohidrato de mayor concentración, éste carbohidrato a diferencia de la glucosa no estimula la producción digestiva de la insulina por lo que es más recomendable para personas con padecimientos cuya característica es la hiperglucemia (Matarese, 2004).

El proceso de extracción del aguamiel se detalla a continuación con la figura 2.

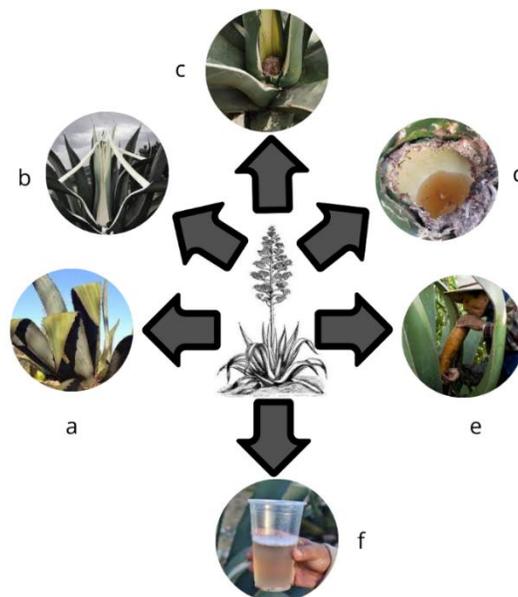


Fig. 2. Proceso de extracción de aguamiel. a) Comienza con un proceso de maduración del maguey (planta) en un periodo de 18 a 20 años hasta la aparición de los órganos reproductivos, b) procede un capado tradicional, c) posteriormente un raspado que promoverá la aparición del exudado, d) se promueve un raspado diario que incrementa la producción del aguamiel, e) el aguamiel acumulado se extrae mediante técnicas artesanales, f) finalmente se dispone en recipientes idóneos.

1. Composición Química:

Azúcares: El aguamiel de maguey es notablemente rico en azúcares, principalmente fructosa y glucosa. La concentración de azúcares puede variar según factores como la edad de la planta, el clima y las condiciones de extracción. La fructosa es el azúcar predominante, lo que le confiere un sabor dulce y suave.

Minerales: El aguamiel también contiene una variedad de minerales esenciales, incluyendo calcio, hierro, magnesio y potasio. Estos minerales son importantes para la salud humana y contribuyen al perfil nutricional del aguamiel.

Aminoácidos: Aunque en menor cantidad que los azúcares y minerales, el aguamiel también contiene una serie de aminoácidos, los bloques de construcción de las proteínas. Estos compuestos contribuyen a su valor nutricional.

Ácidos Orgánicos: El aguamiel puede contener varios ácidos orgánicos, como el ácido málico y el ácido cítrico, que le dan un sabor ligeramente ácido y refrescante. (Silos-Espino, G., González-Cortés, N., *et al.*, 2007).

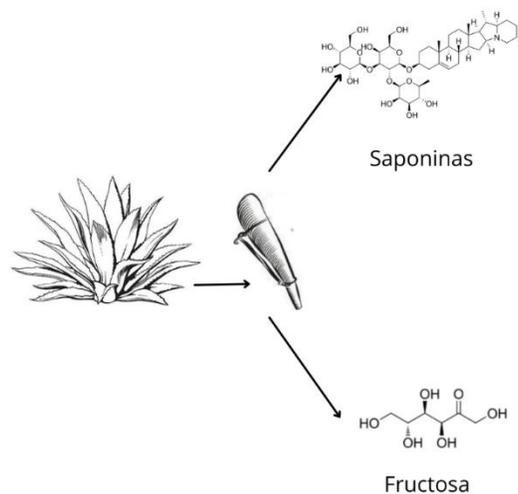


Fig. 3. Algunas moléculas bioactivas presentes en el aguamiel de maguey.

2. Propiedades Físicas:

Color: El color del aguamiel de maguey varía desde un tono claro y amarillo hasta un ámbar más oscuro, dependiendo de la concentración de azúcares y el tiempo de extracción. A menudo, tiene un tono dorado característico.

Viscosidad: El aguamiel tiene una viscosidad moderada, lo que facilita su flujo y manejo.

