

**ALIMENTOS DEL FUTURO:
ALTERNATIVOS, TRANSGÉNICOS Y EDITADOS**

JAVIER VIGARA FERNÁNDEZ
JOSÉ MARÍA VEGA PIQUERES

ALIMENTOS DEL FUTURO:
ALTERNATIVOS, TRANSGÉNICOS
Y EDITADOS

(2ª EDICIÓN REVISADA Y AMPLIADA)



Sevilla 2020

Colección Ciencias
Núm.: 84

COMITÉ EDITORIAL:

José Beltrán Fortes
(Director de la Editorial Universidad de Sevilla)
Araceli López Serena
(Subdirectora)
Concepción Barrero Rodríguez
Rafael Fernández Chacón
María Gracia García Martín
Ana Ilundáin Larrañeta
María del Pópulo Pablo-Romero Gil-Delgado
Manuel Padilla Cruz
Marta Palenque Sánchez
María Eugenia Petit-Breuilh Sepúlveda
José-Leonardo Ruiz Sánchez
Antonio Tejedor Cabrera

1ª Edición: 2016.

2ª Edición (revisada y ampliada): 2020.

Reservados todos los derechos. Ni la totalidad ni parte de este libro puede reproducirse o transmitirse por ningún procedimiento electrónico o mecánico, incluyendo fotocopia, grabación magnética o cualquier almacenamiento de información y sistema de recuperación, sin permiso escrito de la Editorial Universidad de Sevilla.

Motivo de cubierta: La portada es original de los autores. La doble hebra del ADN es el hilo conductor, común a todos los organismos, y la estructura base para la modificación y edición genética.

© Editorial Universidad de Sevilla 2020
C/ Porvenir, 27 - 41013 Sevilla.
Tlfs.: 954 487 447; 954 487 451; Fax: 954 487 443
Correo electrónico: eus4@us.es
Web: <<https://editorial.us.es>>

© Javier Vígara Fernández y José María Vega Piqueres 2020

Impreso en papel ecológico
Impreso en España-Printed in Spain

ISBN 978-84-472-2960-4
Depósito Legal: SE 935-2020

Diseño de cubierta y maquetación: referencias.maquetacion@gmail.com
Impresión: Podiprint

*Dedicado a:
Ana A. y Ana V.
Álvaro y Marina*

Índice

Prólogo.....	17
CAPÍTULO 1. Dieta y salud.....	21
1. Pirámide alimentaria.....	21
2. Dieta sana: equilibrada y variada.....	22
2.1. Aporte calórico.....	22
2.2. Nutrientes esenciales.....	23
2.2.1. L-Aminoácidos.....	23
2.2.2. Vitaminas.....	24
2.2.3. Minerales.....	24
2.2.4. Ácidos grasos ω -3, ω -6 y carotenoides.....	25
2.2.5. Fibra.....	25
3. Dieta consumista: evolución de la dieta humana.....	25
4. Estrés oxidativo.....	27
4.1. Generación de especies reactivas del oxígeno (ROS).....	27
4.2. Sistemas endógenos de defensa frente a ROS.....	28
4.2.1. Enzimas antioxidantes.....	28
4.2.2. Metabolitos antioxidantes.....	28
4.3. Antioxidantes en la dieta.....	29
5. Enfermedades relacionadas con la dieta.....	29
5.1. Obesidad.....	30
5.2. Diabetes mellitus.....	30
5.3. Hipertensión arterial.....	31
5.4. Accidentes vasculares.....	32
5.5. Cáncer.....	33
6. Alergias o intolerancias alimentarias.....	34
6.1. Alergia o intolerancia a la leche.....	35
6.2. Alergia al huevo.....	36

