



VOL: AÑO 6, NUMERO 16

FECHA: MAYO-AGOSTO 1991

TEMA: BIOTECNOLOGÍA: Transformación productiva y repercusiones sociales

TÍTULO: **Biotecnología intermedia, alternativa para la explotación de recursos naturales**

AUTOR: C. Casas-Campillo [*]

SECCION: Notas y traducciones

RESUMEN:

La Biotecnología definida como "un campo del conocimiento dirigido hacia la producción de bienes y servicios mediante la utilización de sistemas biológicos o sus productos" ofrece diversas posibilidades en la explotación de recursos relevantes para el desarrollo regional. Característica esencial de la Biotecnología es que puede implementarse a diversos niveles científicos y tecnológicos. Los desarrollos biotecnológicos que se encuentran operando en el país, derivan de tecnologías tradicionales o bien de tecnologías exógenas más elaboradas transferidas por empresas internacionales. En las actividades de investigación se reconocen tres tendencias: a) fundamentadas en la modificación genética de sistemas biológicos (ingeniería genética), b) el desarrollo y adaptación de tecnologías tradicionales con mayor o menor grado de innovación y c) implementación de biotecnologías de mayor simplicidad técnica útiles en la solución de problemas específicos regionales. Este último enfoque correspondería a las tecnologías catalogadas como intermedias, cuyas características pueden ajustarse a condiciones sociales, económicas, ecológicas y políticas prevalecientes en regiones específicas. Aun cuando se prevé un avance notable mediante el desarrollo de biotecnologías basadas en contribuciones científicas de frontera, las realizaciones en el país serán a largo plazo. Como alternativa más inmediata existe el interés en desarrollar biotecnologías intermedias, particularmente en los sectores relacionados con la actividad agrícola, agroindustrial, y para el tratamiento de problemas ambientales. Las sociedades modernas confrontan serios problemas relacionados con la producción de alimentos y forrajes y con relación a la contaminación de ambientes originada por la acumulación de desechos agropecuarios. En este trabajo se presentan algunos casos específicos de biotecnologías intermedias que están teniendo éxito en regiones específicas del país.

ABSTRACT:

Intermediate Biotechnology, an Alternative for the Natural Resources Exploitation.

Biotechnology, defined as "a field of knowledge directed to the production of goods and services by the use of biological systems or their products", offers diverse possibilities in the exploitation of resources relevant to the regional development. An essential characteristic of technology is that it can be implemented in different scientific and technological levels. The Biotechnological developments that are working in this country come from traditional technologies or from more elaborated exogenous ones that are transferred by international enterprises. In the research activities, three tendencies are recognized: a) those founded on the genetic modification of biological systems (genetic engineering), b) the development and adaptation of traditional technologies with a higher

or lower degree of innovation and c) implementation of technical higher simplicity biotechnologies that are useful to the solution of regional specific problems. The latter approach would correspond to the so-called intermediate technologies whose characteristics may suit social, economic, ecologic and political conditions that prevail in specific regions. Eventhough one may foresee a notorious advance by means of the development of Biotechnologies based on scientific frontier contributions, the advances in this country will be on the long term. As an immediate alternative, we are interested in developing intermediate Biotechnologies, particularly in those sectors related to the agricultural, agroindustrial activities, and to the environmental problems. The modern societies face serious problems of food production and forage, and of environmental pollution due to agroindustrial wastes. This paper presents some specific cases of intermediate biotechnologies that are being successful in some regions of the country.

TEXTO

En una publicación anterior se hizo referencia a algunos aspectos del desarrollo de la Biotecnología en el país, poniendo énfasis en las características generales de este campo del conocimiento (Casas-Campillo, 1988). Peculiaridad importante es que los procesos biotecnológicos pueden implementarse a distintos grados de complejidad científica y técnica. A este respecto se consideran diversos niveles de Biotecnología que se enmarcan en apartados o designaciones que les confieren características distintivas: biotecnología de bajo costo, biotecnología intermedia, biotecnología apropiada, biotecnología de equilibrio, etc. (Jequier, 1976; Hedén, 1977). Se ha hecho común el empleo de la designación de biotecnología apropiada para expresar una clase de tecnología que se ajusta a la utilización de recursos naturales, que emplea técnicas y personal locales, bajo un entorno socio-económico y ambiental determinado (Schumacher, 1974). Existe la tendencia a referirse a biotecnología intermedia cuyas características de complejidad técnica y versatilidad se ajustan a variados niveles económicos. En la práctica ambas designaciones tienden a confundirse ya que sus fronteras son susceptibles de cambio.

