

# FORMULACIÓN DE SUSTRATOS A BASE DE LIRIO ACUÁTICO (EICHHORNIA CRASSIPES) PARA LA PRODUCCIÓN DE HONGOS REISHI (GANODERMA LUCIDUM) Y SHIITAKE (LENTINULA EDODES)

<sup>1</sup> M.C. Leticia Oseguera Figueroa, loseguera@itspa.edu.mx

<sup>2</sup> Dra. Miriam E. Aguirre Árias, maguirre@itspa.edu.mx

<sup>3</sup> Gastón Piedra Olvera, gaston.piedraolvera@outlook.es

<sup>4</sup> Branda García Hernández, brendagarciaher@gmail.com

## RESUMEN

El lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) es una especie introducida al lago de Pátzcuaro cuya población es excesiva provocando un fuerte impacto negativo para pobladores, fauna acuática y calidad de agua. El exceso de contaminación orgánica del lago favorece la proliferación de esta y otras plantas acuáticas. Esta biomasa puede llegar a ser un recurso económica y socialmente importante. La producción de hongos Shitake y Reishi puede desarrollarse en sustratos formulados con la incorporación de fibras de lirio. A partir de los micelios, se pueden producir hongos comestibles, medicinales e incluso hacer investigaciones para elaborar diversos micomateriales. En esta investigación se probaron diversas formulaciones de lirio con aserrín de encino, olote de maíz y salvado que son comunes en la región del lago de Pátzcuaro, haciendo precompostaje y con diversos tamaños de fragmento de las fibras vegetales. El hongo Reishi tuvo mejor desarrollo en sustrato precompostado en tanto que el Shiitake se desarrolló bien en el sustrato con la fibra fresca sin precompostar. Se probó el uso de diferentes contenedores, los que proporcionan una iluminación uniforme dan mejores resultados. Se reconoce que la contaminación por *Trichoderma* spp y otros mohos, se desarrollan con facilidad por ello es vital contar con áreas estériles y controlar la limpieza de los materiales y mantener áreas seguras para el trabajo.

## PALABRAS CLAVE

Recurso  
Valor económico  
Biomasa  
Contaminación

## ABSTRACT

The water lily (*Eichhornia crassipes*) is a species introduced to Lake Patzcuaro whose population is excessive, causing a strong negative impact for residents, aquatic fauna, and water quality. Excess organic contamination of the lake favors the proliferation of this and other aquatic plants. This biomass can become an economically and socially important resource. The production of Shitake and Reishi mushrooms can develop in substrates formulated with the incorporation of lily fibers. From the mycelia, edible and medicinal mushrooms can be produced and even research can be conducted to develop various mycomaterials. In this research, different lily formulations were tested with oak sawdust, corn cob and bran that are common in the Lake Pátzcuaro region, performing pre-composting and with different sizes of fragments of vegetable fibers. The Reishi mushroom had better development in precomposted substrate while the Shiitake developed well in the substrate with fresh fiber without precomposting. The use of different containers was tested, those that provided uniform lighting give better results. It is recognized that contamination by *Trichoderma* spp and other molds develop easily, therefore it is vital to have sterile areas and to control the cleanliness of materials and maintain safe areas for work.

## KEYWORDS

Resource  
Economic value  
Biomass  
Pollution

*1,2 Instituto Tecnológico Superior de Pátzcuaro/Docentes  
3,4 Instituto Tecnológico Superior de Pátzcuaro/Estudiantes*

## 1. INTRODUCCIÓN

La proliferación de la hidrófita *Eichhornia crassipes* en el lago de Pátzcuaro es crítica, es evidente percatarse de la invasión sobre el espejo de agua y la sobreproducción de biomasa que ocasiona una serie de afectaciones para los lugareños así como para las poblaciones de especies acuáticas y para la calidad de agua del lago. Entre los distintos problemas que trae consigo esta planta acuática para los pobladores son; la interferencia con la pesca general y la pesca tradicional, atascamiento de las turbinas de las embarcaciones, imposibilidad o dificultad de navegación en canoas, obstrucción de la penetración de la luz y por lo tanto afectación de la tasa fotosintética, dificulta o disminuye la reproducción de especies endémicas, producción de lixiviados al extraer y amontonar en las orillas del lago la materia extraída, mal olor y proliferación de mosquitos y otros animales, solo por mencionar algunos impactos negativos.