6.3. Alergia al gluten	36
6.4. Otras alergias producidas por alimentos.....	36
7. Dieta y envejecimiento	36
7.1. Envejecer de forma saludable.....	37
CAPÍTULO 2. Microbioma y salud	39
1. Microorganismos de importancia para la vida humana	39
1.1. Microbiota humana.....	39
1.2. Microorganismos fijadores de nitrógeno	40
1.3. Microorganismos fermentadores	40
1.4. Microorganismos de interés biotecnológico.....	40
1.5. Microorganismos genéticamente modificados.....	40
2. Microbioma humano: composición y función.....	40
3. Microbioma intestinal: composición y función.....	42
3.1. Maduración del sistema inmune	44
3.2. Eje Intestino-Cerebro	44
4. Enfermedades relacionadas con la Flora	45
4.1. Enfermedades neurodegenerativas	46
4.2. Enfermedades intestinales específicas (IBD)	46
4.3. Cáncer colorrectal (CCR)	46
4.3.1. Disbiosis y CCR.....	47
4.3.2. Protección de la microbiota contra el CCR	48
4.4. Obesidad y Diabetes	49
4.5. Enfermedades cardiovasculares	50
5. Tratamientos terapéuticos de la Flora	51
5.1. Probióticos, Prebióticos y Simbióticos	51
5.1.1. Probióticos.....	51
5.1.2. Prebióticos.....	52
5.1.3. Simbióticos	54
5.2. Modificación genética de probióticos	56
5.3. Trasplante de Flora	56
CAPÍTULO 3. Demografía y alimentos	59
1. Boom demográfico actual.....	59
1.1. Producción de alimentos.....	59
1.2. Deterioro y desperdicio de alimentos	62
1.3. Identificación de un alimento.....	63
1.4. Fraude alimentario	64
2. Alimentos con futuro.....	65
2.1. Insectos: fuente de proteína de calidad	65
2.2. Microalgas: una alternativa real	66
2.2.1. Análisis de la calidad proteica de las SCP.....	66
2.2.2. Microalgas en el sector alimentario	67
2.3. Micoproteína: excelente para dietas vegetarianas.....	68
2.4. Alimentos funcionales y terapéuticos.....	70
2.5. Alimentos modificados genéticamente.....	70

3. Nutracéuticos	71
3.1. Nutrientes esenciales	72
3.1.1. L-Aminoácidos.....	72
3.1.2. Vitaminas	72
3.1.3. Carotenoides y ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs).....	73
3.2. Antioxidantes	74
3.3. Fibra dietética	74
 CAPÍTULO 4. Enzimas en industrias alimentarias.....	 75
1. Enzimas: industria y mercado.....	75
1.1. Fuentes de enzimas	75
1.2. Ventajas e inconvenientes del uso de enzimas	77
1.3. Estabilización de enzimas.....	78
2. Enzimas en industrias alimentarias.....	80
2.1. Producción de pan	81
2.2. Sector Lácteo: producción de queso	82
2.2.1. Tratamiento de la leche.....	82
2.2.2. Producción de quesos	83
2.3. Industrias vitivinícola y cervecera	84
2.4. Sector oleícola	85
2.5. Sector de zumos de fruta	87
2.6. Industria cárnica.....	88
2.6.1. La fitasa en la nutrición animal	88
2.6.2. Otras enzimas importantes en la nutrición animal ...	89
2.7. Producción in vitro de nutraceuticos.....	89
2.8. Industria de aditivos.....	90
2.8.1. Producción de azúcar (sacarosa).....	90
2.8.2. Jarabes de fructosa.....	90
2.8.3. Síntesis de α -aspartamo	91
2.8.4. Otros edulcorantes.....	91
3. Enzimas y seguridad alimentaria: eliminación de acrimamida	91
 CAPÍTULO 5. Modificación genética de microorganismos y plantas: técnicas	 93
1. Microorganismos.....	93
1.1. Clonación molecular.....	93
1.2. Sistemas CRISPR-Cas en bacterias	96
1.3. Vacunación de bacterias	99
2. Plantas: mejora vegetal	100
2.1. Mejora Tradicional	100
2.2. Mejora Biotecnológica	101
3. Técnicas de modificación genética de plantas	102
3.1. Mutagénesis.....	102
3.2. Infección con <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	102
3.3. Biobalística.....	104