Tabla 1 Implementación de algunos procesos mediante biotecnologías intermedias

PRODUCCION DE ALIMENTOS PARA ANIMALES A PARTIR DE RESIDUOS

Fermentación (ensilado) de esquilmos agrícolas.

Fermentación de estiércol + melazas + urea (Biofermel).

Utilización integral del estiércol porcino (Ecefer).

Fermentación de estiércol + Almidón (DESA).

Enriquecimiento protéico de materiales amiláceos (fermentación en sustrato solido).

PRODUCCION DE ALIMENTOS PARA HUMANOS

Queso, Pozol, Yogur, pan, etc.

PROCESOS PARA USO AGRICOLA

Producción de inoculantes para leguminosas (Rh leguminosarum).

Producción de hongos para endomicorrizas (plantas de cultivo, forestales, etc.).

Micropropagación (ornamentales).

Producción de bioinsecticidas (*B. thuringiensis*, *Hirsutella thompsonii*, etc.).

Producción de fertilizantes orgánicos ("compost").

PROCESOS INTEGRADOS PARA USO AGROINDUSTRIAL

Producción de biogas + fertilizantes + acuicultura. Utilización integral de plantas tropicales o de zonas áridas.

Procesos de purificación de aguas residuales o aguas negras utilizando cianobacterias (*Spirulina*) + Acuicultura. Propagación de hongos comestibles + producción de forrajes. Utilización integral de: Yuca (*Manihot esculenta*, henequén (*Agave*), palma china (*Yuca filifera*), barbasco (*Dioscorea sp.*).

PRODUCCION DE LIQUIDOS FERMENTADOS REGIONALES

Pulque, Tequila, Mezcal, etc.

PROCESOS DE PURIFICACION DE AGUAS RESIDUALES

Lagunas de estabilización, lagunas de aireación.

PROCESOS PARA USO INDUSTRIAL

Alcohol, vinagre, biometalurgia y levadura alimenticia.

A través del tiempo, los campos de acción de la Biotecnología se han diversificado en tal forma que en el presente cubre todos los aspectos relacionados con la utilización de sistemas biológicos vivos o productos derivados de ellos en la producción de bienes o servicios. Sobresalen aquellos renglones relacionados con el desarrollo industrial, el progreso de la agricultura y el mejoramiento de la salud y del medio ambiente. Es evidente que en algunos de estos campos se han logrado avances definidos a través de la creación de instituciones comprometidas con la enseñanza y la investigación científica y tecnológica. Es relevante la contribución de las universidades y centros tecnológicos en la formación de especialistas e investigadores de alto nivel que están dando origen a nuevos grupos de investigación. Las líneas de investigación biotecnológica que se han establecido en el país en general siguen las tendencias predominantes a nivel mundial. Se advierten tres orientaciones (a) investigación fundamentada en la modificación genética de sistemas biológicos (ingeniería genética), (b) desarrollo y adaptación de biotecnologías tradicionales, con mayor o menor grado de innovación, (c) desarrollo de biotecnologías de mayor simplicidad técnica en regiones específicas del país. Las actividades desarrolladas dentro del primero de estos apartados han permitido la organización y desarrollo de grupos especializados y aún centros que llevan a efecto investigaciones fundamentales basadas en la manipulación genética de sistemas biológicos de producción, particularmente con propósitos industriales, la producción de vacunas y el mejoramiento de plantas de cultivo específicas. El interés que existe en este tipo de desarrollos en el país se deriva del éxito logrado en el extranjero para obtener productos con actividad biológica mediante transferencia de material genético a microorganismos; pero todavía carecemos de un análisis crítico de la aplicación de esas técnicas dentro de las condiciones socio económicas y aún políticas que imperan en el país. La opinión generalizada es que los avances que se logren en este enfoque podrán

cristalizar en procesos de producción dentro de un largo plazo, si las condiciones del desarrollo industrial nacional son las adecuadas. Dentro del segundo apartado se encuentran las industrias derivadas de prácticas tradicionales, en las cuales los sistemas biológicos no han sido manipulados genéticamente. Las tecnologías fueron transferidas del extranjero y en algunos casos modificadas en mayor o menor grado. La mayor parte de la industria biológica en México corresponde a esta clase de tecnologías. En el tercer apartado quedan incluidas las biotecnologías de mayor simplicidad técnica, bajo costo y corresponderían a los rubros de biotecnología intermedia o biotecnología apropiada.