Densidad: La densidad del aguamiel puede variar ligeramente, pero tiende a ser más densa que el agua debido a su contenido de azúcares y minerales.

pH: El aguamiel generalmente tiene un pH ligeramente ácido, alrededor de 4-5, debido a la presencia de ácidos orgánicos. (Huezcas-Garrido, 2022).

3. Propiedades Funcionales:

Capacidad de Fermentación: El aguamiel es altamente fermentable debido a su contenido de azúcares. Esto lo convierte en una materia prima importante para la producción de bebidas alcohólicas como el pulque.

Poder Edulcorante: Gracias a su alto contenido de fructosa, el aguamiel tiene un poder edulcorante considerable, lo que lo hace una alternativa natural al azúcar en la industria de alimentos y bebidas.

Potencial Nutricional: El aguamiel es una fuente de energía y minerales, lo que lo convierte en un producto nutricionalmente valioso. Puede contribuir al aporte calórico y al equilibrio de minerales en la dieta. (Huezcas-Garrido, 2022).

En resumen, el aguamiel de maguey *Agave salmiana* es un líquido natural con una composición química y propiedades físicas únicas. Su riqueza en azúcares, minerales y otros componentes lo convierte en un recurso valioso tanto para la industria alimentaria como para la nutrición humana. Además, su versatilidad en la producción de una variedad de productos, desde bebidas alcohólicas tradicionales hasta edulcorantes naturales, lo hace un componente esencial de la gastronomía y la cultura mexicana. Como medio para enriquecer las propiedades físicas y químicas en este apartado descritas se dispone a continuación de la Tabla 1. Ilustrando a modo de resumen las investigaciones cuantitativas en torno al aguamiel.

Tabla 1. Parámetros fisicoquímicos del aguamiel (Michel-Cuello, 2008)

Variedades de maguey			
	Manzo	Cenizo	Amarillo
Densidad (g/L)	1.29	1.26	1.23
pH	6.3	6.4	6.0
Índice de refracción	1.35	1.35	1.35
Sólidos solubles (°Brix)	11.44	11.01	12.67
Acidez (%)	1.65	1.41	1.47
Humedad (%)	87.0	87.90	86.0
Proteínas (g/L)	3.41	3.11	2.49
Cenizas (g)	0.53	0.41	0.48
Azúcares reductores (g/L)	1.63	1.97	1.06
Glucosa (mg/L)	2.31	2.31	2.50
Fructosa (mg/L)	4.70	4.92	4.50

Tabla 2. Composición Química y Bromatológica del Aguamiel de Maguey *Agave salmiana* y técnicas de análisis químico.

Componente	Contenido Aproximado (% en peso)	Técnica de Análisis
Azúcares Totales	15-25%	Cromatografía de Carbohidratos
Fructosa	10-15%	Cromatografía de Carbohidratos
Glucosa	5-10%	Cromatografía de Carbohidratos
Minerales	0.5-2%	Espectroscopía de Absorción Atómica
Calcio	0.1-0.3%	Espectroscopía de Absorción Atómica
Hierro	0.05-0.2%	Espectroscopía de Absorción Atómica
Magnesio	0.05-0.2%	Espectroscopía de Absorción Atómica
Potasio	0.2-0.5%	Espectroscopía de Absorción Atómica
Aminoácidos Totales	0.1-0.3%	Cromatografía de Aminoácidos
Ácido Málico	0.1-0.3%	Cromatografía de Ácidos Orgánicos
Ácido Cítrico	0.05-0.2%	Cromatografía de Ácidos Orgánicos
Otros Ácidos Orgánicos	Variables	Cromatografía de Ácidos Orgánicos

2.3. Características nutricionales de aguamiel *Agave Salmiana*

Respecto a las características nutricionales del aguamiel, se han llevado a cabo numerables investigaciones, no se trata de un terreno no explorado, más si se trata de un producto con muchos sesgos respecto a la visión que lo integra, ejemplo de ello es que únicamente se toman en cuenta sus características para la configuración de la bebida conocida como pulque,

ignorando el potencial que en su contenido se tiene para poder exponerlo como un producto con mucha más versatilidad, cierto es entonces, que las investigaciones se han centrado en solo un parte del producto, no obstante existen algunas investigaciones que si nos dejan saber cuáles son las características que le brindan potencian nutricional y a continuación se presentan:

Fuente de Energía: Debido a su alto contenido de azúcares, el aguamiel es una fuente concentrada de energía. Consumido en moderación, puede proporcionar una rápida y duradera fuente de energía, lo que lo convierte en un recurso valioso para las personas activas.