3.4. Silenciamiento génico	104
3.5. Recombinasas	106
3.6. Edición de DNA: Sistemas CRISPR-Cas	107
3.6.1. Ingeniería de la proteína Cas9	110
3.6.2. Nucleasas alternativas a la Cas9	111
4. Modificaciones genéticas valoradas en agricultura	114
4.1. Países cultivadores de transgénicos.....	114
 CAPÍTULO 6. Microorganismos y alimentos	 117
1. Microorganismos de interés agrícola	117
1.1. Biofertilización	117
2. Microorganismos en industrias alimentarias	119
2.1. Producción de pan	120
2.2. Sector lácteo	121
2.3. Industrias vitivinícola y cervecera	121
2.4. Otras industrias	123
2.4.1. Aceituna de mesa: producción y elaboración	123
3. Microorganismos y producción de compuestos de alto valor añadido.....	124
3.1. L-Aminoácidos	124
3.1.1. L-Glutamato.....	125
3.1.2. L-Lisina	126
3.1.3. L-Treonina.....	128
3.2. Ácidos orgánicos.....	128
3.3. Carotenoides.....	129
3.4. Ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs).....	132
3.5. Vitaminas.....	135
3.5.1. Vitamina B2	136
3.5.2. Vitamina B12	136
3.5.3. Vitamina C.....	137
 CAPÍTULO 7. Biotecnología de plantas	 139
1. Productos vegetales en la dieta humana	139
2. Agricultura: origen y tipos	140
3. Agricultura transgénica actual	143
3.1. Plantas resistentes a herbicidas	144
3.2. Plantas resistentes a estrés abiótico	146
3.3. Plantas resistentes a estrés biótico	147
3.3.1. Tecnología Bt.....	147
3.3.2. Cultivo de Cassava en África.....	148
3.3.3. Plantas resistentes a virus	149
3.4. Plantas multitrangénicas.....	150
4. Mejora de la calidad nutritiva de la planta.....	151
5. Producción de frutos de maduración retardada	152

CAPÍTULO 8. Biotecnología de cereales	155
1. Cereales: producción	155
2. Arroz: producción y consumo	155
3. Arroz modificado genéticamente.....	157
3.1. Arroz Dorado	158
3.2. Arroz resistente.....	159
3.2.1. A insectos patógenos.....	159
3.2.2. Al agua salada	160
3.2.3. A la inundación	160
3.2.4. Al frío	160
3.3. Arroz C4	160
3.4. Arroz editado	161
3.4.1. Mejora de la producción y calidad del arroz.....	161
3.4.2. Mejoras nutritivas.....	161
3.4.3. Plantas tolerantes a estrés biótico.....	162
3.4.4. Tolerancia a estrés abiótico.....	162
4. Maíz: producción y consumo	162
5. Maíz modificado genéticamente	163
5.1. Maíz Bt.....	163
5.2. Maíz resistente a herbicidas	164
5.3. Maíz resistente a sequía	164
5.4. Maíz multitransgénico	164
5.5. Maíz editado	165
6. Trigo: producción y consumo	166
7. Mejora del trigo	166
7.1. Mejora clásica	166
7.2. Mejora biotecnológica	166
7.2.1. Tolerancia a herbicida.....	168
7.2.2. Tolerancia a patógenos.....	168
7.2.3. Tolerancia a estrés abiótico	168
7.2.4. Trigo apto para celíacos	168
8. Cebada.....	169
8.1. Cebada modificada genéticamente.....	169
8.1.1. Para mejorar la producción	169
8.1.2. Resistencia a estrés biótico	170
8.1.3. Resistencia a estrés abiótico	170
9. Avena	170
 CAPÍTULO 9. Biotecnología de oleaginosas.....	 171
1. Estructura y propiedades de los ácidos grasos.....	171
1.1. Ácidos grasos esenciales	172
1.2. Función biológica de los ácidos grasos.....	173
1.3. Beneficios para la salud del ácido oleico y los PUFAs	174
1.4. Importancia de la posición del ácido graso en el triglicérido.....	175