Uno de los problemas que han confrontado las sociedades modernas industrializadas o en vías de desarrollo es la producción y acumulación de materias orgánicas sólidas de desperdicio, derivadas de la actividad agropecuaria y agroindustrial, que conduce a severa contaminación del medio ambiente, situación particularmente notable en áreas geográficas de intensa actividad agrícola y de producción animal. El procedimiento tradicional de incorporar los residuos orgánicos a los suelos de cultivo con fines de fertilización conduce al desperdicio de una fuente rica en nutrimentos; la estabilización de estos materiales orgánicos mediante un proceso de humificación ha proporcionado fertilizantes de indiscutible valor. A través del tiempo se han generado otras alternativas biotecnológicas que han permitido el desarrollo de procesos de producción de alimentos para animales fundamentados en la bioconversión microbiana. En México se ha dado especial atención en los últimos años al desarrollo de tecnologías para la utilización de algunos materiales lignocelulósicos, como las pajas y el bagazo de la caña de azúcar para la producción de forrajes enriquecidos de proteínas microbianas. En regiones seleccionadas de producción pecuaria se han establecido procesos para la utilización de estiércol bovino y porcino, con la finalidad de obtener alimentos para animales en un proceso de recirculación de nutrientes y al mismo tiempo eliminar residuos que contribuyen al deterioro del medio ambiente. En algunas regiones del país la producción animal genera cantidades exageradas de estiércol que en vista de su composición química representan un recurso valioso para que a través de un proceso de recirculación sean transformados en alimentos de buen valor nutritivo. De particular importancia son los estudios llevados a efecto en la región porcícola del estado de Michoacán (La Piedad) que han conducido al desarrollo de biotecnologías intermedias con doble finalidad: contribuir a la producción de alimentos para animales (bovinos y porcinos) y aminorar el grado de contaminación del ambiente. Es conveniente enfatizar que los estiércoles de animales constituyen excelente fuente de nutrimentos, particularmente nitrogenados, susceptibles de ser utilizados en nutrición animal, a través de un proceso de recirculación.

Iñiguez y colaboradores (1986,1990), desarrollaron una tecnología para el aprovechamiento integral del estiércol de cerdo en la región porcícola del municipio de la Piedad, Mich. El proceso designado ECEFER, consiste esencialmente en recolectar el estiércol porcino mediante lavado con agua y este material diluido se pasa a un separador de sólidos. Los sólidos son recolectados y el líquido efluente es bombeado a un estanque (laguna) de aereación. Los sólidos son transportados a un fermentador que es un recipiente cilíndrico, horizontal rotatorio, que tiene tres compartimentos y en el cual se lleva a cabo la fermentación del material (45%) mezclado con sorgo (55%); este proceso de fermentación natural favorece tanto las características físicas del producto como la eliminación de microorganismos de origen fecal que pudieran tener propiedades patógenas. El volumen del fermentador experimental fue de 3.41 m³ con un volumen de trabajo que admitió 246 Kg de sustrato en cada compartimento. Después de la fermentación el material contiene 12% de proteínas, 7.0 de fibra cruda y 74% de extracto libre de nitrógeno, la acidez del sustrato rápidamente decrece hasta pH 4.0 debido a la acumulación de ácido láctico. En tiempos de 25 días o mayores, la población de bacterias potencialmente patógenas desaparece rápidamente. Estudios de nutrición con cerdos en etapa de iniciación revelaron la factibilidad económica del procedimiento en base a carne

