

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ciencias y Humanidades



Desarrollo de estrategias múltiples dirigidas al control de
la roya del café en una comunidad cafetalera

Trabajo de graduación en modalidad Megaproyecto Tecnológico
presentado por:

María Isabel Fuentes Merlos para optar al grado académico de
Licenciada en Bioquímica y Microbiología;
Mayra Alejandra Bracamonte Prado,
Diana Aracely Castillo Mayorga y
María Alejandra Girón Sowa para optar al grado académico de
Licenciadas en Psicopedagogía; y
Juan Jacobo Pieters Escaler para optar al grado académico de Licenciado
en Ingeniería en Ciencias de la Administración

Guatemala
2015

**Desarrollo de estrategias múltiples dirigidas al control
de la roya del café en una comunidad cafetalera**

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ciencias y Humanidades



Desarrollo de estrategias múltiples dirigidas al control de
la roya del café en una comunidad cafetalera

Trabajo de graduación en modalidad de Megaproyecto Tecnológico
presentado por:

María Isabel Fuentes Merlos para optar al grado académico de
Licenciada en Bioquímica y Microbiología;

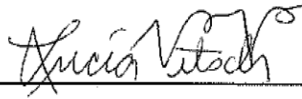
Mayra Alejandra Bracamonte Prado,
Diana Aracely Castillo Mayorga y

María Alejandra Girón Sowa para optar al grado académico de
Licenciadas en Psicopedagogía; y

Juan Jacobo Pieters Escaler para optar al grado académico de Licenciado
en Ingeniería en Ciencias de la Administración

Guatemala
2015

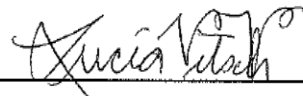
Vo. Bo.

(f)  _____

Asesora de Megaproyecto

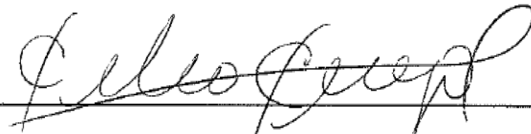
Msc. Lucia Nitsch

Tribunal examinador:

(f)  _____

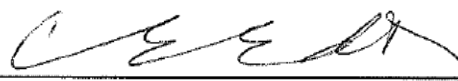
Directora del Departamento de Bioquímica y Microbiología

Msc. Lucia Nitsch

(f)  _____

Director del Departamento de Ingeniería en Administración

Ing. Celso Cerezo

(f)  _____

Directora del Departamento de Educación

Licda. Carlota Escobar

Fecha de aprobación: Guatemala 20 de noviembre de 2015

PREFACIO

El siguiente trabajo es fruto del esfuerzo tanto individual como colectivo que se realizó durante tres semestres. Tiempo en el cual se aplicaron múltiples disciplinas para la recopilación y dispersión de información correspondiente al hongo *Hemileia vastatrix* abarcando tres áreas principales: microbiología, educación y administración. Agradecemos a la Universidad del Valle de Guatemala, institución educativa que nos formó y brindo las herramientas necesarias para formarnos como profesionales. La coordinadora del proyecto Dalia Lau Bonilla y Lucía Nitsch Velásquez quienes estuvieron presentes y apoyando al equipo desde el comienzo, organizando y asesorando a cada disciplina en lo posible. A Jose Guillermo Rivera por brindar apoyo incondicional, paciencia y dedicación como asesor del área administrativa. Pablo Silva, quien se encargó de estructurar y guiar al equipo en la primera etapa asegurándose de no perder el rumbo y facilitar la unión del equipo. La Licenciada Pilar Aldana, asesora del área de educación. Licenciada Elena Dardón, Dra. Fulop Ríos-Gonzales, Dr. Julien Assali, Nohemí Zelada y compañeros bioquímicos. El Dr. Francisco Anzueto y Anacafé por proporcionar datos e información relevante, brindar asesoría y capacitar a los miembros del equipo. Finalmente y no por ello menos importante, a Dios, nuestras familias, amigos y todas las personas que nos apoyaron y acompañaron en esta travesía brindando apoyo y consejos cuando se necesitaron.

ÍNDICE

Prefacio	vi
Índice	vii
Tabla de imágenes.....	x
Índice de tablas	xii
Tabla de diagramas	xiii
Resumen.....	xiv
I. Introducción	1
II. Objetivos	4
A. General del megaproyecto	4
B. Objetivos específicos	4
III. Justificación.....	5
IV. Marco teórico	8
A. La roya del café y su patogenicidad.....	8
1. Patogénesis de la infección por <i>Hemileia Vastatrix</i>	9
2. Factores que afectan la epidemiología de la enfermedad.....	11
3. Variabilidad de <i>Hemileia Vastatrix</i>	12
4. Resistencia de las plantas de café hacia enfermedades	12
5. Manejo y control de la roya	14
6. Detección de roya del café por biología molecular.....	15
7. Técnica de reacción en cadena de polimerasa (PCR)	15
B. Impacto económico de la roya del café.....	16
1. Historia del café en Guatemala	16

2.	Enfermedades del café	19
3.	Historia de la roya	21
4.	Fases y sub fases de la roya	23
5.	Ciencias económicas	23
6.	Datos	26
C.	Comunidad educativa.....	35
1.	Medición pedagógica	35
2.	Estrategias didácticas para docentes que trabajan en el área rural	40
3.	Nivel Preprimario.....	42
4.	Primaria.....	50
5.	Ciclo diversificado del nivel medio	56
V.	Marco metodológico	65
A.	Estrategia general del megaproyecto	65
B.	Implementación de pruebas moleculares para detección de genes virulentos	65
C.	Proceso de análisis molecular	71
D.	Implementación de material didáctico en regiones de producción cafetalera.....	81
E.	Propuesta de mejora, análisis molecular	87
F.	Estudio de conocimiento sobre el café en la población guatemalteca	88
G.	Metodología para el desarrollo de material didáctico en la comunidad educativa	92
1.	Preprimaria.....	96
2.	Primaria.....	96
3.	Ciclo diversificado del nivel medio	98
4.	Acciones específicas del componente.....	99
5.	Instrumentos de validación para el material didáctico	101

6.	Sistematización de la validación y resultados	104
VI.	Resultados	105
A.	Pruebas moleculares de detección de genes virulentos.....	105
B.	Comunidad educativa.....	120
VII.	Análisis de resultados.....	121
A.	Microbiología.....	121
B.	Análisis económico.....	129
C.	Comunidad educativa.....	130
VIII.	Conclusiones	132
IX.	Recomendaciones.....	133
X.	Bibliografía	134
XI.	Anexos.....	149
XII.	Glosario.....	157

TABLA DE IMÁGENES

Imagen #1: Desarrollo de la infección del hongo <i>H. vastatrix</i>	9
Imagen # 2: Ciclo de vida del hongo <i>H. Vastatrix</i>	11
Imagen #3: Amplificación de PCR	16
Imagen #4: Producción exportable en millones de quintales oro	29
Imagen #5: Razas de roya, porcentajes de prevalencia.....	31
Imagen #6: Mapa de calor, producción de café en Guatemala	81
Imagen #7: Conocimiento del guatemalteco sobre el cultivo	89
Imagen #8: Importancia del café en la economía guatemalteca	90
Imagen #9: Tomas café	91
Imagen #10: Consumo a nivel mundial	91
Imagen #11: Mapa de finca “Los Andes”	100
Imagen #12: Gel de Agarosa simulado de los resultados de PCR in silico	108
Imagen #13: Gel de integridad de ADN 1	110
Imagen #14: Gel de integridad de ADN 2	111
Imagen #15: Gel de electroforesis con PCR convencional 1	112
Imagen #16: Gel de electroforesis con PCR convencional 2.....	112
Imagen #17: Gel de electroforesis con PCR touchdown 1	113
Imagen #18: Gel de electroforesis con PCR touchdown 2	114
Imagen #19: Gel con PCR touchdown con cambios en el anillamiento 1	115
Imagen #20: Gel con PCR touchdown con cambios en el anillamiento 2.....	115
Imagen #21: Gel con PCR touchdown con cambios en el anillamiento 3.....	116
Imagen #22: Gel con PCR touchdown con cambios en el anillamiento 4.....	116
Imagen #23: Gel con PCR touchdown con cambios en el anillamiento 5.....	117
Imagen #24: Gel con PCR touchdown con cambios en el anillamiento 6.....	118
Imagen #25: Gel con PCR touchdown con cambios en el anillamiento 7.....	119

Imagen #26: Muestras de hojas de café recolectadas en la UVG	154
Imagen #27: Control positivo y negativo.....	155
Imagen #28: Visita a finca Los Andes 1	155
Imagen #29: Visita a finca Los Andes 2	156
Imagen #30: Visita a finca Los Andes 3	156

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla #1: Clasificación taxonómica de la roya.....	9
Tabla #2: Descripción de fungicidas.....	14
Tabla #3: Características de variedades de Coffea	18
Tabla #4: Exportaciones en Guatemala	27
Tabla #5: Volumen y precio de los principales productos en Guatemala.....	28
Tabla #6: Genes de resistencia.....	31
Tabla #7: Principales productores.....	32
Tabla #8: Empleos perdidos.....	33
Tabla #9: Colorless Master Mix.....	69
Tabla #10: Taq Polymerasa.....	69
Tabla #11: Corrección de reacción	70
Tabla #12: Inversión requerida	72
Tabla #13: Costo unitario por escenario	79
Tabla #14: Regiones de producción cafetalera	82
Tabla #15: Productores por región.....	82
Tabla #16: Producción por año cafetalero	83
Tabla #17: Eficiencia departamental.....	84
Tabla #18: Área cultivada e índices departamentales	85
Tabla #19: Genes de Virulencia.....	105
Tabla #20: Función y homología de los genes encontrados	106
Tabla #21: Secuencia de los primers obtenidos	107
Tabla #22: Concentración de ADN utilizando Quantus TM fluorometer	109
Tabla #23: Secuencia de cada gen que se utilizará en el proyecto	149
Tabla #24: Tabla de costos.....	154

TABLA DE DIAGRAMAS

Diagrama #1: Fases y sub-fases de la roya.....	23
Diagrama #2: Estrategia general del megaproyecto	65
Diagrama #3: Proceso de análisis molecular	73
Diagrama #4: Proceso de extracción	74
Diagrama #5: Proceso de extracción 2	75
Diagrama #6: Cuantificación de ADN	76
Diagrama #7: PCR.....	77
Diagrama #8: Estrategia utilizada.....	94

RESUMEN

El hongo de la roya, *Hemileia vastatrix*, es un organismo basidiomiceto que se caracteriza por ser un patógeno en plantas productoras de café (*Coffea arabica* y *Coffea canephora*).

Según Barquero (2013), el primer reporte confiable de la presencia de *Hemileia vastatrix* en cultivos se dio en 1861, en África. En Guatemala las primeras infecciones por el hongo se dieron en la década de 1980. Esta invasión genera pérdida de los frutos y daños a la planta por lo que ha ocasionado pérdidas económicas, tanto a los caficultores como en el desarrollo del país.

El propósito de este proyecto fue investigar en diversos campos disciplinarios, el impacto que genera la roya del café en Guatemala y con base en eso, generar diversas propuestas de trabajo, tanto en el área económica, bioquímica y microbiología y educativa.

En el área económica se realizaron estudios para conocer diversas propuestas con base a un análisis de costo – beneficio tanto en las pruebas de laboratorio como en la distribución de material didáctico.

Por falta de conocimientos y estudios sobre el genoma del hongo, que podría utilizarse para la búsqueda de secuencias destinadas a fungicidas, se realizó un estudio básico de detección en la infección primaria de la hoja a causa de la roya utilizando pruebas moleculares. Con el fin de detectar cinco genes de virulencia.

Para proponer nuevas soluciones desde el ámbito educativo se generaron diferentes materiales didácticos para escuelas ubicadas dentro de las fincas cafetaleras y con esto poder divulgar y socializar el conocimiento de la roya del café, la importancia del café en Guatemala y la relación de este con el cuidado del medio ambiente.

I. INTRODUCCIÓN

Los Megaproyectos son trabajos de campo realizados por las diversas facultades de la Universidad del Valle de Guatemala como modalidad de graduación, con el objetivo de dar diversas soluciones y/o propuestas a problemáticas que son trascendentales para el desarrollo del país. En este caso el enfoque del megaproyecto se basó en los impactos que genera la Roya del café en Guatemala, en donde participó un estudiante de la licenciatura en ciencias de la administración, una estudiante de la licenciatura de bioquímica y microbiología y tres estudiantes de la licenciatura en psicopedagogía. Los aportes realizados por cada uno de los estudiantes fueron enfocados a las áreas de especialización de su carrera para integrar por medio de diversos enfoques iniciando con la investigación, trabajo de campo hasta llegar a proporcionar diferentes propuestas de divulgación, detección y socialización del impacto de la roya del café a nivel nacional.

El café es uno de los productos con mayor demanda económica y consumo en el mundo, después del agua, por lo tanto es preocupante el impacto que pueda causar su daño en cuanto a producción y calidad y esto puede afectar directamente tanto a los grandes como pequeños caficultores.

Uno de las causas de daño a las producción de café se da por la enfermedad de la roya del café que es causada por el hongo *Hemileia vastatrix*, este hongo se dio a conocer por primera vez en 1861, en el Lago Victoria en África, se dispersó en 1868 en Ceilán, (Sri Lanka) en Asia, a principios del siglo XX en Europa, hasta llegar a América en 1970, específicamente en Brasil. Algunos de los factores que influyen en la propagación, son luz solar, viento, temperatura, lluvias, etc. Este hongo ataca la parte del envés de la hoja de la planta y se manifiesta en la superficie de la hoja como polvo color naranja que causa defoliación y muerte.

Actualmente se conocen 32 variedades distintas de Roya de las cuales I, II, III, y XV son las que se prevalecen. La variedad que predomina es la II con un 58.2% de las

plantaciones afectadas a nivel mundial, siendo esta la que está perjudicando a Guatemala. (Anacafé, Dirección de Sanidad Vegetal Guatemala)

La roya del café afecta la cantidad y la calidad exportada, consumida y utilizada, afectando también factores como el valor del Quetzal como moneda y la pérdida de empleo para los caficultores, afectando directamente su vida la mejora de oportunidades en cuanto a crecimiento. El daño económico que ha causado este hongo es exorbitante. Ha impactado tanto en cantidad, como calidad del producto, en países donde se concentra la producción en cantidad se ha implementado como medida de prevención podar las plantaciones, eliminando así, toda la producción, la erosión de los suelos, la re-inversión y una mayor demanda de importación.

En países como Guatemala que se dedican a producir por calidad y no cantidad, el manejo se debe realizar con sombras para los cultivos y control de plagas. Este tipo de producción se ve afectada por varios factores ya que al perder las hojas y botar los granos temprano, el café deja de recibir los nutrientes necesarios. Para lo que se propuso desde un enfoque económico una propuesta de implementación para un estudio de análisis molecular de detección de genes virulentos involucrando análisis de costos y de costo beneficio, incluyendo la divulgación de la información recopilada mediante la implementación de material didáctico en regiones seleccionadas del país.

En el aporte del área de bioquímica y microbiología con el estudio de la patogenicidad y la posible investigación sobre fungicidas en contra del hongo patógeno, para ello se realizaron pruebas moleculares como PCR, para la detección de cinco genes virulentos involucrados en las etapas de infección del hongo *Hemileia vastatrix* en las plantas del café.

La educación es un proceso continuo, formativo e integral, que ha permitido la evolución y perfección de diversos procesos pedagógicos, científicos y humanistas. La Roya causa un impacto económico, social, ecológico, por lo que es importante que se incluya como parte del plan de estudios a nivel escolar, específicamente en las áreas más

cercanas a la caficultura. Tomando en cuenta la importancia histórica que tiene para el país y la concientización para desarrollar planes de prevención para futuras generaciones, se desarrollaron diversos materiales didácticos con el fin de concientizar a la población que se encuentra en la escuela de la finca “Los Andes” que es productora de café. y con esto ampliar su conocimiento de la roya del café e incrementar la socialización de la información de la importancia del café y el cuidado del medio ambiente.

II. OBJETIVOS

A. General del megaproyecto

Promover diversas estrategias orientadas a la detección, tratamiento y prevención de la roya del café y su impacto en la economía guatemalteca.