2. Aceites vegetales comestibles: producción y consumo	175
2.1. Aceite de palma	176
2.2. Aceite de soja	177
2.3. Aceite de colza	178
2.4. Aceite de girasol	178
2.5. Aceite de cacahuete.....	179
2.6. Aceite de semillas de algodón.....	179
2.7. Aceite de oliva: producción y tipos	179
3. Composición en ácidos grasos de los aceites vegetales.....	180
4. Aceite de microalgas.....	181
4.1. Producción de PUFAs por microalgas transgénicas	182
5. Grasas estructuradas.....	184
6. Mejora biotecnológica de plantas oleaginosas.....	185
6.1. Resistencia a estrés abiótico.....	185
6.2. Resistencia a estrés biótico.....	186
6.3. Plantas productoras de aceite alto oleico	186
6.4. Plantas productoras de aceite de pescado	187
7. Mejora biotecnológica del aceite de oliva.....	187
7.1. Bajo contenido en ácido linoleico	187
7.2. Propiedades organolépticas.....	188
 CAPÍTULO 10. Frutales, azucareras y reactores vegetales	 189
1. Frutales: modificación genética.....	189
1.1. Manzanas	189
1.2. Bananas y plátanos	190
1.3. Uvas.....	190
2. Plantas azucareras	190
2.1. Caña de Azúcar	191
2.1.1. Mejora biotecnológica de la caña de azúcar.....	191
2.2. Remolacha.....	191
2.2.1. Mejora biotecnológica de la remolacha	192
2.3. Sorgo dulce	192
3. Producción de biocombustibles.....	192
4. Biorreactores vegetales	192
4.1. Fresas ricas en lactoferrina.....	194
4.2. Producción de fármacos.....	195
5. Vacunas comestibles.....	196
5.1. Producción de una vacuna comestible	197
5.1.1. Mecanismo de actuación del antígeno.....	198
5.1.2. Ventajas de las vacunas comestibles.....	200
5.1.3. Retos futuros	200
 CAPÍTULO 11. Biotecnología en mamíferos.....	 201
1. Alimentos de origen animal en la dieta humana	201
2. Ganadería e impacto ambiental.....	201

3. Carne: producción y consumo	202
3.1. Composición de la carne	203
3.2. Tratamientos de la carne	204
3.2.1. Irradiación de alimentos	204
3.3. Carne cultivada	205
4. Leche: producción y consumo	206
5. Mejora animal: modificación genética de mamíferos	207
5.1. Diseño de un transgén	208
5.2. Tejido animal susceptible de transfección	209
5.3. Técnicas de transfección	209
5.4. Obtención de un mamífero transgénico	210
5.5. Clonación animal	211
5.6. Animales como biorreactores	212
6. Vacas modificadas genéticamente	213
6.1. Para producir más leche	213
6.2. Resistentes a mastitis	213
6.3. Para producción de proteínas recombinantes en la leche	214
6.4. Para producir animales menos contaminantes	214
6.4.1. Vacas que excretan menos metano	214
6.4.2. Vacas con fitasa	215
7. Leche funcional	215
7.1. Vacas productoras de leche humana	216
7.2. Leche con mayor contenido proteico	216
7.3. Leche hipoalergénica	216
7.4. Leche sin lactosa	217
7.5. Leche enriquecida en ácidos grasos ω -3	217
8. Leche terapéutica	217
9. Obtención de cerdos genéticamente modificados	218
9.1. Para mejorar la calidad de la carne	218
9.2. Para producir más carne	220
9.3. Más resistentes a enfermedades	220
9.4. Para mejorar la nutrición del animal y disminuir sus efectos contaminantes	221
 CAPÍTULO 12. Biotecnología en aves y peces	 223
1. Carne de aves: producción y consumo	223
2. Huevo de gallina: producción y tipos	223
3. Modificación genética de aves: técnicas	224
3.1. Microinyección directa de DNA	225
3.2. Métodos víricos	225
3.3. Uso de transposones	225
4. Aves modificadas genéticamente	225
5. Huevos de gallina como biorreactores	226
5.1. Gallinas transgénicas	226

6. Animales acuáticos: producción y consumo	227
6.1. Capturas	228
6.2. Acuicultura	228
7. Pescado: composición y elaboración	229
7.1. El pescado como fuente principal de PUFAs y yodo	230
8. Modificación genética de peces: técnicas	231
9. Pescado modificado genéticamente	233
9.1. Estimulación del crecimiento	233
9.2. Enriquecimiento nutritivo	234
9.3. Peces más resistentes	234
9.4. Huevos de pescado como biorreactores	235
Epílogo. Futuro de los alimentos modificados	237
1. Ingeniería genética en plantas y animales	237
2. Debate actual sobre alimentos modificados	238
2.1. Beneficios	238
2.2. Inconvenientes	239
3. Perspectivas de futuro	241
Anexo. Conceptos y técnicas en Biología Molecular	243
1. Ciencias y técnicas ómicas	243
2. Extracción y purificación de ácidos nucleicos	244
3. Conceptos clave en la tecnología del DNA	246
3.1. Secuenciación del DNA. Método de Sanger	246
3.2. DNA genómico, plasmídico y cDNA	247
3.2.1. Obtención de un cDNA	247
3.3. Endonucleasas de restricción y DNA recombinante	250
3.4. PCR y RT-PCR	252
4. Análisis de DNA	253
4.1. Técnica de <i>Southern blot</i>	253
4.2. Identificación de un gen determinado en una muestra de DNA	254
4.3. La huella genética	254
5. Análisis de RNA	254
5.1. Técnica de <i>Northern blot</i>	254
6. Análisis de proteínas	255
6.1. Técnica de <i>Western blot</i>	255
7. Bioinformática	256
8. Biología sintética	258
Bibliografía por capítulos	261