producida, utilizando una dieta a base de 45% del fermentado y 55% de sorgo. Con este régimen alimenticio y considerando 1000 cerdos, el ahorro por mes en la alimentación se calculó en \$2,626,550; esta tecnología está siendo transferida a productores de la región. Se han desarrollado otras biotecnologías utilizando estiércol de bovino. Así Pérez-Gavilán y Viniegra (1976) describieron un proceso (Biofermel) en el cual el estiércol (5%) es mezclado con melazas (60%) y urea (2.5%) y después de un período de fermentación la mezcla es empleada en la alimentación de bovinos. Otros procesos utilizan también estiércol de bovino al cual se adicionó almidón (10%) y dejó fermentar naturalmente a 35°C durante 5 días (Olguín-Palacios, 1985). Estos ejemplos señalan que existen diversas posibilidades para la utilización de estiércoles porcino, bovino, etc., en la alimentación animal pero es necesario indicar que las tecnologías deben adecuarse a las condiciones que prevalecen en regiones geográficas determinadas y siempre que el volumen de residuos animales sea significativo. Se trata de una clase de tecnología que se puede implementar a un costo moderado, que no necesariamente requiere de conocimientos científicos avanzados y que puede colaborar a la solución de problemas locales bajo las condiciones socio económicas prevalecientes.

Una alternativa para obtener alimentos de consumo humano es el cultivo de hongos superiores comestibles cuyos carpóforos contienen elevada proporción de proteínas y otros factores nutricionales, particularmente los géneros *Agaricus*, *Pleurotus*, *Lentinula*, aun cuando se ha demostrado que en forma silvestre prosperan muchas especies de potencial uso en alimentación. Los desarrollos comerciales utilizan esencialmente el champiñón (*Agaricus*) que es apreciado por sus características organolépticas (Leal, 1985). En México y toda Mesoamérica existen referencias del uso tradicional de hongos comestibles y los estudios de Guzmán, y Martínez-Carrera (1985) han demostrado que el cultivo de hongos comestibles puede establecerse en comunidades en donde existe ya la tradición de consumir hongos en la dieta diaria. Para el propósito se ha demostrado que algunos de estos hongos del género *Pleurotus* desarrolla en forma exuberante en residuos orgánicos de la actividad agrícola o industrial (pajas, bagazo, desecho de café, etc.) lo cual ha permitido desarrollar sistemas regionales de producción, que con facilidad son transferidos a productores y comunidades rurales. En el antiguo INIREB, (actualmente Instituto de Ecología en Xalapa, Ver.), se desarrolló la tecnología para la producción de carpóforos de *Pleurotus* en residuos del procesamiento del café, proceso que fue popularizado entre los beneficios comerciales. Recientemente en el Centro de Enseñanza, Investigación y Capacitación para el Desarrollo Agrícola Regional (Colegio de Postgraduados) en Puebla, se instaló un laboratorio de producción de hongos comestibles en donde se ofrece capacitación y asesoría a las comunidades rurales, en especial aquellas que trabajan como cooperativas (Martínez-Carrera y Larqué-Saavedra, 1990). La región es muy apropiada para el cultivo de hongos ya que está localizada en clima subtropical húmedo con temperatura media adecuada. Además, en la región se acumulan subproductos agrícolas o industriales que son excelentes sustratos para la propagación de los hongos. Esta tecnología se ha difundido en diversos estados de la República. Recolectados los cuerpos fructíferos de los hongos, el sustrato orgánico ya transformado por el crecimiento del hongo, puede ser empleado como fertilizante orgánico en la actividad agrícola o bien servir como forraje.

Otro caso que amerita comentarse es el que se refiere a la explotación de la cianobacteria *Spirulina* que se propaga libremente en la instalación llamada el Caracol, enorme evaporador solar construido en el remanente del Lago de Texcoco con la finalidad de industrializar las sales alcalinas por la Compañía Sosa de Texcoco. La biomasa de esta cianobacteria es fácilmente recolectada, tiene una composición química rica en proteínas, aminoácidos esenciales, pigmentos y otros compuestos con actividad biológica y (ac.-linolénico). La tecnología para recolectar, purificar, desecar, la cianobacteria está muy simplificada y la mayor parte de la producción se exporta (Clément, Durán-Chastel &

Henny, 1968). Originalmente se consideró a la biomasa de este organismo un producto proteínico para la alimentación, pero después se ha demostrado por diversos grupos internacionales (Cifferri & Tiboni, 1985; Lem, Metting & Pyne, 1986) que la cianobacteria contiene valiosos pigmentos entre ellos la ficocianina y factores de crecimiento humano. También se ha demostrado la capacidad de este organismo para desarrollarse ampliamente en líquidos residuales; las aguas negras, y los residuales porcinos son digeridos con bastante eficacia. Este comportamiento ha proporcionado una tecnología para emplear la cianobacteria en la purificación de líquidos residuales o aguas negras, cosechándose además la biomasa. En el país se han hecho estudios piloto en esta última dirección (Olguín-Palacios, 1985) y en diversas instituciones nacionales se llevan a efecto estudios fundamentales para un mayor conocimiento de otras cianobacterias y microalgas. Sobresalen las investigaciones que se llevan a efecto en la UAM-I y en el CINVESTAV-IPN, D.F.