No se pueden negar algunos impactos positivos como la retención de azolve en las raíces, el secuestro de metales pesados y otras sustancias tóxicas de forma que puede contribuir con la remediación de aguas residuales (IMTA-SEMARNAT, 2011). Sin embargo, es una población fuera de control y el programa de dragado ha sido poco exitoso además de incompleto puesto que la extracción de las plantas acuáticas no es el paso final de un dragado (Oseguera, 2011) sino contar con una zona de tiro adecuada y hacer una disposición y uso de la materia vegetal extraída según su potencial de aprovechamiento.

Esta investigación se ha desarrollado considerando que la comunidad puede aprovechar todos los recursos naturales y que en este caso, el lirio puede ser utilizado como materia prima valiosa para generar actividades económicamente rentables planteando inicialmente, la producción de sustratos para el desarrollo de micelios que pueden ser aplicados en la producción de hongos comestibles, medicinales o también apropiados para su uso en la generación de micomateriales. En el caso del uso de lirio como sustrato para el crecimiento de *Pleurotus ostreatus* u hongo seta, hay referencias de éxito en algunos estudios que refieren un buen desarrollo de estas setas con fines de consumo como alimento humano (Nigistie, Sitotaw, Girmay, & Hirut, 2022).

Los hongos lignolíticos *Ganoderma lucidum* (reishii) y *Lentinula edodes* (shiitake), originario de medio oriente, se

cultivan ampliamente en el mundo con especial interés en sus propiedades nutrimentales y medicinales o curativas. En el presente trabajo se formularon diferentes mezclas para generar sustratos empleando en todos ellos como base la fibra de lirio sin raíces, para la propagación de micelio. No se buscó el cultivo de hongos sino la generación de micelios para la elaboración de micomateriales para construcción de viviendas o diseños para acabados en espacios habitacionales y se piensa en la aplicación que se puede hacer produciendo diversos micomateriales (De Bruin, 2019; Fuentes-Cantillana, 2020; Feijóo-Vivas, y otros, 2021). La intención principal es ofrecer alternativas de uso y oferta de valor del lirio como recurso natural del lago de Pátzcuaro y otros cuerpos de agua en el país que fortalezcan el desarrollo económico a la vez que se resarce el daño de la contaminación y sobrepoblación de hidrófitas.

Se probaron diferentes combinaciones y procesamiento de materiales para formulación de sustratos y lograr el desarrollo de estos hongos. Se eligieron estas especies por ser las más comúnmente usadas en el tipo de aplicaciones que se pretenden y sobre todo se tiene especial interés en el hongo Reishi por diversas investigaciones como la que presenta un reporte de investigación (Gutiérrez, y otros, 2021) en el que evaluaron la alta resistencia a la compresión (0.392 MPa); con un porcentaje de deformación máximo de 26% y una densidad media de  $0.511 \pm 0.169$  g/cm<sup>3</sup>.

En respuesta a la problemática observada en el lago, se plantea la interrogante de uso del lirio para la producción de hongos con diversos fines ya que investigaciones anteriores han conducido a su uso como combustible, bioenergético, forraje, composta y como remediador de suelos (López. Jerves, 2012; Jiménez, 2021). Siendo el Shiitake y el Resihi dos hongos importantes por sus cualidades y propiedades ¿Puede el lirio ser parte de la formulación de sustratos para el cultivo de estos hongos?

Los objetivos general y específicos de esta primera fase de la investigación han sido los siguientes. En principio, generar una formulación viable de sustrato elaborado a base de lirio acuático para el desarrollo y producción de hongos Reishii y Shiitake. Objetivos específicos, Identificar las condiciones de humedad y triturado de fibras con mejores resultados para el desarrollo de los micelios. Definir las proporciones de los componentes del sustrato y su procesamiento de acuerdo con las propiedades nutrimentales que aportan para la nutrición de los hongos. Generar sustratos efectivos a partir de combinaciones de diferentes elementos reciclados manteniendo como principal elemento la fibra de lirio acuático (*Eichhornia crassipes*).

## II. METODOLOGÍA

El presente trabajo de investigación se ha desarrollado en estas etapas iniciales atendiendo la necesidad de generar alternativas de uso de lirio acuático cuya biomasa es muy abundante en el lago de Pátzcuaro ubicado en Michoacán a una altitud de 2130 msnm. El clima de la región es templado subhúmedo con lluvias en verano. El sitio de experimentación se ubica cercano al lago.