B. Objetivos específicos

1. Realizar y estandarizar pruebas moleculares para la detección de cinco genes putativos de virulencia del hongo de la roya (*Hemileia vastatrix*) en hojas del cafeto por medio de PCR.
2. Realizar un análisis de costos que permita determinar la viabilidad de implementar un sistema de análisis molecular.
3. Determinar regiones y público objetivo para implementar el material didáctico.
4. Desarrollar productos pedagógicos para socializar información sobre los fenómenos biológicos, asociados a la Roya del Café, específicamente en el área de primaria.
5. Concientizar a la población escolar cafetalera sobre el conocimiento de la roya y la importancia que tiene el cuidado del medio ambiente.
6. Informar e implementar estrategias que le permitan a la comunidad cafetalera el conocimiento y prevención de la roya del café

III. JUSTIFICACIÓN

Guatemala es un país que cuenta con las condiciones propicias en cuanto a suelo, clima y patrones de lluvia para que el cultivo del café sea productivo tanto a nivel de cantidad como calidad de grano, por lo que tiene grandes oportunidades en los mercados mundiales. El café al ser uno de los productos de principal producción del país es un producto del cual dependen aproximadamente 1.9 millones de personas de manera directa. Debido a que es un país en vías de desarrollo, las actividades económicas que se puedan desarrollar y explotar son de suma importancia, en este caso INFOCAFE (2011) especificó que Guatemala representa un porcentaje de exportación de café de 2.87% a nivel mundial, colocando al país en el puesto número 10 de exportación y en el puesto número 5 de los países con mayor producción de café a nivel latinoamericano.

El cambio climático, las variaciones bruscas de temperatura, la acumulación de humedad, la edad de la planta, la época de cosecha, la fertilización deficiente y el inóculo primario son algunos factores que han promovido el desarrollo del hongo *Hemileia vastatrix* causando la enfermedad de la roya del café. Los daños causados por la enfermedad de la Roya, se han ido incrementando en los últimos años provocando grandes pérdidas económicas en las cosechas del 2011, 2012 y 2013, reportando pérdidas del 40% en la producción, causadas por dicha enfermedad.

Guatemala es el principal país centroamericano que se ve afectado por la roya, pues su producción de café no se basa en la producción masiva y por volumen, porque es un café de calidad. Miguel Medina informó que el 70% de las plantaciones de este país se ven perjudicadas por este hongo (ANALAB, 2015). El porcentaje de productores pequeños que no pueden acceder a los tratamientos preventivos de la Roya representa un 45% de la producción del país. Estas situaciones ocasionaron que para el año 2013 Guatemala dejara de percibir 372 millones de dólares, lo que generó pérdidas de empleo, rentabilidad y valor de la moneda. Un estudio realizado por Comisión Pastoral de Movilidad Humana de la Conferencia Episcopal de Guatemala (PMH-CEG) con el apoyo

de UNICEF (2013) destaca que la pérdida directa de empleos causada por la falta de producción de café debido a la roya asciende a 115,000 empleados.

ANACAFE (2014) , indica que la producción de café para este año cafetalero se verá afectado en un 18% debido al daño que genera el hongo de Roya comparada a la producción que se obtuvo el año pasado, siendo este el último año que la producción se disminuye debido a la plaga actual.

La realización de este proyecto se basó en la implementación de estrategias multidisciplinarias, con el fin de obtener, generar y proveer información, respecto a las problemáticas que estén relacionadas con la roya del café para crear conciencia y sensibilización sobre esta temática en los sectores de la sociedad que han sido perjudicados por este hongo, para que exista más atención y mejor del control de la plaga.

Actualmente, no se han reportado metodologías para la detección de genes específicos de la roya del café en Guatemala. Pero, el desarrollo de las mismas contribuye al estudio de investigaciones que buscan describir cómo realizar tratamientos y sistemas de prevención, por lo que en este proyecto se busca realizar investigación científica que ayude al estudio, control y prevención de la infección de la Roya del café. Estas investigaciones se basarán en la realización de pruebas moleculares para la identificación de genes virulentos asociados con la infección del hongo *Hemileia vastatrix* en hojas del cafeto para su control y erradicación sin efectos secundarios posibles.

La información que existe en cuanto a los países afectados y al daño que causa la infección a la economía de los países aún es deficiente y necesita actualización en cuanto al tratamiento y prevención del país. El lenguaje utilizado es muy técnico, lo cual lo hace poco efectivo, ya que no va dirigido a los sectores más necesitados es por ello que el tema necesita mediación pedagógica, para poder impactar a los participantes en cada una de las fases de la producción de café. Para una mejor comprensión, un ejemplo es que uno de los pasos es el cultivo de café y su manejo en el campo; este paso es particularmente

crítico, y es justamente donde la roya del café tiene su efecto primario. Así pues, es de suma importancia que el caficultor conozca más sobre este patógeno. Según CONALFA (2013) el porcentaje de población guatemalteca con índices de analfabetismo se encuentra alrededor del 52%, lo que quiere decir que más de la mitad del país no sabe leer, ni escribir. Este porcentaje se encuentra englobado en el interior del país, en departamentos en donde se realiza la mayor producción cafetalera.

Es aquí en donde se identifica la necesidad de producir material educativo para docentes, que sea comprensible, manipulable y efectivo para comunicar a los estudiantes de los diferentes niveles educativos (pre-primario, primario y ciclo diversificado del nivel medio), los estudios científicos e información relevante sobre la roya del café, en qué consiste y cómo afecta tanto en el área económica como ecológica del país. Esto les permitirá a los alumnos profundizar en el tema considerando que en un futuro pueden llegar a desarrollar estrategias para detectar en forma temprana la roya y evitar que se propague y cause grandes devastaciones, siendo de beneficio para la sociedad y por ende para la economía del país.

IV. MARCO TEÓRICO

A. La roya del café y su patogenicidad

La roya del café es causada por el hongo *Hemileia vastatrix*, el cual es un parásito obligado en las especies de plantas productoras de café (especialmente *Coffea arabica* y *Coffea canephora*, importantes en la producción cafetalera). (Arneson, 2000; Bladyka, 2013). Este patógeno basidiomiceto se encuentra en las regiones en donde hay producción de plantas de café (América Central y Sur, África Central y Sur, y Asia), y representa una de las enfermedades más importantes que afectan económicamente a la agricultura de la región (Arneson, 2000; Bladyka, 2013). Es importante mencionar que el café es uno de los productos más consumidos en todo el mundo, por lo que la epidemia que es causada por este microorganismo ha generado muchas pérdidas para los agricultores del café globalmente.

En Guatemala, el café es uno de los productos más importantes a nivel comercial, lo que lo hace una fuente de ingreso muy relevante al país, ya que genera empleos y divisas (MEGA, 2013). Según Promecafé (Programa Cooperativo Regional para el Desarrollo Tecnológico y Modernización de la Caficultura), este sector emplea casi de 1.8 millones de personas al año en Centroamérica, únicamente en Guatemala depende únicamente del cultivo del café, 90,000 productores y más de 500,000 trabajadores (Fews Net, 2014; MEGA, 2013). Las pérdidas económicas han sido enormes debido a la baja producción del grano. Se estima que en el 2013 en Guatemala, ocurrió una disminución del 14% en producción, equivalente a 17.3 millones de sacos producidos (el año anterior fue de 20.3 millones). (ABG, 2013).

El nombre común de la roya del cafeto es *Hemileia vastatrix* Berkeley & Broome. Su clasificación taxonómica es la siguiente:

Tabla #1: Clasificación taxonómica de la roya

Dominio	Eukaryota
Reino	Fungi
Phylum	Basidiomycota
Subphylum	Pucciniomycotina
Clase	Pucciniomycetes
Orden	Puccionales
Género	<i>Hemileia</i>
Especie	<i>Hemileia vastatrix</i>

(Berk y Broome, 1869; Bayer, 2014)

1. Patogénesis de la infección por *Hemileia Vastatrix*. El proceso de infección se compone de tres etapas: germinación, penetración y colonización (Kushalappa y Eskes, 1989). En el proceso de germinación y penetración, el hongo *H. vastatrix* infecta las hojas del cafeto, la primera aparición visual de los síntomas la presencia de puntos de color amarillo pálido en la parte inferior de la hoja (Arneson, 2000). En la Figura 1 se observa las diferentes etapas que sufre la hoja del café ante la presencia y desarrollo del hongo de la roya.

Imagen #1: Desarrollo de la infección del hongo *H. vastatrix*

En esta figura se observa manchas amarillas en la superficie de la hoja (A) que después aumenta su diámetro y cambio de color (B). Este color anaranjado es causado por la presencia de las esporas del hongo llamadas urediosporas. En la última imagen (C) se observa la esporulación del hongo a través de la estoma.



(Arneson, 2000)

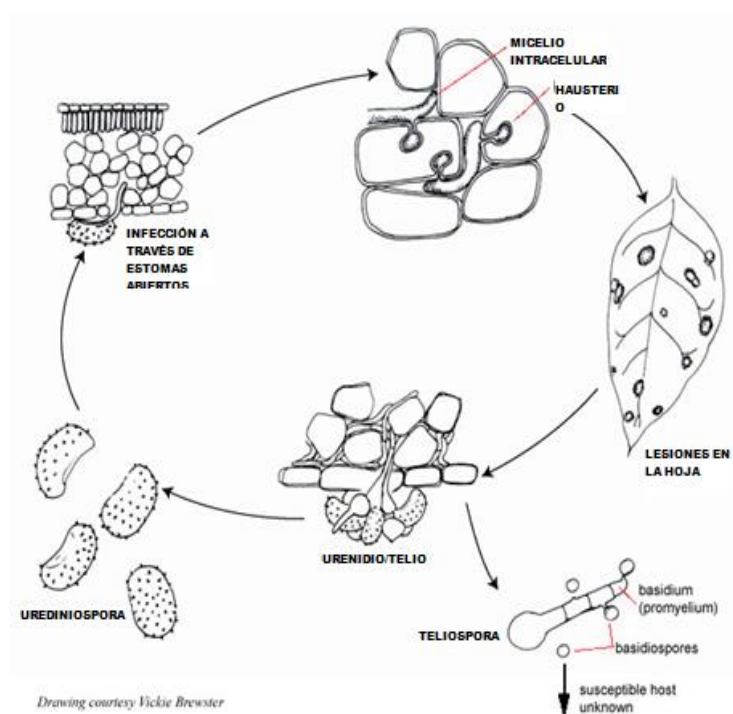
Las esporas producidas asexualmente viajan a través del viento, agua o lluvia, insectos o trabajadores hasta llegar a su siguiente hospedero, sin importar la distancia de la planta infectada hacia la sana (Arneson, 2000). Una vez la espora se posa sobre la hoja, y cuando haya condiciones óptimas para su desarrollo, llega a germinar y entra a la hoja a través del estoma (Bladyka, 2013). En la Figura 2 se observa el ciclo de vida del hongo.

Durante la colonización de la hoja, las hifas llegan a ramificarse a nivel extracelular del vegetal, siempre dentro de la cavidad subestomal (Kushalappa y Eskes, 1989). Para su alimentación, desarrolla unas estructuras llamadas haustorios que penetran dentro de las células vegetales, por medio de una estructura en forma de botón que penetra la membrana plasmática y crece (Kushalappa y Eskes, 1989). Específicamente en el sitio de penetración por los haustorios, existe una degradación en la pared celular del vegetal pero el resto de la célula del huésped presenta poco daño (Silva et al, 2006). Además, existe una separación denominada “vaina” que existe entre el hongo y la célula vegetal por lo que impide la ruptura de esta última (Kushalappa y Eskes, 1989). *H.vastatrix* contiene en su pared celular los compuestos β -1,3-glucanos y quitina, este último constituye el mayor componente en la pared de los urediosporas y en las estructuras que se forman durante pre- y post-penetración en la célula vegetal (se ha observado que el glucano se localiza en las paredes celulares de la hifa intercelular, mientras que la quitina se acumula en las partes internas de la misma) (Silva et al, 2006).

Al formarse micelio, se producen protosori (estructuras compuestas de capas de células y que producen células esporógenas) que emergen a través de los estomas de las hojas y se llega a producir la esporulación (Kushalappa y Eskes, 1989). El proceso de colonización puede dividirse en el periodo de incubación (tiempo que pasa desde la inoculación hasta la formación de lesiones); y el tiempo de latencia (tiempo desde la inoculación hasta la formación de lesiones de esporulación) (Kushalappa y Eskes, 1989). Existen varios científicos que creen que existe un huésped alternativo que utiliza el hongo durante su ciclo, pero aún no ha sido identificado. (Bladyka, 2013).

Imagen # 2: Ciclo de vida del hongo *H. Vastatrix*

Se puede observar que la espora necesita a la planta del café (especialmente hojas) para poder completar su ciclo de vida. Este ciclo es similar al de las especies del orden uredinial. Al penetrar a la planta susceptible, sucede el proceso en el cual el micelio llega a invadir dentro de la hoja ingresando por el estoma, se instala y crece entre las células.



(Arneson, 2000; Kushalappa y Eskes, 1989)

2. Factores que afectan la epidemiología de la enfermedad. Diversos factores, tanto externos (ambientales como temperatura, presión, etc.) como internos (resistencia de la planta hacia la infección o capacidad del hongo para infectar), pueden afectar la epidemiología de la roya del café. Un ejemplo que menciona Kushalappa y Eskes (1989) es que durante la colonización, el grado de infección y penetración del hongo hacia la hoja hospedera es influenciado por la temperatura, siendo 15°C el mínimo para su desarrollo. Otros factores como la densidad del hospedero, la susceptibilidad y predisposición del mismo (Kushalappa y Eskes, 1989) también influyen en el proceso de infección. Para la supervivencia del hongo, se requiere tejidos vivos del hospedero,

principalmente hojas jóvenes (Arneson, 2000). Una variable muy importante para el desarrollo del hongo es la presencia de la lluvia, ya que permite que haya un ambiente húmedo y ayuda a la dispersión de las esporas (Kushalappa y Eskes, 1989). También se ha estudiado que en altitudes bajas y durante época seca en el momento de la cosecha, existe mayor presencia de roya (Avelino et al, 2002). Sumando estas observaciones, Vandermeer et al (2014) concluye que hay interacciones biológicas muy complejas que causan la propagación de los hongos y que si se llegan a conocer, este podría ser controlado.

Otros aspectos importantes son la relación entre la variabilidad genética del hongo que lo hace resistente a fungicidas y al mismo tiempo, la resistencia del hospedero hacia el patógeno. Esta relación es dependiente y puede cambiar entre las variedades de ambas especies de café.

3. Variabilidad de *Hemileia Vastatrix*. En la investigación realizada por Nandris *et al.* (1998) con estudios genéticos y moleculares en la especie *H. vastatrix* usando el método RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), se encontró que este hongo muestra polimorfismos entre individuos de la misma especie pero que no pudieron ser comprobados con marcadores moleculares. En años posteriores, Gouveia *et al.* (2005), usando el método RAPD y MSP-PCR (Microsatellite-Primed Polymerase Chain Reaction) mostraron que hay cierto grado de variabilidad entre las poblaciones que fueron estudiadas de la misma especie, *H. vastatrix*, en varias regiones pero que no se ha comprobado si es por alguna relación entre el hospedero, la región geográfica o la fisiología.

4. Resistencia de las plantas de café hacia enfermedades. Todas las plantas tienen la capacidad de reconocer el ataque de algún patógeno, por lo que han surgido diferentes mecanismos de defensa. Sin embargo, dicho surgimiento induce al patógeno a que desarrolle mecanismos de resistencia hacia la respuesta previa de la planta. Las defensas son generadas por respuestas físicas o químicas después de un reconocimiento molecular entre los involucrados. Estos mecanismos llegan a ser muy

complejos. En el caso de la patogenicidad de la roya hacia su hospedero, se han encontrado por medio de estudios que existe resistencia del café al hongo y que la posible causa sea la relación gen a gen (Avelino y Rivas, 2013). Los autores explican que esta hipótesis se refiere a la interacción de genes del hospedero que causan la resistencia y los genes del patógeno que regulan la patogenicidad; esta interacción permite que ambos genes sean reconocidos por su contraparte y lleguen a producir una reacción incompatible para que la planta llegue a resistir al patógeno (Avelino y Rivas, 2013).

Los genes de resistencia conocidos por el momento que se presenta en el cafeto son SH1 hasta SH9, mientras que los genes de virulencia del parásito son de v1 a v9. En *Coffea arabica* se encuentran los genes SH1, SH2, SH4 y SH5. Este último gen es vencido por el gen virulento v5 de *Hemileia vastatrix*. En otras variedades del cafeto en otros países, el gen SH5 presenta un cambio en la secuencia genética en comparación con el anterior, haciendo un mejoramiento en la planta ya que contiene aportaciones de genes suplementarios que le da resistencia. En el caso de *C. canephora*, presenta los últimos cuatro genes de resistencia SH6 al 9. La combinación de ambas razas de cafeto encontradas en las islas Timor (híbrido Timor 832/1) muestra que es una raza con una mejoría en la resistencia (Avelino y Rivas, 2013).

Avelino y Rivas (2013) mencionan que existen nuevas variedades de *Coffea arabica* (como ejemplo, cantimore) que aparecieron en América Latina después de la aparición de la roya, aunque perdieron su resistencia específica (provenientes de la variante Timor), pueden mostrar niveles altos de resistencia no específica que cualquier raza de roya no puede sobrepasar fácilmente.