En los últimos años se han desarrollado en el país diversas tecnologías para la utilización integral de plantas de cultivo o silvestres que prosperan en las zonas áridas o tropicales (ver Tabla 1). Un caso típico es el que se refiere a la yuca o guacamote (*Manihot esculenta*, Crantz), planta que se cultiva en zonas semi-tropicales de México y aún en tierras marginales. En otros países constituye un cultivo de indiscutible importancia como alimento energético. Aún cuando se han hecho intentos en el país para ampliar las zonas de cultivo con variedades seleccionadas, a través de un Plan Nacional, los resultados de varios años de experimentación agrícola han mostrado que el cultivo en gran escala no ofrece ventajas económicas sobre otros cultivos, particularmente el sorgo (Arroyo y col. 1988). Sin embargo, el cultivo de la yuca en pequeña escala como monocultivo o asociado con otros cultivares proporciona un alimento energético para la alimentación animal y humana en pequeñas comunidades. El tubérculo tiene un contenido muy bajo de material protéico, sin embargo mediante procesos fermentativos usando particularmente hongos Mucorales y Fungi Imperfecti es posible enriquecer de proteínas el material amiláceo de la yuca. Se ha demostrado también que el follaje de la planta contiene proteínas de buena calidad nutricional las cuales pueden ser separadas y concentradas hasta obtener un producto que contiene 50-65% de proteínas. El proceso fermentativo ha sido estudiado ampliamente por investigadores del la UAM-I y CINVESTAV-IPN. En este centro se desarrolló un proceso para la utilización integral de la yuca. Aun que las tecnologías implementadas a nivel piloto, se encuentran disponibles, no se ha logrado su aplicación en escala de producción, ya que el cultivo de la yuca no ha podido establecerse al nivel requerido. No obstante, las perspectivas para incrementar el cultivo de la yuca y el uso de los tubérculos amiláceos son prometedoras ya que es vigente el requerimiento de alimentos energéticos para uso animal en base a la insuficiente producción de cereales en el país. Algunos autores (Zulueta, 1984; Méndez, 1984) opinan que es posible reducir los costos de producción de la yuca mejorando las tecnologías agrícolas, de tal manera que el precio fuera favorable en relación a otros alimentos para animales, particularmente aves y porcinos. Como se puede inferir de la información resumida en la Tabla 1 se han desarrollado otros procesos que pueden ser catalogados dentro de las biotecnologías intermedias. Algunos no han alcanzado difusión amplia y otros se encuentran en etapa de experimentos piloto, particularmente en provincia. En estos desarrollos están desempeñado un papel muy importante las instituciones regionales como universidades estatales, tecnológicos regionales y centros de desarrollo de las comunidades. Un caso específico lo constituyen los Centros de Investigación para el Desarrollo Integral Rural (CIIDIR) dentro de las actividades del Instituto Politécnico Nacional, en sus unidades de Oaxaca, Durango y Jiquilpan. En estos centros se examinan problemas regionales en los campos de la agroindustria, salud pública, agricultura, ganadería, etc., que están aportando soluciones para el bienestar social y el mantenimiento de un ambiente sano y fomentando la capacidad de las comunidades para el proceso productivo. En el sector industrial la aportación de los institutos regionales son cada vez más significativos.