El cultivo inicial para obtener las cepas madre, fue esencial para contar con buen material genético para desarrollar micelios fuertes. La obtención de las semillas fue a partir de una donación inicial que proporcionó una experta productora local de hongos (Díaz-Barriga, colaboradora de esta investigación) por micropropagación y compra granos miceliados a través de plataforma en línea con un proveedor. Se prepararon cajas de Petri con agar papa dextrosa (PDA) esterilizando en autoclave a 121°C durante 15 min. Otro medio de cultivo utilizado fue agua limpia con miel de maíz a razón de 1 cucharada de miel para medio litro de agua limpia (Díaz-Barriga, comunicación personal, 2021). Para el llenado de las cajas, así como el manejo de las siembras para la propagación, inicialmente se generó un campo estéril con apoyo de mechero de bunsen y lámparas de alcohol. Finalmente, se aseguró un área más estéril con campana de flujo laminar. Las placas sembradas se protegieron colocando microfilm alrededor.

Finalmente, a partir del micelio desarrollado en agar o en medio líquido, se hicieron siembras en granos de trigo, cebada y sorgo para el desarrollo de micelios que se sembraron posteriormente en el sustrato. Los frascos con medio líquido se prepararon haciendo un orificio en la tapadera sellado con microporo. Los granos que se probaron se lavaron y remojaron durante 12 a 24 horas, posteriormente se escurrieron eliminando exceso de humedad. Se esterilizaron a 121°C en bolsas de polipapel, frascos de vidrio y cajas de Petri durante 1 hora con la finalidad de evitar contaminación en el desarrollo del micelio.

Los materiales que se probaron para la formulación de sustratos para ambos hongos, fueron:

- Agua destilada con miel de maíz
- Caldo de extracto de malta (Malt Extract Broth)
- Caldo Dextrosa Sabourad (Sabouraud Dextrose Broth)
- Agar Papa Dextrosa PDA (PDA Potato Agar Dextrose)
- Granos pregerminados de cebada
- Granos pregerminados de avena
- Granos pregerminados de trigo
- Granos pregerminados de sorgo
- Olote seco molido
- Lirio molido y picado (fresco y seco)
- Salvado de trigo
- Aserrín de encino (*Quercus spp.*)
- Levadura en polvo
- Miel de piloncillo

## Formulaciones

### Sustrato 1

» 1,500 Gramos (1.5Kg) de *Eichhornia crassipes* sin raíces, picado en fibras finas cortadas con apoyo de hacha y cuchillo, sometidas a pre-compostado con 200 gr de olote de maíz molido grueso, por 5 días aplicando aceleradores: levadura en polvo y miel de piloncillo.

A esta mezcla precompostada se le adicionaron, en proporción de 4:3 otra mezcla de materiales como Aserrín de Encino (*Quercus resinosa*), salvado de trigo, cal viva, agrícola o para construcción (como desinfectante) y un mínimo de agua de grifo.

El sustrato se esterilizó en bolsas de poli papel por una hora en autoclave a 121 °C

Las bolsas con sustrato estéril se inocularon con 60 gr de granos miceliados para un contenido de 300 gr de mezcla por bolsa aproximadamente.

### Sustratos 2 y 3

Para la segunda formulación se emplearon los mismos materiales que en la primera fórmula utilizando el lirio fresco (sin precomposta) picado finamente en una picadora agrícola. Para poder iniciar con el proceso se hizo la extracción de la hidrófita del cuerpo de agua en fresco, cortando y desechando las raíces, solo se utilizaron las partes de las hojas, pecíolo y estolón.

El picado fino se realizó mediante una picadora agrícola marca BOMERI para forrajes secos y verdes, esta emplea una serie de martillos para triturar el forraje en vez de emplear cuchillas, así como también cuenta con una criba de abertura pequeña para un picado o triturado y obtener una fibra lo más fina posible a grado de tener similitud, textura y aspecto con un entramado de cabello humano o similar al entramado de la fibra de una gasa médica. Se prepararon los sustratos con los materiales y proporciones ya indicados en el sustrato 1, aclarando que, para los sustratos 2 y 3 se consideró una fibra más fina a partir de la hidrófita. Se hicieron pruebas con precompostaje de 5 días (sustrato 2) y con la fibra fresca sin precompostaje (sustrato 3).