Durante la infección al hospedero, se involucran diferentes estructuras especializadas que se activan en las primeras etapas de la infección como el tubo germinal, apresorios, vesículas de estomas, hifas infecciosas, haustoria, y células formadoras de esporas. (Talhinhas et al., 2014). Por medio de estudios genómicos, se ha logrado determinar características de los patógenos, su evolución, mecanismos que generan variabilidad y los genes que se involucran en la patogénesis (como proteínas virulentas secretadas). (Cristancho et al., 2014). Talhinhas et al. (2014) secuenciaron

transcriptos de genes que producen proteínas secretadas de los hausterios y apresorios. Los autores, en sus transcriptos, encontraron similitud entre sus secuencias de ADN con otras especies de roya y se predijo qué tipo de proteínas secretan. Son los transcriptos de proteínas secretadas en las primeras etapas de infección, de Talhinhos et al. (2014), las que se utilizarán en este estudio.

5. Manejo y control de la roya. La Asociación Nacional de Caficultores de Guatemala, Anacafé (2013), listó fungicidas claves utilizados para el control de la roya, que fueron validados por el Centro de Investigaciones en Café de Anacafé (Cedicafé), éstos se muestran en la Tabla #2.

Tabla #2: Descripción de fungicidas

Nombre comercial	Ingrediente activo	Dosis por manzana
FUNGICIDAS DE CONTACTO		
Caldo Bordelés	sulfato de cobre + hidróxido de calcio	4 - 5 libras
Hidróxido de cobre	cobre	4 libras
Oxido de cobre	cobre	4 libras
Oxicloruro de cobre	cobre	5 libras
Timorex Gold	<i>Melaleuca alternifolia</i>	1000 cc
Vigilante	azufre + cobre	1000 cc
FUNGICIDAS SISTÉMICOS CON UN INGREDIENTE ACTIVO		
Opus 12.5 SC	epoxiconazole	350 cc
Alto 10 SL	cyproconazole	280 cc
Caporal 25 DC	triadimenol	350 - 500 cc
Atlas 25 EW	tebuconazole	400 - 560 cc
FUNGICIDAS SISTÉMICOS EN MEZCLAS DE DOS INGREDIENTES ACTIVOS		
Silvacur Combi 30 EC	tebuconazole + triadimenol	350 - 500 cc
Duett 25 SC	epoxiconazole + carbendazim	350 cc
Amistar Xtra 28 SC	azoxystrobin + cyproconazole	350 - 400 cc
Opera	epoxiconazole + pyraclostrobin	700 cc

(Anacafé, 2013)

Vandermeer et al (2014) menciona que en América Latina es común dispersar antifúngicos y remover las plantas de las sombras pero estas medidas crean problemas ya que los fungicidas matan cualquier tipo de hongo directamente, incluyendo los que pueden destruir la roya (Vandermeer et al, 2014). Entre “los hongos buenos” está el Halo Blanco (*Lecanicillium lecanii*), que ayuda a controlar la enfermedad (Vandermeer et al, 2014). Y al remover las plantas de sombra (que crecen bajo o a los lados cercanos del

café) para evitar que la sombra favorezca el crecimiento del hongo, se favorece más la dispersión de las esporas de la roya a causa del viento, según Vandermeer et al (2014).

6. Detección de roya del café por biología molecular. Actualmente, se está estudiando las secuencias de genes que forman parte del genoma del hongo de la roya del café, y se están comparando con otros Pucciniales. Cristancho et al. (2014) ensamblaron parcialmente el genoma y obtuvieron secuencias transcriptoras, con el objetivo de identificar marcadores potenciales en el estudio de razas del hongo, estudio de mecanismos durante la colonización de tejidos y procesos patogénicos en relación planta-hongo.

Los estudios del genoma aún se están realizando, por lo que aún existe un vacío de información que favorecería el desarrollo de nuevos fungicidas para la erradicación o métodos para la eliminación de los efectos de la enfermedad. Una de las mejores soluciones que se ha considerado para la erradicación del hongo en las plantas es que se realice una detección temprana para evitar que nuevas plantas se infesten de esporas microscópicas y colonicen la hoja. Uno de los métodos sugeridos por Hunter Lab (2015), es por medio del análisis espectrofotométrico, ya que puede detectar la menor variación en color y cantidad de ciertas propiedades físicas. Este método fue probado anteriormente con cultivos de tabaco. (Hunter Lab, 2015). De otros métodos de detección solamente se conocen los que son visuales, es decir, los que se pueden observar los cambios de la hoja y el grado de infección para el diagnóstico de la enfermedad.

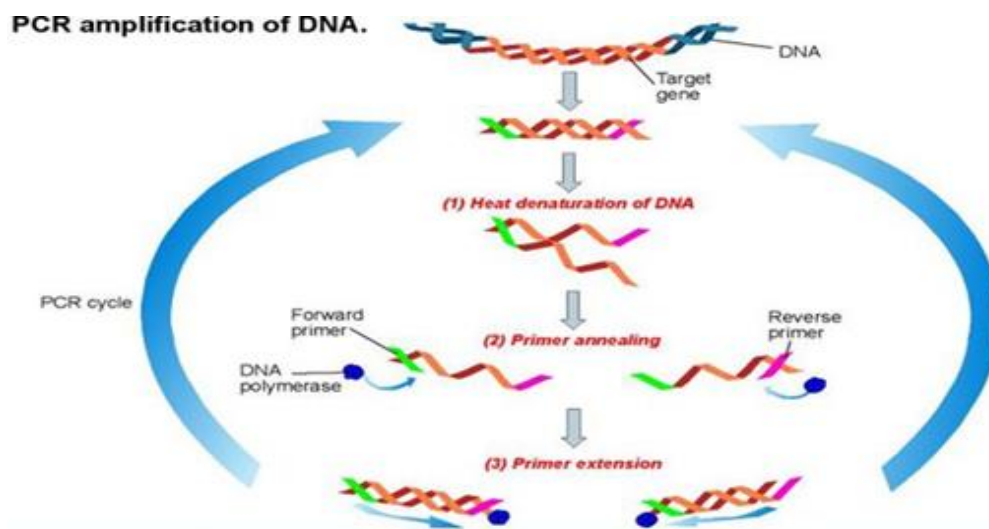
Hasta el momento, es muy poco lo que se conoce de genes putativos de virulencia en *Hemileia vastatrix*. A través del proyecto, se busca utilizar el método de PCR (Reacción en cadena del polimerasa) para la detección de 5 genes putativos de virulencia en hojas infectadas.

7. Técnica de reacción en cadena de polimerasa (PCR). La reacción en cadena de polimerasa, o PCR (en sus siglas en inglés), es una técnica de biología molecular creada en 1985 por Kary Mullis. Consiste básicamente en obtener un gran número de copias de un fragmento de ADN de interés, a partir de poca cantidad presente en la muestra o solución de reacción. El PCR permite amplificar un fragmento de ADN,

para realizar posteriormente, una fácil identificación de presencia de algún microorganismo que pueda causar enfermedades a un organismo. Básicamente consiste en utilizar ADN polimerasa, cebadores (primers) y nucleótidos para replicar las hebras de ADN (Figura 3), por lo que se utilizan ciclos altos y bajos de temperatura. Se hacen mínimo 25 ciclos, y en cada ciclo se realizan tres pasos: desnaturalización de la hebra de ADN a 95°C, hibridación de la hebra de ADN con los cebadores a 55°C y elongación de la hebra nueva de ADN a 72°C. (University of Utah Health Sciences, 2015).

Imagen #3: Amplificación de PCR

Amplificación de PCR de una secuencia de ADN de interés, en donde se inicia con la hebra plantilla (después de la desnaturalización) que luego se hibridizan con los primers forward y reverse, y luego se extiende utilizando los nucleótidos hasta formar nuevas hebras complementarias de ADN.



(Inmunopedia.org, 2014)

B. Impacto económico de la roya del café

1. **Historia del café en Guatemala.** El café llega a Guatemala a mediados de 1700 por jesuitas que las utilizaban en los jardines de sus monasterios como plantas ornamentales en la ciudad de Antigua Guatemala. En el año 1800 llega la plaga de langosta acabando con la producción de añil, segundo producto de exportación en el país

lo que causa que el gobierno comience a buscar alternativas para sustentar la economía. En 1835 se genera un incremento masivo en la producción de café ya que el gobierno ofrece recompensa a los primeros productores en cultivar 20,000 libras y en 1850 con la invención de los tintes, la exportación de cochinilla queda erradicada de la economía, por lo que se continúa ofreciendo incentivos para aumentar la producción de café. Fue en 1859 cuando se genera la primera exportación de café a Europa, seguido por la cosecha de 1860 año en el cual se triplica la producción de café y la economía de Guatemala se impulsa. En el año 1867, el café de Guatemala participa en un evento internacional en París, seguido por 1868 donde el gobierno entrega almacigos a distintos productores y genera importantes cambios en la infraestructura del país con la finalidad de impulsar la cantidad de café que es entregado a tiempo ante la demanda de distintos consumidores.

En el año 1880 a pesar de ser el año en el que se detecta por primera vez la roya, el café encuentra su auge en la economía guatemalteca, este producto representa un 80% del valor total de las exportaciones, y en 1888 es el café de Guatemala quien se lleva el primer lugar en la feria mundial de París. En 1910 Eduardo Cabarrús y Federico Lehnhoff inventan y patentan la fórmula del café soluble, seguido por el primer premio en la feria de San Francisco. En esta historia no todo son victorias, con la gran depresión se reducen las exportaciones y se presenta la primera reducción de productores en la historia. Esta fase de conflicto permanece debido a la segunda guerra mundial. Anacafé se funda en 1960 como oficina central de café, y en 1963 se une a la OIC (Organización Internacional de Café) o conocida por sus siglas en inglés, ICO (International Coffee Organization). En 2002, se presenta una crisis en la que las exportaciones caen un 25% y el café deja de ser la principal fuente de ingresos del país. (Dávila, 2013)

Actualmente el café es el segundo producto más comercializado en todo el mundo, el único que lo supera es el petróleo. Es la bebida más consumida en todo el mundo. Su primer consumo se basa en una leyenda, la cual relata que un pastor de cabras observó un comportamiento distinto en sus animales, incluso por la noche, después de probar los frutos rojos del cafeto. Es en ese momento cuando decide probarlos. Luego de experimentar los efectos de este producto, el pastor lo lleva a un monasterio donde lo preparan los monjes. Estos lo descartan pues no les agrada el sabor amargo que generan y

lanzan los restos al fuego liberando una fragancia dulce y cambiando su parecer y generando en ellos la inquietud de elaborar una bebida con el grano. (Anacafé, 2015)

Algunos de los beneficios que otorga el consumo de esta bebida a la salud según el Dr. Iván Aguancha, son los siguientes:

- Reduce riesgo de diabetes en 30%
- Ayuda a personas asmáticas con su función pulmonar
- Reduce el riesgo de Parkinson
- Actividad antioxidante mayor al té
- Disminuye riesgo de cáncer en colon y vejiga
- Disminuye riesgo de cálculos renales
- Prevención de fibrosis hepática (cirrosis)
- Disminuye riesgo de padecer depresión

Existen varios tipos de plantaciones en el mundo con distintas especies de Coffea. Sin embargo, son dos las que predominan en el mundo de la producción del café debido a los atributos que se presentan más atractivas en ámbitos económicos, estas son la Coffea Canephora (Robusta) y la Coffea Arábica. La diferencia que se presenta entre estas dos especies de Coffea recae sobre las características y propiedades que presenta el grano, estas diferencias se encuentran en la Tabla # 3.

Tabla #3: Características de variedades de Coffea

Coffea Arábica	Coffea Canephora (Robusta)
<ul style="list-style-type: none"> • Cafeína por grano: 0.8-1.4% • Bebida aromática • Acidez • Fácil de digerir • 60% de producción mundial 	<ul style="list-style-type: none"> • Cafeína por grano: 1.7-4.0% • Poco digestivo • Amargo • Mucho cuerpo

<ul style="list-style-type: none"> • 9 meses desde floración a madurez • Raíz profunda • KG/hectárea 1500-3000 • Roya: Susceptible • Koleroga: Susceptible • Nemátodos: Susceptible • Traqueomicosis: Resistente • Enfermedad del fruto: Susceptible 	<ul style="list-style-type: none"> • Poco perfumado • 10-11 meses desde floración a madurez • Raíz poco profunda • KG/hectárea 2300-4000 • Roya: Resistente • Koleroga: Tolerante • Nemátodos: Resistente • Traqueomicosis: Susceptible • Enfermedad del fruto: Resistente
--	---

(ICO, 2015)

2. Enfermedades del café. Algunas de las enfermedades que atacan este cultivo han generado grandes pérdidas en varios sectores tanto económicos como políticos, culturales y sociales. Las enfermedades que afectan a este cultivo son varias, y el daño que generan varía dependiendo de los síntomas que estos presenten. Pueden reducir productividad, afectar al fruto, o matar la planta. En Guatemala la enfermedad que tiene mayor presencia y que ha sido tema de controversia es la roya, esta enfermedad ha sido catastrófica y ha prevalecido en el mundo moderno, destacando como una de siete enfermedades de plantas que ha dejado mayores pérdidas en los últimos 100 años.

El control adecuado y manejo de esta enfermedad se puede dar con distintas alternativas, siendo el control químico el más eficiente. Para que el control químico sea eficiente se debe implementar de manera sistemática, aplicaciones periódicas, combinación adecuada de fungicidas y utilizar tecnología adecuada. Estos componentes químicos actualmente contienen ingredientes activos que son eficientes como el cobre. Sin embargo, hay varias instituciones que continúan realizando pruebas e innovando generando distintos ingredientes que sean efectivos en contra de la roya. Actualmente hay

distintos componentes activos que tienen un efecto deseado sobre la enfermedad, en Brasil hay 16. Es importante resaltar que con un potencial productivo más alto se requiere de un mayor control. Este control debe iniciarse cuando hay pocas incidencias e inicia la época de lluvias, momento en el que comienza la epidemia. Este control debe ser periódico y constante terminando cuando el fruto se encuentra en la etapa de maduración, aplicando químicos protectores y curativos.

El manejo adecuado de sombra, combinado con una acidez adecuada en el suelo de las plantaciones, manejo de malezas y manteniendo un balance adecuado de potasio, calcio y magnesio permiten que el manejo de la enfermedad se facilite. La sombra afecta a distintos factores que facilitan la propagación de la infección. Los efectos potenciales de un buen manejo de sombra involucran:

- Evita que cuando la lluvia es leve llegue a las hojas que están infectadas
- Intercepta las corrientes de viento previniendo dispersión en clima seco
- Aumenta el área foliar de las plantas causando menos hojas, pero más grandes y largas
- Intercepta radiación y facilita germinación
- Es regulador de temperaturas
- Conserva la humedad del suelo

La poda ha resultado ser un método eficiente para el control de esta enfermedad, esto es debido a que se produce un estímulo en las plantaciones que genera crecimiento de tejido nuevo y sin infectar. Eliminar las hojas que están contagiadas de manera periódica reduce la cantidad de tejido dañado, esta práctica se debe realizar según la edad de la plantación y planes de producción.

El método de poda influencia en el éxito o fracaso del mismo, la técnica de esqueletamiento consiste en remover todas las hojas dejando únicamente un “esqueleto” y perder un año de producción para brindar un estímulo a la producción del año siguiente. Esta técnica resulta ineficiente pues aumenta la densidad de las plantaciones generando

mayor interacción entre hojas contaminadas y sanas propagando la infección. (Avelino, 2008)

3. Historia de la roya. La roya fue descubierta en la década de 1860, específicamente en dos ubicaciones, siendo la primera en Kenia, en la región del Lago Victoria en el año 1861 y seguida por Sri-Lanka en el año 1868. El británico Berkeley le asignó el nombre *Hemileia Vastatrix*. Ambas situaciones se resolvieron de distintas maneras. En Kenia se introdujo una variación de la especie (Robusta) que era resistente a la infección. Celián (Sri-Lanka), antes de la infección era el tercer productor de café a nivel mundial, sin embargo, la epidemia fue tan severa y el conocimiento para combatirla era nulo, por lo que los ingleses decidieron deshacerse de sus plantaciones terminando con toda producción de café y comenzaron la siembra de té. (Rayner, 1962)

La aparición de esta enfermedad coincidió con otras tres enfermedades catastróficas de distintos cultivos causando una migración masiva de europeos hacia el continente americano. Esto generó que la población mundial se preocupara por lo que estaba sucediendo y comenzó con la investigación y desarrollo de fungicidas descubriendo la eficiencia del Cobre y del Zinc.