Un caso especial se encuentra en el Instituto Tecnológico de Durango, institución que a través de sus programas de especialización en el campo alimentario y de planeación industrial ha desarrollado biotecnologías intermedias que están siendo aplicadas a la implementación de pequeñas industrias de fermentación de lácteos, la producción de inoculantes para leguminosas y de bioinsecticidas para el control de plagas agrícolas y forestales de la región. Aportes similares se encuentran en otros Institutos Tecnológicos (Veracruz, Mérida, Oaxaca, etc.) en donde se llevan a efecto estudios sobre recursos naturales de la región. Es conveniente hacer notar que el sistema de Institutos Regionales (SEP) representan un enorme potencial para el desarrollo de estudios y tecnologías tendientes a la solución de problemas de la localidad. Este potencial no se aprovecha cabalmente por varias razones siendo las más importantes la falta de planeación en los trabajos de investigación científica y tecnológica y la carencia de políticas explícitas en estos campos. Esto aunado a las severas limitaciones económicas y de personal calificado.

Del análisis de los casos que se han presentado como ejemplos se puede concluir que las biotecnologías intermedias pueden desempeñar un papel importante en la utilización de recursos naturales regionales. La solución parcial o total de algunos problemas derivados de la explotación de los recursos que están disponibles en las diversas regiones del país va a depender de la selección adecuada de las biotecnologías y de su integración a las condiciones socio-económicas prevalecientes en cada región.

CITAS:

[*] Profesor del Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN.

BIBLIOGRAFIA:

Arroyo, G. (coordinador) (1988). Biotecnología: ¿una salida para la crisis agroalimentaria?. Plaza y Valdés, México.

Casas-Campillo, C. (1988). "Aspectos del desarrollo de la biotecnología en México". Memorias del Colegio Nacional, 1988:15-31.

Ciferri, O. & O. Tiboni. (1985). "The biochemistry and Industrial potencial of Spirulina". Ann. Rev. Microbiol. 39:503-526.

Clément, G., H. Durand-Chastel & V. Henny. (1988). "Une nouvelle algue alimentaire". 9-Symp. Inter. Sources Nouvelles dans l'alimentation humain. Amsterdam. pp 249:248.

Guzmán, G. & D. Martínez-Carrera. (1985). "Planta productora de hongos comestibles sobre pulpa de café". Ciencia y Desarrollo. 65:4148.

Hedén, C. G. (1977). "Enzyme engineering and the anatomy of equilibrium technology". Quart. Rev. Biophysics. 10:113-135.

Iñiguez, G., M. J. Franco, M. Peña & G. Ciurlizza (1986). "Evaluation of the protein quality of solids recovered from hog manure slurry". Agric. Wastes, 16(2):117-120.

Iñiguez, G., M. J. Franco & A. Robles (1990). "Factibilidad técnico-económica para el aprovechamiento de sólidos recuperados de estiércol de cerdo fermentado en la nutrición

de cerdos". En Mem. del Ciclo Internac. Manejo y Aprovechamiento de Estiércol de Cerdo. Guadalajara, Jal. pp. 70-83.

Jéquier, N. (1976). *Appropriate Technology*, OECD. Paris.

Leal, H. (1985). "El cultivo del champiñón y otros macromicetos comestibles". En *Perspectiva de la Biotecnología en México*. Fund. Barros Sierra y Conacyt, México.

Lem, N. W. & B. R. Glick (1985). "Biotechnological uses of Cyanobacteria". *Biotech Adv.* 3: 195-208.

Martínez Carrera, D. & A. Larqué-Saavedra. (1990). "Biotecnología en la producción de hongos comestibles". *Ciencia y Desarrollo*. 16:53-64.

Méndez, R. A. (1984). "Uso de concentrados protéicos en la engorda de cerdos con yuca". En Mem. 1er. Seminario Nac. Yuca, Vol. II. SARH, México, D.F. pp. 180-188.

Metting, B. & J. W. Pyne. (1986). "Biologically active compounds from microalgae". *Enz. Microb. Technol.* 8:386-394.

Olgúin-Palacios, E. (1985). "Producción de alimentos no convencionales para el consumo animal", en *Perspectiva de la Biotecnología en México*. Fund. Barros-Sierra y Conacyt. pp. 149-173.

Pérez-Gavilán, P. & G. Viniegra. (1976). "Potencial uso del estiércol en la alimentación de bovinos", en *Ciencia Veterinaria*

Schumacher, E. F. (1974). *Small is beautiful*. Abacus, Sphere Books Ltd., London.

Zulueta, R. J. (1984). "Uso de la yuca ensilada en la alimentación porcina". En Mem. 1er: Seminario Nac. Yuca Vol. II. SARH, México, D. F. pp. 238-248.