### Sustrato 4

Como referencia, se preparó un sustrato testigo con los materiales enlistados, salvado, rastrojo, olote y aserrín, sin contenido de fibras de lirio y se siguió el procedimiento inoculando con los granos miceliados. Se comparó el desarrollo de micelio en este sustrato de referencia. El aserrín de encino (*Quercus spp.*) con un triturado fino y seco, no contienen resina (la cual pueda afectar el crecimiento del hongo). El aserrín absorbe el exceso de humedad que queda en la fibra de lirio, la mezcla se torna menos húmeda que en un inicio, hasta llegar a un punto en el cual toda la humedad es absorbida.

Aplicando la prueba del puño no debe de escurrir ni gotear liquido de la mezcla. Se asegura 90% de humedad. Con este material se adiciona la lignina necesaria para estas especies de hongos.

Por último, a la mezcla de sustratos elaborados se adicionó calhidra, o cal agrícola. Mezclando perfectamente de 5 a 10 minutos, esto para que la cal actué como medio de regulación del pH de la mezcla, así como también actúa como medio de esterilización del sustrato.

### III. RESULTADOS O AVANCES

En el caso de las formulaciones presentadas se refiere:

El mayor crecimiento de micelio de Reishi fue en sustrato precompostado con el lirio picado finamente. En un inicio se mezclaron fibras secas de lirio semitrocadas (Figura 1) y el ganoderma no generó micelio sobre estas fibras. De igual manera, su crecimiento en sustrato con el lirio fresco, si ocurre evaluando que el desarrollo o crecimiento del micelio sufre un atraso en días en comparación con el crecimiento de shiitake.

Se remarca que, el hongo shiitake se desarrolla con mayor rapidez que el Reishi en la fórmula con lirio picado fresco sin precompostar.

Para ambos hongos, la adición de lirio seco o en fibras cortadas muy gruesamente, no dio buen resultado, el micelio se desarrolló en los rastrojos y olote pero no en las fibras gruesas de lirio.

Figura 1. Fibras de lirio secas y troceadas



Secar el lirio resultó ser un proceso complicado y lento debido a la consistencia del tejido esponjoso de los bulbos y la cubierta cerosa de la planta que retiene fuertemente el agua evitando la evaporación o escurrimiento. En esta experien-

cia, se habilitó un túnel de secado con plástico negro con una altura de 1.70 en el centro (ver figura 2). Se colocó, el lirio picado con herramientas manuales como machetes, talachos y tijeras. Bajo esta cubierta la capa de lirio se mantuvo dando vueltas continuamente al material esperando que hubiera alta evaporación de agua. El resultado fue que tras un mes de aparente secado, las fibras continuaron reteniendo humedad produciendo lixiviados como líquidos color negro y no se logró el secado total de las fibras al 100%.

Figura 2. Capa de lirio picado en túnel de secado



Considerando los resultados de las formulaciones de sustrato empleando fibras frescas se considera en esta experiencia que no es necesario el secado del lirio.

El hongo ganoderma creció y su micelio invadió el sustrato con lirio a una velocidad aproximada al mismo hongo cultivado en el sustrato de referencia (sustrato 4). Es decir, el sustrato de referencia sin incorporación de lirio no ofreció un resultado notablemente mejor, que las formulaciones con lirio.

Los medios de PDA y el medio líquido con miel de maíz, son igualmente efectivos para producir los micelios. Cabe considerar que, el caldo dextrosa y el Sabouraud con azúcar de malta desarrollaron micelios menos vigorosos que los obtenidos en agua con miel de maíz.

De los tres granos probados para propagación de micelio, el trigo y la avena no parecen favorables para el crecimiento, en tanto que la cebada y el sorgo dieron buen desarrollo de micelios para ambos hongos.

No existe suficiente material de investigación con el uso del lirio para estos fines y poder comparar los resultados de esta investigación. Solo se encontraron referencias de cultivo de hongo seta (*Pleurotus ostreatus*) en sustratos con lirio (Muñoz & Zapata, 2019; Nigistie, Sitotaw, Girmay, & Hirut, 2022).