La expansión de la roya fue rápida, comenzando por India en 1869, Sumatra 1876, Sur África 1878. La expansión continuó por el resto de países en Asia y África. Luego tuvo un período en el cual se detuvo debido a la falta de medios de transporte y de interacciones económicas entre distintos continentes. En 1889 la roya llega a Filipinas, en ese momento era el cuarto productor a nivel mundial, para 1893 la exportación era casi nula. La expansión del hongo en África, se presenta debido dos factores significantes. El primer factor es debido a las pocas prácticas de caficultura que se realizaban en África Central y Occidental antes de la segunda guerra mundial debido a las fuertes crisis económicas. La segunda se debe a la alta resistencia por parte de las variedades locales a la infección. En el año 1903 se detecta en Puerto Rico. Ya que esta es una isla pequeña, la erradicación fue rápida y eficiente. Sin embargo, llega a Brasil en 1974/1975 donde la producción de café se generaba por extensión y volumen. La cantidad de matas de *Coffea*

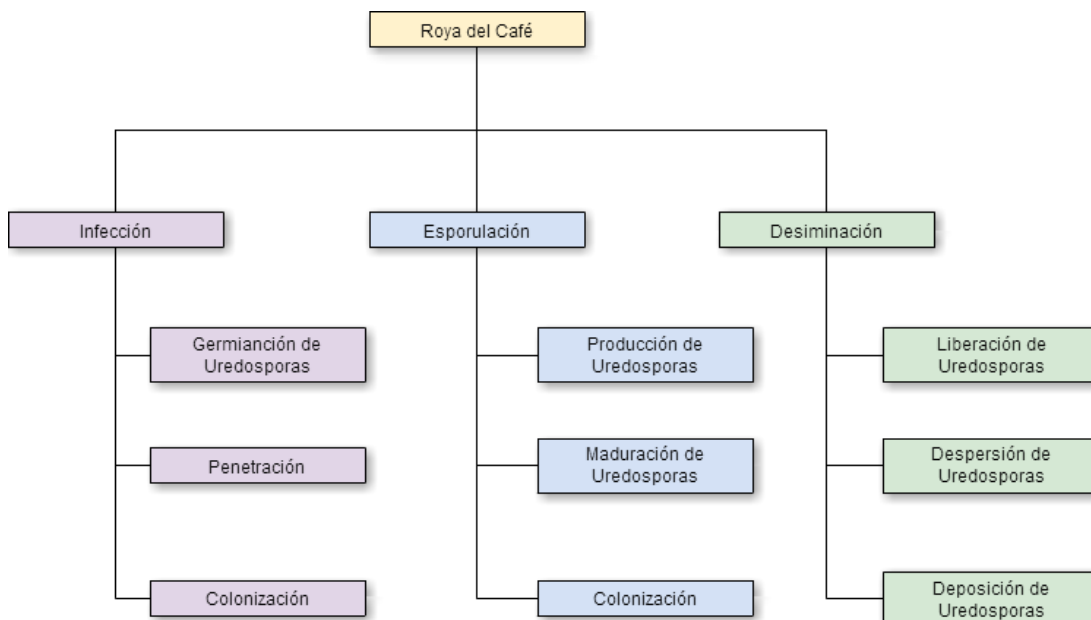
que podían ser contagiadas era elevada por lo que los esfuerzos por controlar la infección se vieron neutralizados y la solución que eligieron fue podar las matas y acudir a variedades resistentes.

En 1952 el fitopatólogo Frederick Wellman generó una advertencia indicando el fin de la producción del café en Latinoamérica generada por la llegada de la roya del cafeto. Esta advertencia no se ha manifestado en la magnitud que él suponía, han transcurrido 63 años desde su detección en Brasil. Dentro de los factores influyentes que evitan que se intensifiquen los efectos de la roya se encuentra el clima y los fungicidas existentes.

Brasil era el productor de café más grande del mundo cuando esta infección fue detectada. El impacto económico que esto generó alteró a los productores mundiales los cuales comenzaron a realizar distintos esfuerzos de investigación en los que modificaron los genes de las plantas que se sembraban con la finalidad de estar preparados para la llegada del hongo, y que este tuviera dificultades para esparcirse. El conflicto al cual se enfrentaban los caficultores de América Latina en este período de tiempo consistía en disminuir los costos de producción y aumentar el volumen, enfrentando la plaga que amenazaba la producción actual, la “Broca” del café.

4. Fases y sub fases de la roya

Diagrama #1: Fases y sub-fases de la roya



(Maga, 2013)

5. Ciencias económicas. Dentro de la ciencia económica existen distintas herramientas y métodos que se implementan con la finalidad de facilitar la toma de decisiones mediante la evaluación de los datos. Estas herramientas han sido creadas y perfeccionadas para adaptarse a los cambios que las personas generan y que involucran en sus actividades diarias analizando entornos microeconómicos y macroeconómicos.

a. Costos. Costo es el valor monetario asignado a la suma de recursos necesarios para realizar un servicio o producir un bien material. Este valor se puede designar a distintas categorías en las cuales se analiza el valor de producir un bien comparado con el retorno que este presenta.

Esta medida se utiliza con distintas finalidades, sin olvidar que se implementa para comprender y analizar los resultados que se obtienen. Se utiliza para evaluar desempeño, presupuestar, definir y establecer precio y calidad, valorizar, etc.

Algunos ejemplos de costos son:

- Costos variables, aquellos que varían de manera proporcional al volumen que se esté produciendo
- Costos estimados, son aquellos calculados con anticipación intentando predecir el valor de producción.
- Costos directos, aquellos que están relacionados de manera directa con la producción de materia o con los servicios que se presten.

b. Costo Beneficio. El análisis de Costo Beneficio es utilizado cuando se necesita realizar una decisión y no se está seguro de lo que puede aportar o representar la implementación de la misma. Este análisis puede ser implementado comparando unidades estándar (generalmente moneda) para facilitar la comprensión de las dimensiones que se ven alteradas de ambos lados. Otra aplicación es en casos en los que los beneficios no se pueden medir de manera monetaria, por ejemplo educación, investigación, satisfacción, etc. en la que su finalidad es de comparar de manera indirecta las variables involucradas. Este análisis es un híbrido que utiliza distintas disciplinas como ciencias sociales y finanzas que no tiene una guía para ser estructurado e implementado, cada análisis es diferente y se adecúa a las condiciones bajo las cuales se está evaluando. Este análisis no asegura que el proyecto o la idea que se analiza sea implementado o aceptado, facilita que esa decisión suceda. Sin embargo, el costo de implementación debe ser inferior al costo del problema que genera la iniciativa de ser resuelto.

La implementación de este análisis resulta eficiente cuando se analiza un proyecto en el que no se puede presentar un ROI (Retorno de la Inversión) debido a que los resultados finales no presentan un activo tangible como lo sería una unidad monetaria para comparar de manera directa la inversión con los resultados. (Martinez, 2014)

c. Administración. Un término general que muchos utilizan, consiste en utilizar de manera eficiente y eficaz los recursos disponibles con la finalidad de alcanzar metas y objetivos. Es todo proceso en el cual se organiza, dirige y distribuye los materiales disponibles siendo estos materiales, humanos o intangibles para obtener un mejor desempeño y resultado a partir de la implementación de los mismos. La

administración de empresas es una ciencia social en la que se estudia la organización que estructura a las compañías que están siendo evaluadas.

Existen dos partes esenciales de las cuales depende la administración: disciplina y técnica.

La disciplina hace referencia a las ideas necesarias para guiar a un equipo.

La técnica involucra las actividades que se deben realizar para alcanzar los objetivos.

d. Procesos. El proceso administrativo fue creado por Henri Fayol. Es la unión de cuatro actividades que se realizan en sucesión para realizar tareas designadas. Estas cuatro tareas son:

- Planeación
- Organización
- Dirección
- Control

En la etapa de planeación es donde se decide cómo, cuándo, dónde y con quién se realizarán las tareas o procesos para alcanzar los objetivos contemplados.

En la etapa de organización se designa quienes trabajarán con qué recursos para lograr qué metas.

En la etapa de dirección se orienta al equipo mediante la motivación, comunicación y capacitación para alcanzar sus objetivos.

En la etapa de control se monitorean los resultados, se analiza si se están alcanzando los objetivos, y se plantean soluciones con la finalidad de alcanzarlos.

Este ciclo se repite y es parte de una mejora continua. (Fernández, 1991)

e. Canales de distribución. Los canales de distribución son la metodología que eligen las empresas para llevar los productos al consumidor de manera eficiente y económica. La distribución es lo que determina cómo, cuándo y en qué cantidad llega el producto a los consumidores. Los canales de distribución abarcan la vida de un producto desde que se produce hasta que se entrega al consumidor final, tomando en cuenta todas las personas y entidades que forman parte de la cadena por la que el producto transita.

Los canales se pueden categorizar de distintas maneras según su longitud, tecnología implementada y organización. Un ejemplo de clasificación por longitud sería un canal directo, este es cuando las únicas entidades que están involucradas en el proceso son el productor y el consumidor final. Un ejemplo de clasificación por tecnología es un canal tradicional el cual se identifica de esa manera al no incorporar tecnologías en los intercambios que realizan.

Se denominan canales de distribución a las líneas a través de las que se efectúa la función de la distribución, y se conoce con el nombre de intermediarios a los elementos básicos del canal. Los canales de distribución son como las arterias por las que circulan los productos, desde el fabricante hasta el consumidor final. Esas vías se componen de empresas o entes independientes de los fabricantes que comercializan, venden o ayudan a vender los productos fabricados o suministrados por otros, sirviendo a la empresa productora para tener el acceso debido a los mercados. (Rivera y de Garcillán, 2007)

6. Datos. En Guatemala la producción del café se ha visto afectada por causa de la roya de manera significativa a lo largo de los años. Se comenzó a implementar medidas preventivas para manejar la infección de manera más eficiente desde que esta fue detectada en Brasil. Estas estrategias consistían en comenzar la siembra y cosecha del cultivo en regiones en las que el clima no facilita el contagio, investigación y desarrollo de fungicidas, siembra de variedades diferentes. Estas

estrategias tenían dificultades ya que no se tenía la enfermedad en el país para la prueba de fungicidas, la cosecha sufría por causa de la plaga llamada “Broca” del café (*Hypothenemus Hampei*). La inversión para comenzar a cultivar en condiciones no favorables para la plaga y de variedades resistentes es significativa, sin mencionar que estas últimas sólo reducen la velocidad de contagio, no lo detienen. Desde su descubrimiento se ha intentado desarrollar distintos tratamientos y fungicidas que sean eficientes y controlen la enfermedad. En Guatemala se ha obtenido un listado de fungicidas eficientes para el control de la roya propuestos por Anacafé.

El efecto que esta infección ha causado no es fácil de medir pues involucra diversos factores y ámbitos. El café es un producto primario en la economía guatemalteca, ha estado presente en los principales productos de exportación desde que se inventaron los tintes sintéticos. En el 2012 era el segundo producto que más se comercializaba con países en el exterior, sin embargo, para el 2015 esta estadística ha cambiado y actualmente se ubica en la tercera posición representando un 7.8% del monto total de exportaciones, la Tabla # 4 demuestra los montos del año 2015.

Tabla #4: Exportaciones en Guatemala

Producto	Cantidad (Millones de \$)	Porcentaje
Artículos de Vestuario	899	12
Azúcar	688.5	9.2
Café	584.5	7.8
Banano	488.7	6.5
Grasas y aceites comestibles	237.7	3.2

(Banco de Guatemala, 2015)

El sector de agricultura representa el 23% del PIB para el 2015 y con un aumento en los ingresos percibidos por el país equivalente al 2.6%. Es notable que el crecimiento

que han tenido las exportaciones como se indica en la Tabla # 5 no sea satisfactorio pues a pesar de que el precio unitario ha aumentado, el volumen ha disminuido y no cumple con el crecimiento esperado pues su aumento fue de 1.56% para el café.

Tabla #5: Volumen y precio de los principales productos en Guatemala

Café	2014	2015	Comparación
Millones de \$	575,549.3	584,529.2	1.56 %
Millones de Kilos	161,095	160,204	-0.55 %
Precio medio	3.57	3.65	2.24 %

(Banco de Guatemala, 2015)

La producción y exportación de café dependen de distintas variables como la demanda, producción, precio, impuestos, enfermedades, entre muchas otras. Sin embargo, analizando de manera aislada el impacto generado por la roya las pérdidas no son exactas y solo se puede analizar mediante un análisis de predicciones. El motivo por el cual se deben estimar las consecuencias con predicciones radica en que el daño a la producción que sufre la planta se refleja en el presente y futuro. La recuperación de las plantaciones involucra una menor producción en el transcurso de los años debido al impacto de la infección en las plantaciones, estos procesos de recuperación se perciben en el Figura # 4, el cual se debe comparar con los brotes de infección y el control que se han efectuado con el transcurso del tiempo.

Imagen #4: Producción exportable en millones de quintales oro

(Anacafé, 2014)

Una de las opciones que se implementan para facilitar el manejo de la infección consiste en utilizar variedades resistentes. El conflicto se refleja en la capacidad del hongo para evolucionar y adaptarse para poder sobrevivir. En Analab (Laboratorio de Anacafé) se reportan casos en los que las primeras infecciones en variedades resistentes se comienzan a presentar en el país. Este suceso representa un problema descomunal pues la inversión necesaria para implementar esta estrategia de control es fuerte y muchos caficultores no pueden soportar el nivel de inversión requerido para combatirla de manera eficiente. En Guatemala para el 2015 el 96.81% de los caficultores registrados son catalogados como pequeños productores, siendo su producción anual no mayor los 200 quintales. (Avelino, 2012)

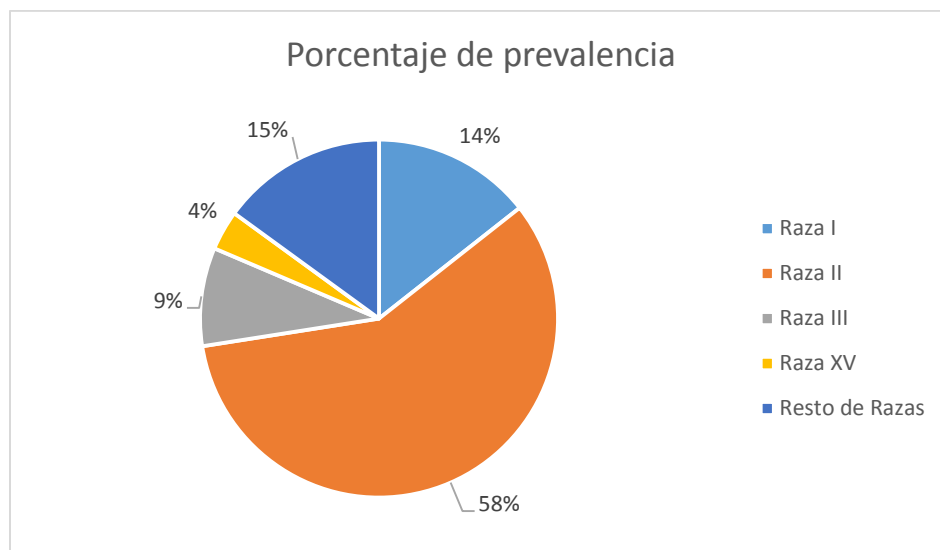
Cabe mencionar que por diversos aspectos micro y macro económicos, cuando se produjo la infección del 2012, en Guatemala la producción de café no era rentable. Esto se debía a la caída internacional del precio del café. Para el país esto es catastrófico pues la mayoría de caficultores pequeños dependen de la producción de café para subsistir. Distintos reportes indican que varios de los caficultores pequeños han comenzado a

vender su producción en la etapa de maduración del fruto, sin procesarlo lo que demuestra la necesidad que estos productores tienen para obtener recursos económicos. En Guatemala hay sectores que sufren estrés por falta de producción de alimentos, uno de estos es el corredor seco. La falta de capacidad para cumplir con la demanda de producto impacta de manera directa la vida de las personas que laboran y viven en el sector, perjudicando a todo el país debido a las condiciones en las que se desarrollan los jóvenes. Dentro de los factores que complican la realidad de estas personas se encuentra el fenómeno climático denominado “El Niño”, el cual afecta principalmente la producción de granos.

En el 2013 la PMA (Programa Mundial de Alimentos) concentró sus esfuerzos en distintos países de Centroamérica, incluyendo Guatemala. Este esfuerzo fue justificado con la baja de producción de café en Guatemala, y en la implementación se benefició a más de 45,000 familias.

La crisis era evidente y no se podía evitar, es por esto que en el 2014 Anacafé declaró al país es estado de emergencia y comenzó a negociar el precio de fungicidas con distintas empresas agroquímicas logrando que varios caficultores tuvieran alternativas para combatir la infección.

CIFC (Centro de Investigaciones de las Royas del Café) indica la presencia de 45 razas distintas de roya provenientes de 38 países distintos. En Guatemala está reportada la Raza II, en el Imagen #5 se indica el porcentaje de prevalencia que se presenta en las distintas razas de roya.