Prólogo

El concepto de dieta utilizado en este libro se refiere a los hábitos alimentarios de cada uno y no a una idea restrictiva o formularia de lo que se come. La dieta (los hábitos) del hombre moderno ha cambiado significativamente respecto a la de nuestros ancestros. Actualmente ingerimos más proteínas y grasas de origen animal, más sal y azúcar y, por el contrario, menos fibra, frutas y verduras, y también menos microorganismos (bacterias). Sin embargo, el genoma humano, descifrado en 2003, se ha mantenido, desde nuestros ancestros, sin cambios tan significativos. Como consecuencia de esta disparidad, la dieta moderna (consumista) hace que el hombre pague un precio muy alto, padeciendo enfermedades degenerativas, como accidentes vasculares, diabetes, hipertensión y cáncer, entre otras. Pero también es cierto que una buena alimentación puede actuar de forma muy activa en la mejora e incluso la desaparición de algunas de estas enfermedades. Dieta y salud están relacionadas, aspecto que toma especial relevancia cuando hablamos por ejemplo de la dieta mediterránea, patrón y modelo de una alimentación sana.

El boom demográfico que afecta al planeta hace que, según estimaciones de la FAO, organismo internacional encargado de la vigilancia alimentaria de la humanidad, la demanda global de alimentos aumente cada año y la oferta se haga insuficiente. Por otra parte, la población del planeta es cada vez de más edad, por lo que aumenta la demanda de alimentos de calidad, adecuados a los problemas metabólicos de cada uno. Necesariamente hemos de cambiar nuestro concepto productivo en el sentido de producir más alimentos y de mejor calidad. La irrupción de los nutracéuticos y alimentos funcionales en el mercado hace que las industrias alimentarias amplíen sus campos de interés, con la idea de ajustar sus productos a la nueva demanda que les plantea la Sociedad.

La agricultura intensiva y la ganadería han llegado al límite de sus posibilidades, ya que no se puede dedicar más extensión de terreno para la producción agrícola y ganadera, sin poner en peligro de forma irreversible la propia supervivencia del planeta Tierra. No se puede seguir incrementando la cantidad de peces capturados de los océanos, sin poner en peligro la biodiversidad de los propios océanos. Tenemos que cambiar nuestra idea de desarrollo porque ya se han encendido todas alarmas, como el calentamiento global, el cambio climático y otras amenazas para el medio ambiente, que nos avisan del deterioro progresivo que está sufriendo nuestro planeta, como consecuencia del impacto hombre.

En medio de este debate surgen los alimentos modificados genéticamente, inicialmente basados en la transgénesis, es decir en la tecnología del DNA recombinante, que ha permitido producir alimentos transgénicos, actualmente en el mercado, que han dado soluciones eficientes a esa demanda de producir más por hectárea y de mejor calidad nutritiva. Sin embargo, los alimentos transgénicos tienen hoy día un rechazo social importante por razones éticas y medioambientales. Recientemente, la tecnología basada en nucleasas de precisión, como el sistema CRISPR-Cas9, supone un gran avance en la modificación genética de organismos, ya que permite actuar de forma simple y precisa sobre el genoma del receptor, sin necesidad de utilizar DNA de especies diferentes. Se puede utilizar en este caso DNA sintético, que incluya genes de la misma especie, para obtener organismos genéticamente modificados, lo que permite producir unos alimentos mejorados y más aceptables por los consumidores.