*Figura 3 y 4.*

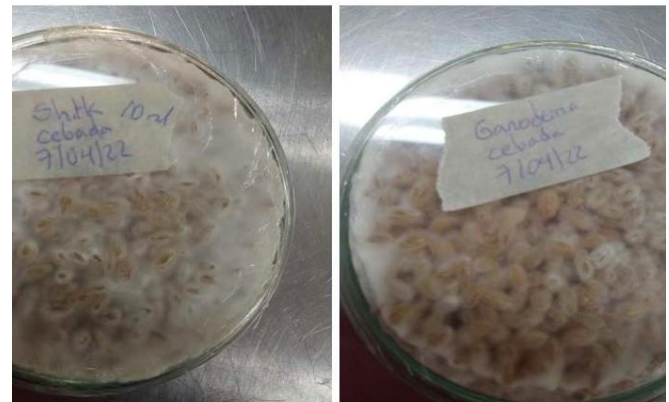
Crecimiento de micelio de ganoderma (izquierda) y ganadera shiitake (derecha) en sustrato precompostado después de 8 semanas.



Uno de los elementos del contexto que impulsa fuertemente esta investigación, es la necesidad de atender las necesidades sociales y ambientales en relación con la invasión del lirio en el lago y las consecuencias relacionadas con el mismo. La comunidad de pescadores solicitó el apoyo debido a que el dragado, cortado y cosechado de maleza acuática, es un programa que por más de 30 años se ha mantenido con resultados poco significativos para la gravedad de la sobrepoblación de plantas acuáticas, entre las cuales el lirio es la principal. En tanto no se evite o regule la descarga de aguas residuales y el arrastre de residuos de agroquímicos al lago, no se detendrá la producción de estos materiales vegetales y por ello, se atiende la necesidad de generar alternativas viables para su uso como recursos aprovechables con rentabilidad económica importante para el desarrollo comunitario y la atención de los impactos ambientales, uno de los más importantes la pérdida de navegación y espejo de agua como se observa en la figura 6.

*Figura 5.*

Desarrollo de micelio de shiitake y reishi en granos de cebada pregerminados



*Figura 6.*

Proliferación de lirio a la izquierda y estado de pérdida de espejo de agua en el lago de Pátzcuaro, en la figura a la derecha



## VI. CONCLUSIONES

Es necesario evaluar si los metales pesados contenidos en el lirio debido a que se pueden bioacumular en los tejidos permanecen en la fibra de lirio para estar en condiciones de recomendar o no, la producción de hongos comestibles generando estos sustratos. Particularmente en el lago de Pátzcuaro, no existen investigaciones suficientes al respecto de los metales pesados del agua, de la bioacumulación y de la traslocación tal como se considera en esta investigación, para recomendar la producción de hongos comestibles

El lirio puede ser un sustrato recomendable para la producción de hongos comestibles, medicinales o para otros fines adicionado en las mezclas en proporción de 4:3 lirio con otros materiales que puedan cubrir las necesidades nutrimentales de la especie de hongo en cuestión.

Hace falta investigar y tener un mayor conocimiento sobre las propiedades del lirio en relación con los requerimientos nutrimentales de cada especie de hongo y de su uso en producción de diversas especies incluyendo a las especies de hongos entomopatógenos. No resultó necesario secar el lirio debido a que los sustratos formulados dieron buen resultado con el lirio fresco o precompostado de 5 días lo cual representa un ahorro en el proceso de preparación y elaboración de los materiales, tanto en el proceso de secado como en el tiempo. Será necesario ampliar la investigación preparando una formulación especial para *Ganoderma lucidum* y otra para *Lentinula edodes* debido a la diferencia requerimientos de ambas especies considerando el sustrato natural en el que viven, dado que *Ganoderma sp.* es un hongo más asociado a la lignina que es menos requerida como nutriente por el *Lentinula sp.* y verificar si la humedad para ambos casos es alrededor de 90% con una iluminación igual, del 30%.

El mejor contenedor para el desarrollo de los micelios, resultó ser la charola de plástico cristal debido a que ofrece una mayor superficie para la oxigenación y una iluminación más uniforme. En general en los ensayos en los que se utilizaron bolsas de plástico, los sustratos presentaron un menor desarrollo de micelio y un crecimiento más lento, sin embargo estos han sido resultados parciales y se requiere de mayor investigación. Los retos derivados de la afectación económica derivada de enfrentar la pandemia por el COVID-19 sitúa a la sociedad actual, en la necesidad de encontrar estrategias productivas de alimentos sanos y nutritivos en espacios óptimamente utilizados y con reducido consumo de agua por lo que la producción de hongos resulta ser benéfica para la alimentación humana.