Imagen #5: Razas de roya, porcentajes de prevalencia

(Maga, 2013)

La capacidad de infección que una raza posee depende de los genes de virulencia y de los genes de resistencia que posea la plantación. Si el huésped presenta los genes de resistencia adecuados, la infección no puede progresar, de lo contrario sucede la infección. Actualmente existen 9 genes de virulencia identificados y 9 genes de resistencia. Estos genes varían según la variedad de Coffea que se tenga plantada. En la Tabla # 6 podemos observar que gen pertenece a qué variedad.

Tabla #6: Genes de resistencia

Gen de resistencia	Variedad de Coffea
SH1, SH 2, SH4, SH5	Coffea Arábica
SH3	Coffea Libérica
SH6, SH7, SH8, SH9	Coffea Canephora
SH10	Híbridos de Nueva Caledonia

(Anacafé)

Los reportes de ICO (International Coffee Organization) demuestran que para el año 2015, Guatemala ocupa el puesto número 10 a nivel mundial de producción de café. Honduras superó la producción de Guatemala en el año cafetalero 2009/2010 y ha mantenido niveles de producción superiores desde entonces. En la Tabla # 7 se puede apreciar la producción de los primeros 10 productores mundiales desde el año 2009/2010. Se puede observar que la producción en Guatemala no aumenta con la velocidad esperada ya que con el paso del tiempo esta desciende posiciones en la lista de los mayores productores. En el año 2009 Guatemala ocupa el 8vo lugar de productores a nivel mundial y en el año 1990 ocupaba el 5to lugar. En el transcurso de 25 años, Guatemala ha descendido 5 posiciones.

Tabla #7: Principales productores

País	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
Brasil	39,470	48,095	43,484	50,826	49,152	45,342	39,470
Vietnam	17,825	20,000	26,500	25,000	27,500	27,500	17,825
Colombia	8,098	8,523	7,652	9,927	12,124	12,500	8,098
Indonesia	11,380	9,129	7,288	13,048	11,667	9,350	11,380
Etiopía	6,931	7,500	6,798	6,233	6,527	6,625	6,931
India	4,806	4,728	4,921	4,977	5,075	5,517	4,806
Honduras	3,603	4,331	5,903	4,537	4,568	5,400	3,603
México	4,109	4,001	4,563	4,327	3,916	3,900	4,109
Uganda	2,860	3,223	3,075	3,878	3,602	3,800	2,860
Guatemala	3,835	3,950	3,840	3,743	3,159	3,500	3,835

(ICO, 2015)

Para el año 2012 Guatemala es el país que se ha visto afectado de manera más drástica en Centroamérica, la infección y la falta de producción comenzaron a afectar de manera directa a varios individuos. Debido a la reducción en producción de café, varios trabajadores perdieron su oportunidad laboral lo que representa mayores daños a la estructura social de lo que aparenta. Los trabajadores y las personas dependientes de los

ingresos que eran proporcionados por la producción y cosecha de café, que involucra a los familiares de las personas que laboran, sufren distintas consecuencias debido a la falta de recursos económicos. Los jóvenes son los que más sufren ya que están en proceso de crecimiento y desarrollo contagiándose con enfermedades y sufriendo desnutrición y otros problemas de salud, añadiendo la falta de atención de los padres hacia sus hijos por hallar una fuente de ingresos o alimentos. En la Tabla # 8 se detalla la pérdida de empleos por causa de la roya.

Tabla #8: Empleos perdidos

País	Empleos perdidos
Guatemala	115,000
Honduras	100,000
El Salvador	90,000
República Dominicana	56,500
Nicaragua	32,000
Panamá	30,000
Costa Rica	14,000
Jamaica	3,640

(Promecafé, 2014)

Desde el 2013 el MAGA (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación) pone en marcha el plan de control y erradicación de la roya. Esta propuesta se genera debido a los efectos de la roya y las consecuencias de la pobreza por falta de actividad laboral en distintos departamentos. Esta iniciativa se contempla e implementa debido a la declaración de estado de emergencia ocasionado por incremento significativo en el número de infecciones reportadas. La migración de distintos familiares se genera por la necesidad de obtener una oportunidad laboral. Las consecuencias que se presentan debido a esta migración afecta a varios sectores incluyendo los que no producen café, pues las personas que migran aumentan la densidad poblacional y generan una mayor demanda de alimentos en las regiones destinadas, lo que provoca que las consecuencias sean percibidas en una variedad de familias aún más amplia.

El plan de erradicación consiste en dos etapas: la primera era la aplicación que se realizó de febrero del 2013 a febrero del 2014 y consistía en proporcionar fungicidas, químicos, capacitación y suplementos para combatir la roya y aumentar la producción, aumentando la oportunidad laboral y disminuyendo la crisis por alimentos. Esta primera etapa afectó cerca de 60,000 pequeños productores con terrenos menores a una manzana. La segunda es una aplicación que se realiza en el período de abril del 2013 a abril de 2018, siendo un proceso de 5 años y con una inversión de 40 millones de quetzales proporcionados por MAGA.

El gobierno tiene contemplado ayudar a las personas que cultivan el café y tienen una oportunidad laboral. Sin embargo, no hay ningún plan por parte del gobierno de asistencia económica a las personas desempleadas por causa de la roya. La falta de empleo motiva a los distintos individuos a buscar respuestas de sustentabilidad recurriendo incluso a la migración a distintos países.

Actualmente el plan de prevención de roya mediante la implementación de agentes químicos consiste en un plan de acción de tres aplicaciones. Cada aplicación con un costo de Q250 por manzana y con un total de 276, 000 hectáreas, equivalentes a 394, 963 manzanas, obtenemos un costo a nivel nacional de Q 98, 740, 698.34 lo que representa un costo de Q 296, 222, 095.02 anual. Esta cifra varía dependiendo de cuantas manzanas sean tratadas, sin embargo comparado con el ingreso anual de exportaciones de café que fue de Q 584, 529, 200 quetzales podemos decir que el costo de control es elevado ya que representa un 50.68% de los ingresos percibidos en el 2015. Esto permite que esta acción preventiva no sea rentable. El problema radica en que los grandes productores y algunos productores medios son aquellos que pueden costear esta inversión, cuando el 96.81% de los productores son pequeños y no tienen los recursos necesarios para combatir la infección.

Desde su llegada, se estima que la roya ha causado un daño equivalente a \$ 372, 000, 000, una cantidad abismal y que sin duda ha influenciado en el desempeño del quetzal como divisa a nivel internacional.

C. Comunidad educativa

1. Medición pedagógica. Etimológicamente medir se deriva del latín *mediare* que significa articulación entre dos entidades o dos términos en el seno de un proceso dialéctico o en un razonamiento. (Escobar, 2011)

La Mediación pedagógica es un proceso que se ve directamente relacionado con el desarrollo central del sujeto dentro del acto educativo.

Según Escobar (2011) el término mediación se incorporó en la educación a partir de los estudios de Vygotsky, para quien los procesos mentales superiores en los seres humanos son mediados por herramientas como el lenguaje, el mundo simbólico y el manejo de códigos.

En la escuela moderna, en donde dentro del proceso de enseñanza aprendizaje se percibe al estudiante como un ser integral y se busca cubrir todas sus necesidades, la mediación pedagógica tiene como objetivo tomar estos aspectos en cuenta y de esta forma el docente interviene en el proceso de enseñanza aprendizaje siendo ésta una dinámica de carácter valorativo en la cual un docente guía con apoyos instrucciones, ya sean estos entendidos como apoyos de información, materiales, textos, instrucciones verbales, preguntas que lleven al estudiante a resolver problemas. Es por ello que la mediación debe ser entendida como un conjunto de instrumentos de carácter cognitivo, físico, instrumental que hacen posible que la actividad cognitiva se desarrolle y logre las metas propuestas desde el inicio del proceso.

Según Legorreta (2013) , la mediación pedagógica como término puede darse en dos tipos, en cuanto a la intervención humana, que da la pauta a la intervención del docente desde un determinado enfoque del proceso de enseñanza aprendizaje, y el segundo desde la introducción de los objetos, en este caso de los diferentes medios de comunicación que sirven como soporte a los contenidos de aprendizaje, siempre con el fin de hacer que estos sean llamativos para el estudiante y así poder introducir nuevos

conocimientos y que el alumno pueda reconfigurar los propios dando origen a nuevas ideas. (Alzate, Arbelaez, Gómez, & Romero, 2013)

Por otro lado, Escobar (2011), menciona a Pilonieta (2009) quien indica que se encuentran dos tipos fundamentales de mediación del saber: la mediación de tipo cognitivo y la mediación de tipo metacognitivo. La primera se refiere a obtener las herramientas cognitivas necesarias para la resolución de problemas de tipo académico y la segunda, abarca todas las herramientas de tipo semiótico de autorregulación por parte de los niños y las personas en formación, estas se tratan de todas las actividades que tengan que ver con la autoplanificación, seguimiento, corrección y evaluación.

Existen varios autores que se han dado a la tarea de definir la mediación pedagógica y sus factores primordiales para que el proceso enseñanza aprendizaje se pueda llevar a cabo con cabalidad.

Según Labarrere (2008) cuando se habla de mediación pedagógica, se debe de tomar en cuenta las acciones y el género de las actividades realizada para obtener modificaciones en las conductas de las personas, todas estas acciones van a girar en torno a la manera formal o informal de las actividades que se hagan en el proceso educativo. Se deben de tomar en cuenta la intencionalidad y la conciencia de los sujetos.

Cuando a procesos educativos se refieren no se puede olvidar el factor humano y las situaciones interpersonales que se están trabajando en dicho proceso. Labarrere (2008) también sostiene que la Mediación pedagógica tiene como objetivo transformar, desencadenar o promover procesos de reestructuración en la persona y su personalidad, o en los sujetos, tanto en su entorno individual como grupal. La Mediación al acto educativo va a ir definida por sus objetivos y consecuencias en sus intervenciones y medición.

La mediación pedagógica para Prieto (2010) es la tarea de acompañar y promover el aprendizaje. En donde se verán involucrados varios factores como la relación que existe entre la familia, el educando y la comunidad educativa. Para él la intervención del

discurso pedagógico, la madurez pedagógica y el mediar con la cultura y el currículo, son áreas a las que se les debe de prestar atención en la mediación.

Prieto sugiere varias áreas a tomar en cuenta para trabajar la mediación pedagógica, que se enlistan a continuación con mayor detalle:

- **El discurso de la mediación:** que se refiere a la manera que los docentes usan sus discursos y el diálogo como herramienta de construcción de conocimientos, a partir del esfuerzo en la labor y el uso de métodos adecuados dentro del salón.
- **Mediar con el educador:** se establece que para que exista un ciclo de mediación pedagógica adecuada, se debe de ser un docente que tenga la empatía por sus estudiantes, conozca los métodos adecuados según las necesidades de sus estudiantes.
- **La madurez pedagógica:** en esta etapa intervienen la manera en que el docente tiene la capacidad para utilizar la promoción y el acompañamiento del aprendizaje, y pone en práctica la mayor parte de los recursos educativos a su alcance.
- **La comunicabilidad:** es la máxima relación lograda en las instancias de aprendizaje, tanto la institución con sus docentes como ellos con sus estudiantes, el contexto y el fin como tal del proceso educativo.
- **Mediar con toda la cultura:** es la tarea del docente de integrar todo lo que culturalmente rodea al acto educativo, como los conocimientos que rodean a los estudiantes y que son previos a su trabajo, se puede mediar desde cualquier saber.
- **Mediar desde el currículo:** se debe aprender a mediar tomando como base el currículo, los contenidos, los procedimientos, competencias e indicadores de logro y dinámicas de evaluación.

Para este aspecto se menciona que el docente debe de trabajar de dos formas el proyecto educativo de la institución en donde labor:

- De manera estática: Desde el contenido y la seriación de los mismos.

- De manera dinámica: enfocándose en metodologías diferentes y las prácticas de trabajo propias de la materia.

Digi3n, Sosa y Velásquez (2015), indican que la mediación pedag3gica es: “un conjunto de acciones o intervenciones, recursos y materiales didácticos, como sistema articulado de componentes que intervienen en el hecho educativo, facilitando el proceso de enseanza y aprendizaje. Su principal objetivo es, facilitar la intercomunicación entre el estudiante y los docentes para favorecer a través del razonamiento, un acercamiento comprensivo de ideas y conocimientos”. Esa intercomunicación es llamada conversación didáctica. Según Galo (2006) esta es la situación en que se intercambian ideas, opiniones, es una conversación estructurada con el fin de alcanzar un objetivo de aprendizaje. Su marco es la clase y su base conceptual la de un proceso de enseñanza – aprendizaje activo y participativo.

Por lo tanto, la mediación pedag3gica implica una serie de herramientas, metodologías, técnicas, materiales didácticos, recursos, u otro tipo de prácticas y acciones que permiten que el estudiante sea activo en su propio aprendizaje, construyéndolo a partir de experiencias previas y de información nueva. Esto favorece el desarrollo de habilidades, destrezas, actitudes y valores que le ayudan a enfrentarse a la vida cotidiana. El rol del docente en la mediación pedag3gica, es ser facilitador, mediador o guía entre el estudiante y el conocimiento, dejando que el alumno sea el protagonista del proceso.

Según (Andrade, 2014) algunos aspectos sobresalientes que caracterizan a la mediación pedag3gica son:

- Capacidad de interacción: debe haber una relación activa y una buena comunicación entre todos los estudiantes y el facilitador.
- Metacognición: El estudiante debe ser capaz de aprender por sí mismo, utilizando las herramientas que se le provee a través del mediador para poder utilizarlas cuando se enfrente a situaciones académicas o de cualquier otra

índole. El estudiante debe ser capaz de autorregular su aprendizaje, es decir evaluar de tal manera que se identifiquen los fallos, se enmienden, se adapte a los cambios y aprenda de la experiencia.

- Espacio y tiempo: El mediador no debe limitarse a llevar a cabo el proceso de enseñanza y aprendizaje solo en el aula, pues dicho proceso se aplica en muchos otros contextos. Por lo cual, se debe proveer al estudiante herramientas para que su aprendizaje vaya de la mano con el entorno o los entornos donde se desenvuelve.

Andrade (2014) también propone siete claves para que la mediación pedagógica sea exitosa:

1. Una buena relación entre los participantes del proceso de enseñanza y aprendizaje. El facilitador debe propiciar un ambiente de armonía y confianza. Si en dado caso surgen diferencias o problemas, el mediador debe encargarse de buscar una salida práctica para solucionar la situación y aprender siempre de ella.
2. Despertar el interés de aprender en los estudiantes, incentivando y motivando con herramientas y procesos adecuados para cada educando. De lo contrario, el proceso de enseñanza y aprendizaje se puede volver, tedioso, cansado y aburrido tanto para el estudiante como para el docente.
3. Interacción con humildad: El mediador no debe tener una actitud orgullosa, presuntuoso, engreído, altanero, arrogante, soberbio o jactancioso, sino debe ser humilde y reconocer que no lo sabe todo y van a haber algunos temas en los que los estudiantes conozcan mucho más que él mismo. No puede ser un mediador déspota e imponente de sus conocimientos, debe respetar y aceptar sugerencias de los estudiantes.
4. Predicar con el ejemplo: el mediador no puede ser diferente dentro y fuera del aula. Debe ser consecuente y actuar conforme lo que dice, pues el estudiante ve al docente como un ejemplo a seguir.

5. Crear entre los participantes las herramientas de evaluación: el proceso de enseñanza y aprendizaje es activo y participativo por lo que, tanto el estudiante como el docente deben saber cómo se evaluará el proceso. Así mismo, el estudiante puede participar en el establecimiento de reglas y normas de comportamiento.
6. Trabajar con tecnología actualizada: La manera tradicional de enseñanza y aprendizaje ya ha terminado, por lo cual el uso de marcadores y pizarrón no suelen ser los recursos más efectivos hoy en día. El mediador debe encargarse de brindar a los estudiantes las herramientas que permitan a los estudiantes enfrentarse al mundo actual, por lo cual la tecnología actualizada puede ser un recurso que el docente puede utilizar para preparar a los estudiantes para las necesidades actuales.
7. Crear un ambiente de confianza y amigable: el mediador debe estar consciente siempre, que el estudiante es una persona y por tal motivo merece un buen trato. Esto favorece el ánimo y confianza de parte del estudiante hacia el mediador. El ser humano es un ser social por naturaleza, por lo cual es apropiado también, enseñar a convivir en armonía con los demás.