Minerales Esenciales: El aguamiel es una fuente significativa de minerales esenciales, incluyendo calcio, hierro, magnesio y potasio. Estos minerales desempeñan roles importantes en la salud ósea, la función muscular, la prevención de la anemia y la regulación de la presión arterial.

Bajo Índice Glucémico: A pesar de su contenido de azúcares, el aguamiel tiene un índice glucémico relativamente bajo. Esto significa que su consumo puede ayudar a mantener niveles de azúcar en sangre más estables en comparación con otros edulcorantes, como el azúcar refinado.

Sabor Natural y Versatilidad: El aguamiel ofrece un sabor dulce y suave que lo hace atractivo como edulcorante natural en diversas aplicaciones culinarias y de bebidas. Puede utilizarse en reemplazo del azúcar en una variedad de recetas.

Posible Beneficio Antioxidante: Algunos estudios sugieren que el aguamiel puede contener compuestos antioxidantes, como los polifenoles, que podrían tener efectos positivos para la salud, como la protección contra el estrés oxidativo. (Diana, C. R., Humberto, H. S., & Jorge, Y. F. 2015)

Es importante destacar que, si bien el aguamiel de maguey *Agave salmiana* tiene un potencial nutricional significativo, su consumo debe ser moderado debido a su alto contenido de azúcares. Para aprovechar sus beneficios nutricionales sin excesos, se recomienda su incorporación en una dieta equilibrada y consciente de las necesidades calóricas y nutricionales individuales. Además, su versatilidad en la cocina y la industria de alimentos lo convierte en un recurso valioso para la elaboración de productos nutritivos y sabrosos.

2.4. Productos derivados de aguamiel de *Agave Salmiana*

El aguamiel de maguey *Agave salmiana* es un recurso valioso con una larga historia de uso en la cultura mexicana. A partir de este líquido dulce y nutritivo, se producen una variedad de productos que abarcan desde alimentos hasta bebidas alcohólicas, todos con características únicas y sabores tradicionales. (Narváez Suarez, *et al.*, 2016) (Huezcas-Garrido, 2022).

1. Pulque:

El pulque es una de las bebidas más icónicas elaboradas a partir del aguamiel. Para su producción, el aguamiel se somete a un proceso de fermentación natural gracias a las levaduras presentes en el ambiente. El resultado es una bebida alcohólica de baja graduación (aproximadamente 4-7% de alcohol) con un sabor ligeramente ácido y efervescente. El pulque ha sido consumido en México durante siglos y tiene un significado cultural profundo.

2. *Miel de Agave:*

La miel de agave se obtiene al calentar y reducir el aguamiel, concentrando sus azúcares naturales. Este producto tiene un sabor dulce y un perfil de azúcar dominado por fructosa, lo que lo convierte en un edulcorante natural. Se utiliza en la cocina mexicana y en la elaboración de postres, así como en la producción de bebidas como el té de agave.

3. *Tequila y Mezcal:*

Aunque el tequila y el mezcal se producen principalmente a partir de otras especies de agave, como el Agave tequilana (tequila) o el Agave espadín (mezcal), algunas variedades de Agave salmiana también se utilizan en la producción de estas bebidas alcohólicas destiladas. El aguamiel proporciona los azúcares necesarios para la fermentación y posterior destilación.

4. *Jarabe de Agave:*

El jarabe de agave es un edulcorante natural ampliamente utilizado como alternativa al azúcar refinado. Se produce al procesar el aguamiel de manera similar a la miel de agave, pero con menos concentración de azúcares. Tiene un sabor suave y se utiliza en bebidas, productos horneados y aderezos para dar un toque de dulzura.

5. *Helado de Agave:*

Este producto combina el sabor único del aguamiel con la textura suave y cremosa del helado. Es una opción deliciosa y refrescante que destaca por su dulzura natural y su perfil de sabor distintivo.

6. *Confitería Tradicional:*

En la confitería tradicional mexicana, el aguamiel se utiliza en la elaboración de dulces y caramelos. Estos productos a menudo incorporan el sabor y la textura del aguamiel para crear golosinas únicas y deliciosas.