Es importante que exista una difusión de los procedimientos científicos, para que el ciudadano conozca mejor como se obtienen los alimentos modificados genéticamente y pueda posicionarse, con conocimiento de causa, ante este gran debate social de alimentos modificados sí o no. Es intención de esta obra una puesta al día, lo más aséptica posible, de los campos de desarrollo actuales para la producción y mejora biotecnológica de alimentos, los peligros a los que nos enfrentamos, aun sabiendo que algunos de ellos, si ocurren, lo notaríamos a largo plazo. Todo un reto ante un horizonte de dudas y esperanzas, pero creemos en la sociedad del conocimiento, en la que las personas progresen gracias a su esfuerzo personal y al conocimiento adquirido puesto al servicio de los demás. Esto es el motor de progreso. Hemos pretendido, sin perder el rigor científico, que la obra sea lo más asequible posible para todos, y particularmente para estudiantes de bachiller y universitarios interesados en temas científicos.

El libro consta de doce capítulos, el primero proporciona las bases establecidas entre Dieta y Salud, haciendo especial énfasis en las enfermedades relacionadas, así como en alergias e intolerancias alimentarias. Por su parte, el capítulo 2 reflexiona sobre los conocimientos recientes del Microbioma humano, publicados por Jeffrey I. Gordon de la Universidad de Washington, en San Luís, USA, Premio BBVA “Fronteras del Conocimiento, 2019”, que ha puesto de manifiesto la relación de la Flora intestinal con la dieta y enfermedades intestinales de las personas. En el capítulo 3 se da una visión

general de los nuevos alimentos donde ha de ir mirando la humanidad, para asegurar, de forma sostenible, su alimentación, ante los numerosos problemas que se avecinan, particularmente el déficit proteico y de nutrientes esenciales necesarios para una buena alimentación. En el capítulo 4 se detalla una puesta al día de las Enzimas, proteínas con actividad catalizadora, muy utilizadas en las industrias alimentarias. En el capítulo 5 se hace una recopilación de las técnicas utilizadas para la modificación genética de microorganismos y plantas, haciendo una descripción muy detallada de los mecanismos de Edición génica, por la técnica de CRISPR-Cas9, muy reciente y, por tanto, desconocida. La descripción de los microorganismos implicados en la producción de alimentos y compuestos de valor añadido se trata en el capítulo 6. Los capítulos 7-10 están dedicados a los alimentos de origen vegetal, haciendo especial énfasis en cereales y oleaginosas, tan importantes para nuestra región, con una puesta al día de plantas transgénicas y editadas, que actualmente están en el campo para la producción de alimentos. Se analizan las mejoras agronómicas realizadas y sus posibles problemas. Por su parte, los capítulos 11-12 tratan de la mejora biotecnológica de los animales que nos suministran proteínas de calidad, donde analizamos el efecto de la transgénesis en mamíferos, aves y peces, y la problemática asociada. A continuación se hace una reflexión en la que consideramos las ventajas demostradas de los alimentos modificados genéticamente, así como sus inconvenientes, concluyendo que estamos ante una tecnología necesaria para el futuro del hombre, con ventajas y riesgos, que nos obligan a estar vigilantes ante su fenomenal desarrollo alcanzado en los últimos años. El libro termina con un anexo, en el que se hace una recopilación de las técnicas de Biología Molecular, que se mencionan a lo largo de la obra. Se concluye con una Bibliografía, por capítulos, donde se relacionan los trabajos científicos que nos han documentado para desarrollar la obra. Como toda obra científica nos valemos de 84 Figuras y 20 tablas, para apoyar e ilustrar conceptos y técnicas desarrollados.

Los científicos estamos fascinados por el espectacular desarrollo de la Biotecnología y particularmente de la tecnología del DNA, y el efecto de la transgénesis y la edición génica en la modificación de microorganismos, plantas y animales para mejorar la producción y la calidad de los alimentos, siendo respetuosos con el medio ambiente. Nos embruja el deseo de aprender y transmitir estos conocimientos a una Sociedad mayoritariamente ajena a ellos, porque estamos ante una tecnología que sin duda alguna cambiará la historia del hombre y su desarrollo.

Queremos agradecer a las Instituciones: Universidad de Sevilla y Universidad de Huelva, que en todo momento nos han apoyado, así como a nuestros alumnos, cuyo interés por aprender ha sido siempre nuestro reto por enseñar y a nuestras familias que siempre estuvieron apoyando y estimulando la realización de esta obra.

Los Autores