El proceso de aprendizaje es diferente para todas las personas, por lo que se debe respetar el ritmo de aprendizaje y el método que se utilizan. La mediación pedagógica promueve las diferencias individuales, así como establece que cada estudiante es capaz de crear su propio aprendizaje utilizando diferentes medios y materiales a través de una guía y orientación. Para lograr la mediación pedagógica, el docente puede utilizar diferentes estrategias didácticas para favorecer el aprendizaje de los estudiantes dependiendo del contexto en el que se desarrollen los estudiantes.

2. Estrategias didácticas para docentes que trabajan en el área rural. La estrategia didáctica es la selección de actividades y prácticas pedagógicas en diferentes momentos formativos del proceso de enseñanza aprendizaje, tomando en cuenta los métodos y recursos que se utilizan. Ésta orienta para que se obtengan los resultados planteados con anterioridad, dándole sentido y coordinación para llegar a todo lo que se pretende lograr. Según indica Hernández (2013), al potenciar las estrategias de

aprendizaje de un niño, mejora la calidad de conocimiento intelectual como también profundiza su interés de seguir innovando su aprendizaje en el proceso educativo.

En la estrategia didáctica a utilizar es necesario tomar en cuenta las características físicas y psicológicas de la edad de los estudiantes para realizar actividades que sean capaces de ejecutar según sus funciones cognitivas.

Para que las estrategias de enseñanza aprendizaje sean efectivas deben reunir ciertas características (Zapata, 2012):

- Deberán ser funcionales y significativas.
- La instrucción debe mostrar estrategias que puedan ser utilizadas, cómo aplicarse, cuándo y por qué son útiles, así como también su transferencia a otras situaciones.
- Los estudiantes deben creer que las estrategias son útiles y necesarias.
- Debe haber una conexión entre la estrategia enseñada y las percepciones del estudiante sobre el contexto de la tarea.
- La instrucción debe ser directa, informativa y explicativa.
- Los materiales instruccionales deben ser claros, bien elaborados y agradables.

Según el MINEDUC (2012), la formación del nuevo docente incluye el desarrollo de competencias que le permitan planificar, facilitar y evaluar los aprendizajes de los estudiantes en el aula, esto se logrará a través de las estrategias adecuadas que los maestros deberán utilizar considerando la mediación pedagógica para el logro de los objetivos propuestos ya que sin ella, las estrategias no llegan a profundizar como deberían.

COED, (2015) detalla las necesidades en el área rural de Guatemala en cifras por ejemplo: menciona que el 40% de los adultos en el área rural es analfabeta. Nueve de cada diez escuelas en el área rural carecen de libros. Tres cuartos de los niños en el área rural viven en pobreza.

Entonces, a pesar de que muchas personas en el área rural viven en pobreza, las instituciones públicas no promueven una calidad educativa que les permita desarrollar las competencias necesarias para poder competir en el mundo laboral. COED (2015) menciona que “la calidad educativa es pésima”. Además, también menciona que: muchos docentes no cuentan con la preparación que se necesita para impartir una educación de calidad. Tampoco cuentan con recursos que estimulan el aprendizaje, como los libros de texto y la tecnología. Por lo cual, los estudiantes no llegan a desarrollar las competencias necesarias. El poco entusiasmo, la falta de motivación y el bajo rendimiento académico, son causas que favorecen las altas de tasas de deserción escolar.

Por lo tanto, llevar a cabo el proceso de enseñanza y aprendizaje en áreas rurales puede ser un reto para muchos docentes por el contexto donde se desarrolla. Sin embargo, la mediación pedagógica en ningún momento indica que para generar una calidad educativa se tenga que disponer de costosos materiales o gran cantidad de ellos. Unos de los aspectos que deben caracterizar a un buen maestro son la creatividad y la innovación. Ambos aspectos pueden usarse para crear estrategias que orienten mejor y motiven a los estudiantes en su aprendizaje. Estas estrategias didácticas deben ser contextualizadas, utilizando un lenguaje adecuado y materiales fáciles de conseguir, considerando los aspectos geográficos, socioculturales y económicos. Muchas veces estas estrategias no requieren el uso de material didáctico sino una intervención efectiva que promueva el entusiasmo.

3. Nivel Preprimario

a. Características físicas, psicológicas y del lenguaje de los niños de la edad pre escolar:

1) Desarrollo físico. A este período se le llama niñez temprana, y abarca de los 3 a los 6 años; según Ruiz G. (2012), durante este tiempo el cerebro logra un 90% de su peso y las habilidades motoras gruesas como correr, saltar

y lanzar objetos avanzan y se automatizan. Con dificultad logran realizar actividades que demanden habilidades motoras finas, ya que requiere de mayor precisión.

Es en esta etapa en donde el niño se decide por una dominancia y en cuanto a los sistema circulatorio, respiratorio e inmunológico se alcanza una mayor capacidad, por lo que el niño llega a adquirir mayor equilibrio en cuanto a su bienestar.

El crecimiento muscular y esquelético está más desarrollado en los varones. En esta etapa progresan rápidamente en el logro de las habilidades motoras gruesas y finas y en la coordinación ojo – mano, desarrollando sistemas de acción más complejos. En cuanto a la producción artística atraviesan la etapa del garabato, de la forma, del diseño y la pictórica. (Ruiz G., 2012)

2) ***Desarrollo cognitivo.*** También es necesario, aclarar que los procesos cognitivos son diferentes de acuerdo a cada etapa de la vida del individuo, en este caso, la cognición en el niño preescolar le permite percibir, asociar, interpretar y responder a la información que recibe constantemente del ambiente; a través de los sentidos, da significado a las experiencias humanas (Posada, 2006)

La cognición según Roy (2002), es la capacidad de pensar, sentir y actuar, expresada a través de funciones motoras como el lenguaje, la expresión corporal y los movimientos en general; en este proceso se involucran también la conciencia y los estímulos, la emoción, la percepción, el juicio y el aprendizaje. (Posada, 2006)

Por otro lado, según Piaget las etapas del desarrollo del niño preescolar son:

- Sensoriomotriz (0-2 años): empieza a hacer uso de la imitación, la memoria y el pensamiento. Empieza a reconocer que los objetos no dejan de existir cuando están ocultos. Cambia de las acciones reflejas a actividades dirigidas hacia metas.
- Preoperacional (2-6 años): desarrollo de manera gradual el uso del lenguaje y la habilidad para pensar en forma simbólica. Es capaz de pensar las operaciones en

forma lógica y en dirección. Tiene dificultades para considerar el punto de vista de otra persona. (Linares, 2007)

Ruiz G. (2012), cita a Labinowicz (1998), y menciona que el niño en la etapa preoperacional presenta las siguientes características:

- o Desarrolla gradualmente el uso del lenguaje y la capacidad para pensar en forma simbólica (función simbólica).
- o Utiliza la función semiótica, como capacidad de usar símbolos, lenguaje, imágenes, signos o gestos, para representar mentalmente acciones u objetos.
- o Es capaz de pensar lógicamente en operaciones unidireccionales, se le dificulta pensar en retrospectiva o invertir pasos (lógica unidireccional).
- o Le resulta difícil considerar el punto de vista de otra persona y supone que los demás experimentan el mundo de la manera en que uno lo hace (egocentrismo).
- o La falta de algunos conceptos de organización como espacio, causalidad, cantidad, tiempo.
- o Puede imitar un acto complicado aunque carezca de un modelo que le corresponda (imitación diferida).
- o Puede representar una acción por medio de un gesto o de un objeto, como andar a caballo montado en una escoba (juego simbólico).
- o No entiende lo que es el futuro, ni presenta la conservación de la idea de cantidad.
- o Usa monólogo colectivo como forma de hablar en que los niños de un grupo se expresan, pero en realidad no interactúan ni se comunican.

3) *Desarrollo del lenguaje.* Los niños preescolares hacen rápidos avances en vocabulario, gramática y sintaxis. Los niños de 3 años pueden usar de 900 a 1000 palabras diferentes y los de 6 tienen un vocabulario hablado de 2600 palabras y entienden más 20,000. Todo esto se debe a la representación rápida o proceso por medio del cual un niño absorbe el significado de una nueva palabra, después de escucharla o una o dos veces en una conversación (Ruiz G., 2012).

Ruiz G. (2012), menciona que es común que en los niños de 4 a 10 años se presente el habla privada, la cual consiste en hablar en voz alta consigo mismo, sin la intención de comunicarse con los demás.

Woolfolk (2010), a quien hace referencia Ruiz G., indica que Vigotsky le dio más importancia que Piaget al papel del aprendizaje y del lenguaje en el desarrollo cognitivo. Consideraba que el pensamiento dependía del habla, de los significados del pensamiento y de la experiencia sociocultural de los niños, también manifestaba que el lenguaje en forma de discurso privado (hablar consigo mismo) guiaba el desarrollo cognitivo.

4) *Corriente pedagógica.* Para poder tener una base sólida a la cual referirse, es necesario mencionar la corriente pedagógica en la cual se basan las estrategias que se utilizaron para explicar lo que es la Roya a la población indicada, respetando así sus características. Las corrientes pedagógicas ayudan a describir, explicar, conducir y permiten comprender lo pedagógico ante las demandas del contexto social y pedagógico de la escuela. Entre ellas se pueden mencionar:

Pedagogía contemporánea: éstas resultan de la realidad, tomando en cuenta los elementos que debe tener una pedagogía y teniendo como fundamentos teorías psicológicas, sociológicas y antropológicas, considerando integralmente a la persona. Entre ellas se pueden mencionar:

- Corriente pedagógica tradicional
- Corriente pedagógica conductual
- La corriente pedagógica personalizada
- La corriente pedagógica social

- La corriente pedagógica constructivista
- La corriente pedagógica conceptual
- Corriente pedagógica activa

Esta última, está orientada en el niño, espera que éste aprenda a través de la acción y su fin último es educar para la vida, para que el la persona a través de estas experiencias pueda identificar las características de su realidad intrapersonal e interpersonal. Se refuerza en el niño el autoestima y auto concepto y se respetan las diferencias e intereses que éste pueda tener. El docente es consciente que el estudiante tiene obligaciones y derechos, por lo que las estrategias aplicadas son adaptadas al estudiante. Las actividades al aire libre, el juego y los proyectos son indispensables dentro del proceso de enseñanza aprendizaje. Entre los movimientos más destacados están las escuelas Montessori, Plan Dalton, Waldorf y Freinet. Es por ello que se puede indicar que la corriente pedagógica a utilizar en esta área del Megaproyecto es la corriente pedagógica activa, ya que a través de material orientado a las necesidades específicas de las edades de los estudiantes, se busca la participación activa de estos a través de la interacción continua con el material, el cual tiene como objetivo principal informar acerca de la importancia del café y el impacto que tiene la roya en su contexto; tomando en cuenta lo complejo que es el tema para esta edad, se busca entonces, ubicarlos en su realidad por medio de juegos didácticos, desarrollando a la vez sus habilidades y destrezas psicomotrices necesarias para futuros aprendizajes.

La Pedagogía Activa, es un enfoque integral que promueve la instrucción personalizada y la creación de vínculos fuertes entre la escuela y la comunidad para asegurar que los niños y niñas aprendan competencias que les sirvan para la vida. (Mogollón & Solano, 2009). Esta pedagogía fue impuesta para romper con el tradicionalismo de la ejercitación repetida, la rutina y la repetición del contenido como manera de aprendizaje. Este tipo de corriente toma la acción como aprendizaje significativo y entiende que sólo a través de la experiencia directa que tiene el sujeto con el contenido, podrá adquirir el conocimiento. Ésta también ve al niño como un ser curioso, competente, lleno de potencial, capaz de tomar decisiones.

La Escuela Activa, ha sido desarrollada en Guatemala desde 1992, y en otros países de Latinoamérica a lo largo de los años y su aplicación ha sido exitosa, debido a que se adapta de la mejor manera las necesidades que cada uno de los países presenta,

ésta tiene potencial para desarrollar capacidades locales en los miembros de la comunidades educativas, esto hace que sea aplicable a todas las escuelas sin distinción alguna.

Según Mogollón & Solano (2009), En cuanto a la metodología que utiliza la pedagogía activa, los niños se apropian de un proceso que mejora la calidad educativa: Aprendo, Practico y Aplico (APA). Este proceso de aprendizaje toma inicio, tomando en cuenta que el niño tiene experiencias y conocimientos previos. Este proceso, obliga a reorientar la forma en que los docentes realizan su trabajo, sus prácticas pedagógicas y cómo planifican sus clases.

En cuanto a los beneficios de la Pedagogía Activa, según Mogollón & Solano (2009) se pueden mencionar:

- Crea un ambiente de cooperación donde al tiempo que se aprende, se está proponiendo una forma activa y autónoma de aprender.
- Supera el activismo y se convierte en experiencia de aprendizaje y significativo.
- Permite adecuarse a cada región, localidad o escuela para hacerlo pertinente pero sin descuidar el currículo nacional y los saberes universales.
- Convierte al docente en mediador.
- Promueve el uso creativo y funcional de todos los recursos que ofrece el contexto.
- Desarrolla habilidades y actitudes que le permiten al estudiante aprender dentro y fuera del aula.
- Fomenta el desarrollo y fortalecimiento de valores que conducen a la formación integral, la convivencia democrática y la autonomía para usar responsablemente la libertad.
- Incluye evaluación sistemática y permanente.
- Posibilita la aplicación de la promoción flexible al respetar el ritmo de aprendizaje de los estudiantes.

Respetando estas características propuestas por los diversos autores, es necesario enfocarse en producir material que sea innovador, llamativo, manipulable y efectivo para su propósito al momento de introducir información sobre la Roya del Café. Por lo tanto, la persona encargada de brindar esta información debería seleccionar, elaborar y organizar estrategias en función a las necesidades de la edad y la finalidad con la que éstas se deben utilizar. También debe preparar las clases atendiendo a lo que va a aprender el alumno, cómo lo va a aprender y cuándo o con qué finalidad utilizará lo que ha aprendido (Benítez, 2010). Es por ello que la mejor forma de proveer información sobre éste fenómeno, siendo éste tan complejo, a los preescolares es a través del método lúdico y lectura comprensiva.

5) *Importancia de los juegos.* Por otro lado, los juegos han sido parte de la vida de los seres humanos y han demostrado tener trascendencia e importancia en todas las culturas del mundo, tanto por su aportación al disfrute de la vida, como por el enriquecimiento en las relaciones sociales y en el aprendizaje (Benítez, 2010).

Por tanto, éste ha sido siempre un método de enseñanza para entrenar en los más pequeños en habilidades que necesitan para enfrentarse a las tareas de la vida cotidiana. El jugar y aprender tienen en común varios aspectos: el afán de superación; la práctica y el entrenamiento que conducen al aumento de las habilidades y capacidades; la puesta en práctica de estrategias que conducen al éxito y ayudan a superar dificultades. (Benítez, 2010)

Tanto el componente lúdico como las estrategias de aprendizaje nacen a partir de la necesidad de un nuevo modelo de enseñanza que combinen distintos factores (cognitivos, afectivos, sociales, etc.) para una aprendizaje eficaz, en este sentido estos dos nuevos conceptos representan un papel importante en la nueva metodología aplicada a las lenguas. (Benítez, 2010)

En cuanto a las ventajas que éste provee, se pueden mencionar:

- Crea un ambiente relajado y más participativo, los alumnos mantienen una actitud activa.

- Disminuye la ansiedad, los alumnos adquieren más confianza en sí mismos y pierden el miedo a cometer errores.
- Es un instrumento útil para concentrar la atención en los contenidos: la sorpresa, la risa, diversión, provocan el interés de los alumnos en la actividad que están realizando.
- Proporciona al maestro una amplia gama de actividades y amenas, fundamental para mantener o aumentar la motivación de los alumnos.
- Permite trabajar diferentes habilidades y desarrollar capacidades. El alumno debe buscar, solucionar y activar estrategias para superar los retos y resolver los problemas que se plantean en cada actividad.
- Activa la creatividad de los alumnos en cuanto que deben inventar, imaginar, descubrir, adivinar, con el fin de solucionar diferentes situaciones. (Benítez, 2010)

6) ***Lectura comprensiva.*** En cuanto a la lectura comprensiva, ésta es una herramienta clave para lograr aprendizajes significativos y desarrollar estructuras mentales. Los beneficios que ésta ofrece al aprendizaje son:

- Se enriquecen y perfeccionan más las estructuras cognitivas y funciona mejor su inteligencia.
- Se aprende a aprender “comprendiendo”, es un proceso ascendente de formación personal mediante aprendizajes sucesivos, iluminados de significación.
- Se activa, enriquece y desarrolla la memoria comprensiva, es decir, con el acto de comprender se logra que los esquemas mentales del lector sean claros, profundos, integrados ordenadamente en fecundas y duraderas interrelaciones, lo que favorece los aprendizajes significativos (Achaerandio).