7. *Bebidas no Alcohólicas:*

Además del pulque, el aguamiel se usa para preparar bebidas no alcohólicas refrescantes, como el "agua de miel", que es una bebida dulce y natural que se consume en muchas regiones de México.



Fig. 4. Productos derivados del aguamiel de maguey.

3. Generalidades de los edulcorantes

Los edulcorantes, también conocidos como sustitutos del azúcar o endulzantes, desempeñan un papel crucial en la industria alimentaria y en la dieta moderna. Estos compuestos son utilizados para proporcionar sabor dulce a los alimentos y bebidas sin agregar las calorías asociadas con el azúcar convencional. Además, son una opción esencial para las personas que buscan reducir su ingesta de azúcar por razones de salud, como la diabetes o la obesidad. En esta sección, exploramos las generalidades de los edulcorantes, su clasificación y sus implicaciones para la salud, con un enfoque particular en los edulcorantes naturales en México. (García-Almeida, 2013)

3.1. Tipos y clasificación de los edulcorantes

Clasificar los edulcorantes en función de su aporte calórico es una manera efectiva de categorizar estos compuestos en dos grandes grupos: edulcorantes calóricos y edulcorantes no calóricos (García-Almeida, 2013) (Murray R et al., 2010)

Edulcorantes Calóricos:

Estos edulcorantes aportan calorías a la dieta y se metabolizan para proporcionar energía al organismo. Son una fuente de carbohidratos y se utilizan para endulzar alimentos y bebidas, pero con el aporte calórico que debe tenerse en cuenta al calcular el valor nutricional de un producto.

- **Azúcar (Sacarosa):** La sacarosa, conocida como azúcar de mesa, es uno de los edulcorantes calóricos más ampliamente utilizados. Se compone de glucosa y fructosa y aporta aproximadamente 4 calorías por gramo.
- **Jarabe de Maíz Alto en Fructosa (JMAF):** Este edulcorante se deriva del almidón de maíz y es una mezcla de glucosa y fructosa en diversas proporciones. Tiene un contenido calórico similar al azúcar.

Edulcorantes No Calóricos:

Estos edulcorantes no aportan calorías significativas al organismo debido a que se utilizan en cantidades muy pequeñas y se eliminan del cuerpo sin ser metabolizados. Son una opción popular para personas que buscan reducir su ingesta calórica y controlar los niveles de azúcar en sangre sin agregar calorías adicionales.

Edulcorantes Intensos Artificiales:

Estos edulcorantes son compuestos químicos que proporcionan un sabor dulce muy superior al azúcar, lo que permite su uso en pequeñas cantidades. Ejemplos incluyen:

- Aspartamo: Aproximadamente 200 veces más dulce que el azúcar.
- Sacarina: Alrededor de 300 a 400 veces más dulce que el azúcar.
- Sucralosa: Aproximadamente 600 veces más dulce que el azúcar.
- Acesulfamo-K: Alrededor de 200 veces más dulce que el azúcar.
- Neotame: Un edulcorante intensamente dulce.

Edulcorantes Naturales No Calóricos:

Estos edulcorantes se obtienen de fuentes naturales y son significativamente más dulces que el azúcar, por lo que se usan en pequeñas cantidades sin agregar calorías significativas. Ejemplos incluyen:

- Estevia: Derivada de la planta de stevia, es hasta 200 veces más dulce que el azúcar.
- Monk Fruit (Luo Han Guo): Proveniente de un fruto, es de 100 a 250 veces más dulce que el azúcar.

Esta clasificación de edulcorantes en función de su aporte calórico permite a los consumidores y a la industria alimentaria tomar decisiones informadas en cuanto al uso de estos compuestos en productos y dietas.

3.2. Implicaciones en la salud de los edulcorantes

La seguridad y las implicaciones para la salud de los edulcorantes son temas de estudio y debate constantes en la comunidad científica. Los edulcorantes no calóricos, en general, son considerados seguros para la mayoría de las personas cuando se consumen dentro de los límites de ingesta diaria admisible (IDA) establecidos por las agencias reguladoras. Sin embargo, algunas personas pueden experimentar reacciones adversas a ciertos edulcorantes, lo que destaca la importancia de la individualización en el consumo de estos productos.