Por otra parte, la versatilidad de uso de los hongos para producción de hormonas, enzimas, colorantes, extractos medicinales o la elaboración de materiales para construcción y otros micomateriales, ofrece la posibilidad de establecer cadenas de valor en torno al uso del lirio como material importante en la producción de sustratos para el cultivo de hongos además de los usos que ya han sido estudiados.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- De-Bruin, S. (2019). The Fungi Factory: Mycelium as a new building block for Parkstad. Delft University of Technology. Obtenido de <https://repository.tudelft.nl/islandora/object/uuid:cd0bf37f-3eb3-407b-ae86-af035005cd22>
- Diaz-Barriga, V. H. (2 de Diciembre de 2021). Cultivos de hongos shiitake y reishi. (comunicación personal).
- Feijóo-Vivas, K., Bermúdez-Puga, S. A., Rebolledo, H., Figueroa, J. M., Zamora, P., & Naranjo-Briceño, L. (2021). Bioproductos desarrollados a partir de micelio de hongos: Una nueva cultura material y su impacto en la transición hacia una economía sostenible. *Bionatura*, 6(1), 1637-1652. <https://doi.org/10.21931/RB/2021.06.01.29>
- Fuentes-Cantillana, M. I. (2020). Bio Fabricación. Micelio como material de construcción: biocomposite en sustratos lignocelulósicos. Proyecto Fin de Carrera/Grado. Obtenido de ETSAM/UPM: <https://oa.upm.es/63507/>
- Gutiérrez, D. E., Hernández, D. E., Estrada, F. A., Álvarez, C. J., Romo, M. L., & Mendoza, M. B. (julio de 2021). Biomaterial obtenido a partir de micelio de hongo (*Ganoderma lucidum*) y residuos agrícolas. *South Florida Journal of Development*, 2(3), 4663-4681. Obtenido de <https://southfloridapublishing.com/ojs/index.php/jdev/article/view/619/573>
- IMTA-SEMARNAT. (2011). Estudio ecosistémico del lago de Pátzcuaro : aportes en gestión ambiental para el fomento del desarrollo sustentable. IMTA-SEMARNAT. Obtenido de [https://www.researchgate.net/publication/261312693\\_Estudio\\_ecosistemico\\_del\\_lago\\_de\\_Patzcuaro\\_aportes\\_en\\_gestion\\_ambiental\\_para\\_el\\_fomento\\_del\\_desarrollo\\_sustentable](https://www.researchgate.net/publication/261312693_Estudio_ecosistemico_del_lago_de_Patzcuaro_aportes_en_gestion_ambiental_para_el_fomento_del_desarrollo_sustentable)
- Jiménez, R. J. (2021). *Eichhornia crassipes* y su uso en técnicas de aprovechamiento y fitorremediación de cuerpos de agua. Obtenido de Universidad Nacional Abierta y a Distancia - UNAD. Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente: <https://repository.uniad.edu.co/bitstream/handle/10596/40340/jajimenezrodr.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- López, Jerves, D. N. (2012). Aprovechamiento del lechuguín ("*Eichhornia crassipes*") para la generación de abono orgánico mediante la utilización de tres modelos diferentes de biodigestores. Obtenido de Cuenca Ecuador. Carrera de Ingeniería ambiental. : <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/1938/12/UPS-CT002337.pdf>
- Muñoz, M. J., & Zapata, M. D. (2019). Evaluación de la obtención de celulosa a partir del buchón de agua (*Eichhornia crassipes*) mediante la hidrólisis básica y el proceso enzimático del hongo *Pleurotus ostreatus*. Obtenido de Fundación Universidad de América. Programa de Ingeniería Química. Bobotá, Colombia: <https://repository.uamerica.edu.co/bitstream/20.500.11839/7605/1/6132185-2019-2-IQ.pdf>
- Nigistie, E., Sitotaw, B., Girmay, S., & Hirut, A. (2022). Evaluation of Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*) Production Using Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*) Biomass Supplemented with Agricultural Wastes. *International Journal of Food Science*, 2022, 9 pp. Obtenido de <https://downloads.hindawi.com/journals/ijfs/2022/9289043.pdf>
- Oseguera, F. L. (2011). Calidad de agua y sedimentos en sitios con diferente grado de dragado en el Lago de Pátzcuaro, Mich., México. Obtenido de INIRENA Biblioteca Virtual UMSNH: [http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx:8083/xmlui/bitstream/handle/DGB\\_UMICH/5782/INIRENA-M-2011-0001.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx:8083/xmlui/bitstream/handle/DGB_UMICH/5782/INIRENA-M-2011-0001.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