Entre las herramientas que se pueden utilizar para desarrollar lectura comprensiva están:

- Poemas
- Adivinanzas

- Canciones
- Pictogramas

Es por ello que por medio de la disciplina educativa, se busca crear materiales que promuevan interés, participación, concientización e información, dirigida específicamente a la edad de los niños de preescolar, tomando en cuenta las características de la edad, para que el material cuente con el diseño apropiado y así se cumpla con el objetivo de su producción.

4. Primaria

a. Características físicas, psicológicas y del lenguaje de los niños en primaria

1) Desarrollo físico en la edad primaria. Según Dueñas (2005) en esta etapa se viven muchos cambios, lo clasifica por varios sucesos en donde se puede decir que va desde los 6 años hasta la pre pubertad, entre los 11 y 12 años.

El crecimiento y desarrollo físico es tan particular en este período que existen grandes diferencias entre niños de igual edad; sin embargo, una de las características generales, es que la velocidad de crecimiento, continua siendo lento y gradual en casi todas las partes del cuerpo.

Dueñas (2005) Dentro de las características del desarrollo físico se pueden ver varios cambios durante la etapa de la primaria ya que existe el primer ciclo de primaria de primer grado a tercer grado y de cuarto grado a sexto grado, a continuación se enlista algunas de las características según las edades:

- La coordinación y el control muscular aumenta a medida que se van perfeccionando las habilidades motoras y finas. Sin embargo, el crecimiento de los músculos grandes, antes que los finos determinan una torpeza esperable para la edad.

- El peso y talla durante los años escolares va mostrando una diferencia relacionada directamente con el sexo. Los varones tienden a aumentar de peso hasta los 12 años y la ganancia en altura, es similar en varones y niñas.
- El incremento de peso es de alrededor de 2,0 a 2,5. kilos en el año y de talla, alrededor de 5 a 6 cm. en el año . A partir de los 9 años ocurre en las niñas el "estirón" y en los niños ocurre a partir de los 10 años.
- Respecto a las proporciones corporales, tanto niñas como niños, tienen piernas y brazos largos, predominio del tejido muscular por sobre el adiposo, antes de los 12 años, adelgazando generalmente.
- Para cuando llega la pubertad los órganos reproductores están iniciando su funcionamiento, pero aún no han alcanzado el desarrollo y capacidad del adulto. Es un período donde también se inicia de manera incipiente el funcionamiento de las glándulas sudoríparas y sebáceas.
- En la niñez avanzada, aproximadamente entre los 10 y los 11 años, en las niñas se pueden observar cambios más notorios que en los varones en cuanto a su desarrollo sexual. Se inicia la secreción de hormonas femeninas, estrógeno, y progesterona, las cuales preparan al organismo para futuros cambios de su cuerpo, durante la pubertad. En las niñas se empiezan a ver cambios hormonales como el crecimiento de los pechos, algunas veces a partir de los 8 años de edad o a los 10 años. En los varones su desarrollo sexual se empieza a ver dos años después que el de las niñas, en ello se observa el crecimiento de los testículos a partir de los 9 años, empiezan a aparecer caracteres sexuales secundarios, como el crecimiento del vello corporal, la voz y el incremento del funcionamiento de las glándulas sebáceas y sudoríparas.

2) Lenguaje. Según Sandoval (s.f) El lenguaje es un sistema organizado de signos y símbolos provistos de significado, cuya función principal es la comunicación del ser humano con otros individuos y consigo mismos.

El lenguaje ya está desarrollado en el área de primaria, sin embargo es un ente muy importante para conocer de la maduración de varios procesos lógicos y se sigue ampliando para crear nuevas conexiones en los niños durante sus años de desarrollo en el lapso de la primaria, es necesario enfocarse no solo en el habla, si no en contextualizar

todo lo que conocer y proveerles espacios para que amplíen vocabulario, fluidez y nuevos conocimientos. Es por eso que como parte del marco teórico de este trabajo se espera que a través de los materiales los alumnos puedan desarrollar varias destrezas como el lenguaje.

“A lo largo de la etapa de primaria, el alumnado va adquiriendo una autonomía creciente y se produce un importante despliegue del lenguaje. No solo el lenguaje verbal, sino también la iniciación en otros lenguajes (matemáticos, artístico, expresión corporal), que contribuyen a nuevas posibilidades de expresión y comunicación” (Padilla, 2009)

Con este se ve reflejado la importancia de desarrollar las destrezas de lenguaje expresivo y libre dentro del salón y permitirle a los estudiantes la mejora de sus capacidades de comunicación.

3) *Desarrollo cognoscitivo.* Según Linares (2007) el desarrollo cognoscitivo es el conjunto de transformaciones que se dan en el transcurso de la vida por lo cual se aumentan los conocimientos y habilidades para percibir, pensar y comprender.

La etapa primaria es ese conjunto de años en donde los niños pasan de tener un pensamiento concreto e inician su interacción con el mundo abstracto.

Linares (2009) establece que los niños viven una transición en las diferentes etapas que establece Piaget, en donde el desarrollo cognoscitivo sigue una secuencia invariable. El tiempo que dura cada transición de etapas según Piaget interfiere el nivel cultural de los alumnos y las destrezas individuales que cada alumno maneja. establece que el pensamiento de los niños comienza a tener menor rigidez y mayor flexibilidad en cuanto a sucesos de su entorno.

Feldman (2009) refiere que según Piaget, (1976) se dan las operaciones concretas en los niños de los 7 a los 12 años de edad, en donde se caracteriza esta etapa por la aparición del pensamiento lógico y una pérdida del egocentrismo. Los niños en esta etapa

desarrollan una capacidad de pensar en una forma más lógica y desarrollan destrezas que les permiten ver el mundo con cierta reversibilidad.

Sin embargo su pensamiento aún muestra una limitación importante, siguen ligados en buena medida a la realidad física concreta del mundo, A casi todos los niños de esta edad se les dificulta entender preguntas de naturaleza abstracta o hipotética.

Según Piaget, los niños cambian su pensamiento en esta etapa lo que los hace ver el mundo de una manera más lógica, sus relaciones espaciales y temporales se desarrollan notablemente. En esta etapa los niños pueden emplear el razonamiento para resolver problemas, clasificar y categorizar objetos en forma más precisa, distinguen la apariencia de la realidad (Sandoval s.f.).

Dueñas (2005) sostiene que a partir de los 7 años se produce un cambio cualitativo, a veces muy marcado, que va desde un pensamiento prelógico a uno lógico, donde el niño es capaz de razonar frente a diversas situaciones.

Los estudios del desarrollo cognitivo de J. Piaget, (1979) describen que este es un período en que se desarrolla la capacidad del niño de pensar, en forma concreta; el desarrollo alcanzado también le permite una flexibilidad del pensamiento, manifestada por la posibilidad de que las operaciones mentales sean reversibles, lo que facilita, por ejemplo, el aprendizaje de las matemáticas.

En este período el pensamiento es lógico, y la percepción de la realidad es objetiva, por ello es concreto. Puede fijar su atención en aspectos de la realidad que son predecibles, lo que le ofrece estabilidad, aumentando su capacidad de aprender. Podrá fijar su atención para obtener información, descubrir y conocer el mundo que le rodea.

La relación que establece con su entorno y el grado de madurez alcanzado le permiten ampliación del sentido de sí mismo como entidad separada, como ser activo y pensante con relación a otro. Dejan atrás el egocentrismo de la etapa anterior.

Estos procesos se van afianzando durante los años escolares, permitiendo que el niño logre comprender los principios de:

Conservación, es decir comprende que un elemento no pierde su esencia aunque cambie su condición física.

Reversibilidad, es capaz de comprender que cada uno de los elementos de un grupo hay un elemento y solo uno llamado inverso, que cuando es cambiado por el primero da como resultado el elemento de identidad . Esto les permite entender procesos matemáticos por ejemplo es lo mismo $2+3$ que $3+2$, etc.

Clasificación, Puede agrupar los objetos según sus diferentes características, color, forma, tamaño.

Con base en la información anterior se ve la necesidad de crear materiales para los niños del nivel primario tomando en cuenta sus necesidades de pensamiento en desarrollo y la adquisición de prácticas para estimular el área concreta que es propia de su edad.

Es muy importante tomar en cuenta las etapas de aprendizaje que puedan tener los niños a esta edad se desarrollan diversas áreas específicas del desarrollo que son básicas para comprender mejor cómo aprenden los niños a esta edad.

4) *Pensamiento.* Sandoval (s.f) sostiene que el pensamiento es un proceso mental complejo, que involucra destrezas y funciones como la percepción, el lenguaje y la memoria; e interviene en la solución de problemas. Dentro de las diversas clasificaciones que la autora establece se encuentran las siguientes:

- Pensamientos de sistemas cerrados: En donde se encierran los procesos lógicos y numéricos. Para fines de este trabajo se usaría este tipo de

pensamiento para conocer la clasificación específica de los tipos de seres que existen en la naturaleza y los tipos de roya que existen.

- Pensamientos en sistemas abiertos: En este sistema pueden abarcarse diferentes campos de conocimiento, nuevos elementos y relaciones entre ellos. En donde se pueden conectar con este tipo de pensamiento el contexto de los niños y entender la importancia del medio ambiente en el desarrollo de la caficultura y la propagación de la roya.

5) *Inteligencia.* Otro de los factores importantes para a tomar en cuenta en el trabajo con los niños de primaria es la inteligencia.

Viendo a la inteligencia como “el conjunto de habilidades, funciones mentales y destrezas determinadas por factores hereditarios y adquiridos, que se manifiesta en la práctica como la capacidad de resolver problemas, realizar transformaciones, hacer descubrimientos o inventar nuevos sistemas” (Sandoval, s.f)

Uno de los principales factores que intervienen en el desarrollo de la inteligencia son: El genético, aunque no se sabe qué tanto porcentaje influye en la inteligencia, ya que también tiene influencia ambiental, esto favorece a la estimulación de la persona.

El tamaño de la familia se relaciona también con las adquisiciones intelectuales, en donde las familias pequeñas reciben más atención por parte de sus padres para los hijos.

Por último la estimulación sensorio motora sigue teniendo mucha fuerza en esta etapa pues los niños en educación primaria ya que sus conocimientos aún tienen la necesidad de ser concretos. Los retos intelectuales son muy importantes en esta etapa.

5. Ciclo diversificado del nivel medio

a. Características de los estudiantes de 16-18 años

1) *Desarrollo físico.* Los estudiantes de esta edad se encuentran en una etapa de crecimiento continuo que involucra la maduración de órganos y sistemas en el cuerpo humano, alcanzando una máxima funcionalidad biológica. El crecimiento es notable en estatura, músculos, esqueleto y los aparatos genitales.

(Aguirre, B. 1994) indica que: “Las modificaciones morfológicas experimentadas tanto en niños como en niñas al final del período infantil están provocadas fundamentalmente por una secreción diferente de hormonas”. La hormona del crecimiento y la hormona tiroidea son unas de las responsables de estos cambios, favoreciendo la maduración de cartílagos y el aumento del tamaño celular.

El crecimiento de las proporciones del cuerpo es diferente tanto en hombres como en mujeres. Muchas de las variaciones que ocurren en el crecimiento muestran que las personas están alcanzando su maduración sexual, algunos de los rasgos que se pueden evidenciar son:

- En mujeres: hay un desarrollo de las glándulas mamarias y por lo tanto el aumento del tamaño es significativo, aparece el vello púbico y axilar, aparece la primera menstruación, las caderas se ensanchan y la cintura se afina.
- En los hombres: hay un cambio drástico en la voz, aparece vello facial, axilar y púbico, se da la primera eyaculación, hay un aumento en sus órganos genitales y se la espalda se ensancha.

Además, en ambos sexos es frecuente el aumento de la secreción de grasa en la piel, causando acné (Aguirre, A. 1994).

2) ***Desarrollo socioafectivo.*** La adolescencia representa una transición entre la niñez y la adultez. Durante este período las personas sufren diversos cambios tanto en el área física, como en la psicológica y socioafectiva (Álvarez, I; González, J. 2006).

Los adolescentes en esta etapa están desarrollando su propia identidad y lo logran a partir de un crecimiento personal. Lo cual implica un distanciamiento considerado con el entorno familiar, el cual tienden a comparar con lo que están conociendo o experimentando. Ellos buscan la autonomía, la independencia, formar círculos de amistades y su lugar en la sociedad. Paralelamente al desarrollo socio-afectivo ocurre el desarrollo biológico que trae consigo no solo cambios corporales sino una inestabilidad social y emocional.

Los adolescentes buscan como fuente de apoyo a su grupo de amigos con quienes buscan conversar, compartir experiencias, sentirse escuchados. Este grupo de amigos puede influir en la ideología, percepciones, en la realización de deseos y necesidades incluso en la forma de vestir, peinar, hablar, la música, entre otras cosas. Los jóvenes buscan su encajar por lo que tratan de adaptarse a las influencias de la sociedad. La influencia familiar no dejará de estar y muchas va a ser la decisiva para ellos actúen de alguna forma en especial, siendo esta opción considerada por los jóvenes como sobreprotección, la cual tienden a rechazar. Esto provoca que se dañe la relación y se aumenten las llamadas de atención, castigos y regaños.

En la institución educativa los adolescentes tienden a formar sus círculos de amistad que muchas veces son íntimos más no duraderos. Con los profesores, pueden llegar a tener una buena relación cuando los docentes son equilibrados y democráticos, entonces los adolescentes puede dejarse moldear por su forma de pensar y actuar. Lo contrario de los educadores inflexibles, autoritarios y muy estrictos que solo conseguirán oposición.

Los adolescentes muchas veces rechazan las formas de pensar de los adultos y a veces quieren imitarlos en algún aspecto, pues están forjando su propia personalidad. La adolescencia también es un proceso de interiorización que se caracteriza por un

crecimiento cualitativo donde poco a poco va conociendo más y más su entorno lo cual influye en su crecimiento de personalidad. Y se pueden presentar situaciones en las que el enriquezca su conciencia interior o que la halle contradictoria con lo nuevo que está experimentando. Por lo cual puede ser que el adolescente se sienta contento con riqueza interior y la intimidad como algo valioso, o desarrolle un espíritu de independencia que lleve a dividir relaciones o anda buscando conquistar al mundo buscando su aprobación y reconozcan su valor. Por otro lado el adolescente puede sentirse inseguro o indeciso por lo cual necesita de mucha guía, comprensión y orientación que se de, no de forma autoritaria. Muchas veces este apoyo lo encuentra en sus amigos. Descubrir la realidad en la que vive puede llevarlo a sentirse inútil y hasta depresivo (Álvarez, I; González, J. 2006).

Mientras más pasa el tiempo, el adolescente socializan más y después de asociarse con los que pensaban igual que él, ahora abre su círculo de de influencias a una diversidad y empiezan a buscar y satisfacer sus intereses sociales, promoviendo movimientos sociales y servicio con generosidad y entrega. La etapa romántica también se hace presente, favoreciendo las atracciones sexuales, comienzan a emparejarse y a buscar relaciones que los hagan sentirse bien consigo mismos (Álvarez, I; González, J. 2006).

3) ***Desarrollo cognitivo.*** El área cognitiva de los adolescentes se refiere a “una serie de procesos mentales complejos, tales como la atención, la percepción, la memoria, el aprendizaje, el pensamiento, el razonamiento, etc” (Aguirre, A. 1994).

Desde que una persona está en la etapa de la niñez presentan diferentes formas de conocimiento hasta que llega a la adultez. Una primer etapa del conocimiento se caracteriza por el desarrollo sensoriomotor, que es cuando el niño obtiene el conocimiento a partir de los sentidos y por lo que hace, esta etapa se da aproximadamente en los primeros dos años (Estadío Sensomotor). Pero entre los 18 y 24 meses, la etapa sensoriomotora se supera y el niño ya es capaz de obtener conocimiento a partir de imágenes mentales, función llamada semiótica. Esto implica que los niños son capaces de

representar mentalmente objetos, todo lo que hacen y las relaciones que forman entre ellos. Tienden a tener desarrollado una gran capacidad simbólica y para abarcar diferentes situaciones al mismo tiempo. (Estadio preoperacional). En esta segunda etapa, el fundamento de su conocimiento sigue siendo sensoriomotor, pero ya en la tercera etapa, que es más o menos a partir de los 7 años de vida, el niño empieza a hacer inferencias lógicas y se empieza a observar en él, el desarrollo de algunas operaciones lógicas como la clasificación, la conservación, seriación, reversibilidad, entre otras cosas. En esta etapa el niño organiza su conocimiento en forma empírica-deductiva y esto lo logra a partir de la información que consigue por medio del área sensoriomotora. Se dice que están en el estadio de operaciones concretas porque se apegan al mundo real y objetos concretos (Aguirre, A. 1994).