En contraste, los calóricos, como la sacarosa y la fructosa, están asociados con problemas de salud cuando se consumen en exceso. El alto consumo de azúcar ha sido vinculado a la obesidad, la diabetes tipo 2 y otros problemas metabólicos. Por lo tanto, su ingesta debe ser controlada y limitada. (Campos-Mendiola, 2002). Finalmente, respecto a la clasificación se ofrece la Tabla 3 con un resumen de la clasificación de los edulcorantes.

3.3. Edulcorantes naturales en México

México es conocido por su rica tradición en el uso de edulcorantes naturales, particularmente derivados de plantas como el maguey *Agave salmiana*. El aguamiel, extraído de esta planta, es

un ejemplo de un edulcorante natural ampliamente utilizado en la región. El aguamiel es una fuente de azúcares naturales, minerales y otros compuestos beneficiosos para la salud. Su versatilidad en la cocina mexicana y su valor nutricional lo convierten en un recurso valioso en la industria alimentaria y para quienes buscan alternativas naturales al azúcar. (Hernández-Ramos et al., 2020)

Tabla 3. Clasificación de los edulcorantes y ejemplos.

Tipo de Edulcorante		Ejemplos
Edulcorantes Calóricos		Azúcar (Sacarosa)
		Jarabe de Maíz Alto en Fructosa (HFCS)
Edulcorantes Calóricos	No	Edulcorantes Intensos Artificiales:
		- Aspartame
		- Sacarina
		- Sucralosa
		- Acesulfame-K
		- Neotame
		Edulcorantes Naturales No Calóricos:
		- Estevia
- Monk Fruit (Luo Han Guo)		

4. Tecnologías de deshidratación en jarabes y/o néctares

La deshidratación es un proceso crucial en la industria alimentaria para la producción de jarabes, néctares y otros productos líquidos concentrados, como la miel de maguey. En este apartado, se abordan las tecnologías de deshidratación más comunes utilizadas en la producción de miel de maguey a partir del aguamiel de maguey Agave salmiana. Analizaremos los procedimientos, las ventajas y desventajas de la evaporación convencional, la destilación por rota-evaporación, la liofilización y el secado por aspersion en el contexto del procesamiento del aguamiel. (Pérez, A. G, 2015)

4.1. Evaporación convencional

La evaporación convencional es un proceso ampliamente utilizado para deshidratar líquidos, incluido el aguamiel. En este método, el aguamiel se calienta y se somete a un proceso de evaporación en el que se elimina el agua. La ventaja principal de este enfoque es su simplicidad y bajo costo de operación. Sin embargo, puede requerir altas temperaturas y tiempos

prolongados, lo que puede afectar la calidad del producto final debido a la degradación de compuestos sensibles al calor. (Pérez, A. G, 2015)

Ventajas:

- Económico y ampliamente disponible.
- Adecuado para grandes volúmenes de líquido.
- Mínimo requerimiento de equipo especializado.

Desventajas:

- Altas temperaturas pueden afectar la calidad del producto.
- Mayor consumo de energía en comparación con otros métodos.

4.2. Destilación por rota - evaporación

La destilación por rota- evaporación es una técnica que combina la destilación al vacío con la evaporación. Es particularmente útil para deshidratar líquidos sensibles al calor, como el aguamiel. En este proceso, el líquido se calienta a temperaturas más bajas debido a la presión reducida. La ventaja principal es la capacidad de mantener compuestos sensibles al calor y sabores, preservando la calidad del producto final.

Ventajas:

- Conserva la calidad de los compuestos sensibles al calor.
- Adecuado para líquidos de alta viscosidad.

Mayor eficiencia energética que la evaporación convencional.

Desventajas:

- Requiere equipo especializado y costoso.
- Proceso más lento que la evaporación convencional.
-

4.3. Liofilización

La liofilización, es un método de deshidratación que implica congelar el aguamiel y luego sublimar el agua. Este proceso es efectivo para preservar la calidad de los productos, ya que impide la degradación térmica y mantiene los sabores y nutrientes. Sin embargo, la liofilización es un proceso lento y costoso.

Ventajas:

- Conserva la calidad y los nutrientes del aguamiel.
- Adecuado para productos sensibles al calor.
- Larga vida útil del producto final.

Desventajas:

- Proceso lento y costoso.
- Requiere equipo especializado y alta inversión inicial.

4.4. Secado por aspersión

El secado por aspersión es un proceso que implica pulverizar el aguamiel en una cámara caliente, lo que provoca la evaporación del agua. Este método es rápido y eficiente, lo que lo hace ideal para la producción a gran escala. Sin embargo, puede haber una ligera pérdida de calidad en comparación con otros métodos de deshidratación.

Ventajas:

- Proceso rápido y eficiente.
- Adecuado para la producción a gran escala.
- Menos costoso que la liofilización.

Desventajas:

- Posible pérdida de calidad en comparación con otros métodos.
- Requiere equipo especializado y un alto flujo de aire.

Tabla 4. Técnicas de Deshidratación para la Producción de Miel de Maguey

Técnica de Deshidratación	Ventajas Sobresalientes	Desventajas Sobresalientes
Evaporación Convencional	Costo relativamente bajo.	Posible degradación de compuestos sensibles al calor.
	Adecuado para grandes volúmenes de líquido.	Mayor consumo de energía en comparación con otros métodos.
Destilación por Rota-Evaporación	Conserva compuestos sensibles al calor.	Requiere equipo especializado y costoso.
	Adecuado para líquidos de alta viscosidad.	Proceso más lento en comparación con la evaporación convencional.
Liofilización	Conserva la calidad y los nutrientes del aguamiel.	Proceso lento y costoso.
	Adecuado para productos sensibles al calor.	Requiere equipo especializado y una alta inversión inicial.
Secado por Aspersión	Proceso rápido y eficiente.	Posible pérdida de calidad en comparación con otros métodos.
	Adecuado para producción a gran escala.	Requiere equipo especializado y un alto flujo de aire.

5. Conclusión

En este artículo, hemos explorado en profundidad el fascinante mundo de la producción de miel de maguey a partir del aguamiel de la planta *Agave salmiana*. A lo largo del artículo, hemos abordado diversos aspectos, desde las generalidades del género *Agave* hasta la clasificación de edulcorantes y su impacto en la salud, centrándonos en los edulcorantes naturales y, particularmente, en el aguamiel de maguey. Hemos analizado la composición físico-química y nutricional del aguamiel, destacando su potencial como una alternativa saludable y deliciosa al azúcar convencional.

Además, hemos explorado las tecnologías de deshidratación aplicadas en la producción de miel de maguey. Estas técnicas, como la evaporación convencional, la destilación por rota-evaporación, la liofilización y el secado por aspersión, ofrecen distintas ventajas y desventajas en términos de calidad, costo y eficiencia. La elección de la tecnología de deshidratación dependerá de diversos factores, como la escala de producción y la sensibilidad al calor de los compuestos en el aguamiel.

La producción de miel de maguey es un proceso apasionante que combina tradición y tecnología, y ofrece productos naturales y saludables que son apreciados tanto a nivel local como internacional. Este artículo ha proporcionado una visión integral de los aspectos botánicos, químicos, nutricionales y de procesamiento relacionados con la miel de maguey, destacando su importancia en la industria alimentaria y su papel en la promoción de opciones más saludables para los consumidores.

La miel de maguey no solo representa una deliciosa alternativa al azúcar, sino que también es un testimonio de la riqueza cultural y botánica de las regiones donde se cultiva. Su versatilidad en la cocina y su perfil nutricional la convierten en un recurso valioso. En un mundo en constante evolución, donde la búsqueda de opciones más saludables es una prioridad, la miel de maguey emerge como un ejemplo destacado de cómo la tradición y la innovación pueden unirse para crear productos que no solo satisfacen los paladares, sino que también promueven un estilo de vida más saludable y sostenible.

Referencias

Aldrete-Velasco, J., López-García, R., Zúñiga-Guajardo, S., Riobó-Serván, P., Serra-Majem, L., Suverza-Fernández, A., ... & Laviada-Molina, H. (2017). Análisis de la evidencia disponible para el consumo de edulcorantes no calóricos. Documento de expertos. *Medicina Interna de México*, 33(1), 61-83.

Alonso, J. R. (2010). Edulcorantes naturales. *La Granja*, 12(2), 3-12.

Bautista, N. y Arias, G. C. (2008). Estudio químico bromatológico de aguamiel de *Agave americana* L. (Maguey). *Ciencia e Investigación*, 11(2), 46-51.

Campos Mendiola, R. (2002). Obtención de una bebida funcional de bifidobacterias utilizando aguamiel como base [Tesis de Maestría]. ENCB, IPN.

Castro Díaz, A. S. (2014). Tratamiento del aguamiel mediante ultrafiltración y luz ultravioleta para aumentar su vida de anaquel.

Corona Pérez, A. C. (2021). Ozonización para la estabilidad microbiológica, calidad fisicoquímica y nutracéutica de aguamiel de *Agave salmiana* [Tesis Doctoral]. Universidad Autónoma Chapingo.

Cruz Vasconcelos, S. T. (2019). Crecimiento y fisiología de maguey pulquero (*Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck) obtenido por semilla [Tesis de Maestría].

Diana, C. R., Humberto, H. S., & Jorge, Y. F. (2015). Probiotic properties of *Leuconostoc mesenteroides* isolated from aguamiel of *Agave salmiana*. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 7, 107-117.

Durán, S., Cordon, K., & Rodríguez, M. D. P. (2013). Edulcorantes no nutritivos, riesgos, apetito y ganancia de peso. *Revista Chilena de Nutrición*, 40(3), 309-314.

Franco Arteaga, B. P. (2012). Método de extracción de fructanos de maguey (*Agave salmiana* Otto ex Salm-Dick). Repositorio Nacional CONACYT.

García Martínez, E. M., & Fernández Segovia, I. (2012). Determinación de la humedad de un alimento por un método gravimétrico indirecto por desecación.

García-Almeida, J. M., Casado Fdez, G. M., & García Alemán, J. (2013). Una visión global y actual de los edulcorantes: aspectos de regulación. *Nutrición Hospitalaria*, 28, 17-31.

Gramajo, M. G. P. (2019). Aplicación de los métodos de conservación de alimentos. *Revista Ingeniería y Ciencia*, 1(15).

Granados-Conde, C., Torrenegra-Alarcon, M., Leon-Mendez, G., Pineda, Y. A., Jimenez-Nieto, J., & Carriazo-Marmolejo, L. (2019). Deshidratación osmótica método alternativo de conservación de alimentos. *@limentech, Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 17(2), 101-114.

Hernandez-Ramos, L., Garcia-Mateos, R., Ybarra-Moncada, M. C., & Colinas-Leon, M. T. (2020). Nutritional value and antioxidant activity of the maguey syrup (*Agave salmiana* and *A. mapisaga*) obtained through three treatments. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 48(3), 1306-1316.

Huezcas-Garrido, L., Alanís-García, E., Ariza-Ortega, J. A., & Zafra-Rojas, Q. Y. (2022). Subproductos de interés nutricional y funcional de *Agave salmiana*. *Revista Chilena de Nutrición*, 49(2), 250-262.

Leal-Díaz, A. M., Santos-Zea, L., Martínez-Escobedo, H. C., Guajardo-Flores, D., Gutiérrez-Urbe, J. A., & Serna-Saldivar, S. O. (2015). Effect of *Agave americana* and *Agave salmiana* ripeness on saponin content from aguamiel (agave sap). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(15), 3924-3930.

Martínez, J. A. C., & García, A. F. (2016). Los edulcorantes y su papel sobre el metabolismo humano. *RqR Enfermería Comunitaria*, 4(2), 13-22.

- Michel-Cuello, C., Juárez-Flores, B. I., Aguirre-Rivera, J. R., & Pinos-Rodríguez, J. M. (2008). Quantitative characterization of nonstructural carbohydrates of mezcals Agave (*Agave salmiana* Otto ex Salm-Dick). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(14), 5753-5757.
- Narváez-Suárez, A. U. (2016). Maguey pulquero (*Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck): opción para desarrollo rural. *Agro Productividad*, 9(10).
- Pérez, A. G. (2015). Elaboración de pulpas, zumos, néctares, deshidratados, osmodeshidratados y fruta confitada.
- Silos-Espino, G., González-Cortés, N., Carrillo-López, A., Guevaralara, F., Valverde-González, M. E., & Paredes-López, O. (2007). Chemical composition and in vitro propagation of *Agave salmiana* 'Gentry'. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 82(3), 355-359.
- Valle, G. A. C. (2021). Maguey (*Agave salmiana*) y nopal (*Opuntia robusta*) en el Parque Ecológico Cubitos [Tesis Doctoral]. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Vargas Vázquez, C. G. (2009). Obtención de insumos de interés industrial a partir de las fructanas del agave mezcalero potosino (*Agave salmiana*).