En la adolescencia, la persona va desarrollando nuevas formas de pensamiento semejantes a las de un adulto, comenzando a despegarse de los receptores sensoriales. Su conocimiento ya no solo se basa en lo que captan sus sentidos o lo que hace, ahora el adolescente es capaz de razonar a partir de la posibilidad, pensando en objetos posibles, constructos abstractos y proposiciones elaboradas mentalmente. Esto implica un avance en la forma empírica-inductiva de organizar su conocimiento, la cual se reemplaza por la forma hipotética-deductiva (Estadio de operaciones formales) (Aguirre, A. 1994).

4) *¿Cómo aprenden?* Los adolescentes están empezando a alcanzar madurez en su pensamiento. Los adolescentes pueden aprovechar y beneficiarse mejor de su proceso de aprendizaje cuando tienen una participación activa y cuando ellos son los que realizan su proceso. Los adolescentes pueden aprender leyendo, el docente debe preocuparse porque sean textos interesantes y motivarlos a sacar provecho de su lectura. Sin embargo, la Universidad de Óregon indica que los jóvenes retienen un 10% de la lectura, por lo cual se pueden brindar otras oportunidades para aprender de forma complementaria (Aitkin, T. 2006).

Los adolescentes retienen un 20% de lo que escuchan, por lo que es recomendable que se hagan recesos paulatinos, y que las clases, conferencias, exposiciones o discursos

estén combinados con diálogos, lanzamiento de preguntas u otras actividades que permitan la dinámica en clase. El uso de herramientas visuales permite que los estudiantes retengan un 30% de lo que ven, por lo que puede ser una buena estrategia complementaria en el aprendizaje. Sin embargo, los recursos audiovisuales pueden beneficiar un 50%. Las estrategias que involucran oído y vista pueden ser métodos efectivos en el proceso de aprendizaje. Por ejemplo: videos, películas, demostraciones, visitar lugares, entre otras pueden ser excelentes técnicas. Cuando los estudiantes explican personalmente o exponen retienen un 70% más, por lo que el docente puede incluir en sus clases un espacio de discusión o preguntas para dejar que el estudiante exprese sus ideas (Aitkin, T. 2006).

Cuando los estudiantes participan activamente en su proceso de aprendizaje, se involucran diciendo y haciendo, retienen aproximadamente un 90%. Por eso es importante que se incluyan actividades, dinámicas o ejercicios en los cuales ellos puedan practicar o puedan realizar actividades manuales que les permitan un desempeño más efectivo. (Aitkin, T. 2006)

La Universidad de Óregon también propone seis pasos para enseñar una nueva habilidad:

- Yo lo hago, tú me observas.
- Yo lo hago, tú me ayudas
- Lo hacemos juntos
- Tú lo haces, yo te ayudo
- Tú lo haces, yo te observo
- Tú lo haces solo.

b. Manuales educativos

1) ¿Qué son? Según Salinas y Volder (s.f) los manuales escolares son un tipo particular de obra escrita destinada a la enseñanza-aprendizaje. Son uno de los elementos centrales de la cultura escolar contemporánea y,

como tales, resultado de una serie muy numerosa de intenciones profesionales, intervenciones sociales y regulaciones estatales.

Según la publicación en la Revista Bibliográfica de Geografía y Ciencias Sociales (2002), los textos escolares son una herramienta que se ha venido utilizando como eje de la programación didáctica de una clase. Un manual escolar es una pieza de suma importancia que determina la programación, la difusión de los contenidos básico del aprendizaje.

2) ¿Cómo se organizan? Salinas y Volder (s.f)

establecen las principales características de manual escolar:

1. Intencionalidad, por parte del autor (o editor) de ser expresamente destinado al uso escolar.
2. Sistemática, en la exposición de los contenidos.
3. Secuencialidad, es decir, una ordenación temporal que organiza los contenidos desde los más simples a los más complejos.
4. Adecuación para el trabajo pedagógico, ajustando el nivel de complejidad de los contenidos a un determinado nivel de maduración intelectual y emocional de los educandos.
5. Estilo textual expositivo, es decir, un estilo literario y un uso de los recursos lingüísticos en los que predominan formas expositivas, declarativas y explicativas (aunque cambiantes a través del tiempo, desde la primacía de la forma catequística al uso de la argumentación razonada).
6. Combinación de texto e ilustraciones, en relación variable según las épocas, desde el predominio casi total del texto hasta la preponderancia de las imágenes en la actualidad.
7. Presencia de recursos didácticos manifiestos, como resúmenes, cuadros, ejercicios y tareas para los alumnos, ampliación de lecturas, etc., sobre todo en los manuales de las últimas décadas.

8. Reglamentación, de los contenidos, de su extensión, y del tratamiento de los mismos, que debe ajustarse a unos enunciados curriculares y a un plan de estudios establecidos
9. Intervención estatal administrativa y política, a través de la reglamentación jurídica (que selecciona, jerarquiza o excluye saberes y valores), y/o de la autorización expresa o implícita, anterior o posterior, a la publicación de la obra. (Aunque la tendencia internacional más reciente es a suprimir la previa autorización político-administrativa).

La aparente sencillez de los libros escolares suele ocultar una compleja serie de intervenciones, ya sean personales, institucionales, tecnológicas o empresariales.

3) Los contenidos y su organización. Salinas y Volder (s.f) sostienen que los manuales escolares suelen responder a previas regulaciones normativas, expuestas en planes de estudio y programas que conforman el llamado “currículo prescrito”, de cumplimiento más o menos obligatorio.

La selección de los temas curriculares ya presupone la existencia de criterios valorativos que incluyen o excluyen saberes y conocimientos, según se los considere como útiles y virtuosos. Los criterios con los que se selecciona siempre responden, a su vez, a teorías pedagógicas y a principios ideológicos, morales o políticos que no son neutrales, sino que son parte de cosmovisiones que aportan su propia definición de lo que existe y de lo que debe ser considerado bueno, bello y justo, cuya transmisión a niños y jóvenes sería necesaria para mantener y continuar un cierto orden cultural y social.

El libro escolar, factor socializador de primera importancia, quizás haya sido el tipo de texto escrito que durante más largo tiempo estuvo expuesto al control estatal y a la censura previa de sus contenidos. En tanto producto editorial destinado expresamente a la formación de niños y jóvenes, y heredero de las formas y objetivos de los antiguos catecismos cristianos, fue objeto de férreo control por parte de los poderes civiles y eclesiásticos. Como ha sido dicho, los libros escolares representan, históricamente, a la

vez, un apoyo del saber y un instrumento del poder. Como apoyo del saber, el libro de texto impone una distribución y una jerarquía de los conocimientos y contribuye a formar la armadura intelectual de los alumnos; como instrumento del poder, el libro contribuye a la uniformización lingüística, a la nivelación cultural y a la propagación de las ideas dominantes. En muchos sentidos el manual escolar constituye, con sus contenidos y con la estructura formal y relacional en que los presenta, el verdadero currículo manifiesto de la escuela (de la institución escolar), lo que la escuela verdaderamente enseña, en desmedro de los objetivos y preceptos formales y legales, al ser el recurso didáctico más utilizado en prácticamente todos los sistemas educativos.

Fernández y Sarramona (1984) citado por Universidad de Murcia, (Prendes, M. 2000) indica que los manuales educativos son: “libros planeados sistemáticamente para el aprendizaje de los contenidos de una determinada materia, a un cierto nivel, según la legislación o cultura vigente”. Es decir los manuales educativos, son utilizados como medios o herramientas para llevar a cabo diferentes estrategias de enseñanza y aprendizaje. Son textos informativos que además de documentar contenido en forma ordenada, muestran fotografías, gráficos y otro tipo de anexos que complementan la herramienta. Son manuales, porque se integran al proceso de aprendizaje y además de proporcionar contenido, contribuye en el desarrollo de destrezas de lecto-escritura y de pensamiento que permiten la formación holística de los estudiantes.

4) Partes de un manual

El Instituto Tecnológico de Sonora en México propone que una manual, en general, debe contener las siguientes secciones:

- Portada
- Índice
- Objetivos
- Introducción
- Desarrollo de temas y subtemas
- Conclusión

- Bibliografía

Sin embargo, es importante destacar que el autor es libre de decidir cómo organiza su manual, siempre y cuando esté ordenado de forma lógica y concreta acatando los criterios mínimos que propone Richaudeau:

- Que la información proporcionada sea de valor
- Que la información esté adaptada al contexto
- Que haya coherencia pedagógica tanto en los contenidos y su estructuración como los modelos pedagógicos adecuados al nivel os de los alumnos y la formación de los maestros.

5) Estrategias que utilizan

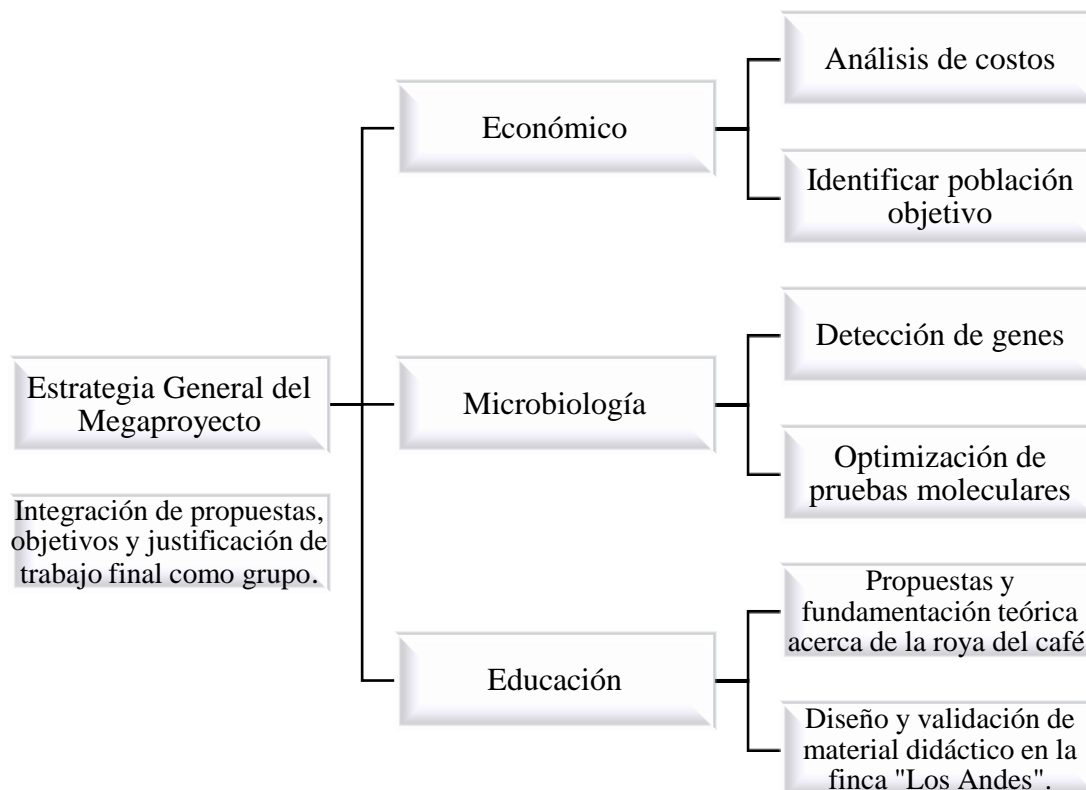
Los manuales educativos son herramientas didácticas que el docente puede utilizar para facilitar el proceso de enseñanza y también, el estudiante puede utilizarlo como estrategia de aprendizaje. Depende del contexto, de la cantidad de estudiantes, del maestro, del tipo de estudiantes, entre otros aspectos, la forma y la estrategia con la que se vayan a utilizar.

Los manuales pueden ser teóricos siendo su función es totalmente informativa. También pueden ser manuales de ejercitación los cuales ayudan al estudiante a llevar a la práctica la teoría a través de ejercicios relacionados a los que se está aprendiendo. Por ejemplo: en matemática se esperaría que el manual de ejercitación tuviera cálculos, operaciones que facilite a los estudiantes el manejo consistente de los números. Lo mismo en el curso de física. o por ejemplo: en inglés, existen los manuales o libros de trabajo donde el estudiante puede practicar con más regularidad el uso del idioma inglés. También en las clases de biología o química, existen manuales de prácticas en las que los estudiantes pueden experimentar con diversos instrumentos y materiales las teorías y el conocimiento aprendido en clases. Hay manuales que además de dar teoría también permiten la práctica y la ejercitación.

V. MARCO METODOLÓGICO

A. Estrategia general del megaproyecto

Diagrama #2: Estrategia general del megaproyecto



B. Implementación de pruebas moleculares para detección de genes virulentos

Esta sección se divide en dos partes: bioinformática y laboratorio. En la primera parte se realizó toda la sección de genes a partir del uso de programas bioinformáticos. En la segunda parte (Inciso d), e), f) y g)) se realizó el protocolo de laboratorio a partir de la información generada en la primera parte.

Primera Parte:

- Identificación de genes de virulencia de *Hemileia vastatrix* en su genoma y alineación de los transcritos con la secuencia del genoma.
 1. Seleccionar 8 secuencias de genes de proteínas secretadas por el hongo de los transcritos predichos por Talhinhos *et al.* (2014):
 - a. Hv00303, Hv00357, Hv01043 y Hv04304 → genes RTP1 (proteína receptora y transporte)
 - b. Hv01506 y Hv04456 → genes HESP-178
 - c. Hv00258 → gen HESP-379
 - d. Hv00298 → gen HESP-767
 - e. Hv00297 y Hv01268 → gen de superóxido dismutasa - manganeso
 - f. Hv00297 → Uf058 y 107563
 2. Dichos genes fueron comparados con el genoma híbrido parcial generado por Crisancho *et al.* (2014) utilizando el programa Jaligner, el cual sirve para alineamientos.
 3. Seleccionar 5 genes de 8 que fueron enlistados anteriormente, que fueron localizados en la secuencia del genoma: Hv01268, Hv00297, Hv00303, Hv00357 y Hv01506.
- Diseño de primers
 1. Ingresar a la página web <http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/>, el cual es el programa Primer3 para el diseño de primers.
 2. Ingresar la secuencia en FASTA del gen de la proteína secretada seleccionada.
 3. Agregar “Sequence Id”, colocando el nombre del gen que se usaría para realizar los primers
 4. Para “Product Size Ranges” elegir la opción 501-600 ya que es un peso intermedio del máximo y mínimo que deben tener los productos del PCR.

5. Se seleccionó Pick Primers.
 6. Se muestra una nueva página, donde el primer cuadro muestra los primers reverse y forward, especificando: longitud, el número de nucleótido en donde empieza, TM, %gc, secuencia y tamaño del producto.
- PCR *in silico* y simulación de gel de agarosa
 1. Utilizando el programa Snapgene 2.7.1, se analizó cada gen
 2. Realizar PCR *in silico* y una simulación de gel de agarosa.

Segunda parte:

- Extracción de ADN de hojas de café infectadas con roya. Basado en el método de Doyle & Doyle modificado por Dra. Silvana Maselli (2015).
 1. Cortar con un sacabocados en forma de tijera, 4 a 5 rueditas de material vegetal y pesar 0.08g en una balanza analítica.
 2. Dichas rueditas se colocan en un mortero con 1mL de tampón de extracción (CTAB) y se macera hasta obtener una pasta. El mortero debe estar en frío.
 3. Colocar el contenido en un eppendorf 1.5mL y añadir 120uL de sarcosil al 5%. Agitar vigorosamente en vortex.
 4. Colocar el tubo en un baño a 55°C por una hora y agitar el tubo cada 5 minutos. Después dejarlo enfriar.
 5. Añadir al tubo, 400uL de cloroformo. Agitar y centrifugar a 13,000rpm a 4°C por 10 minutos.
 6. Colocar la fase acuosa (capa superior) en un eppendorf y eliminar el resto. Todo el procedimiento se realiza en frío.
 7. Añadir 400uL de isopropanol frío y dejarlo incubando al menos 1 hora a 0°C.
 8. Volver a centrifugar a 13,000rpm a 4°C por 10 minutos. Verter el contenido de los tubos, no perder el precipitado y dejarlo secar a temperatura ambiente por 15 minutos.

9. Agregar 1mL de etanol al 76%. Agitar en vortex y centrifugar a 13,000rpm a 4°C por 10 minutos. Eliminar sobrenadante y secar a temperatura ambiente por 45 minutos o hasta que esté completamente seco el ADN.
 10. Se resuspende en 100uL de agua bidestilada si el uso es inmediato.
 11. Almacenar a 5°C.
- Cuantificación de ADN. Basado en el Protocolo descrito por Quantus TM Fluorometer Operating Manual (2013):

Calibración:

1. Preparar el blanco, con 199uL de colorante (ONE dsDNA, QuantiFluor® Dye System) y 1uL de buffer TE 1x.
2. Preparar el calibrador, con 199uL de colorante (ONE dsDNA, QuantiFluor® Dye System) y 1uL de ADN estándar.
3. Seguir las instrucciones según el fabricante para operar el equipo.

Cuantificación de muestras:

4. Preparar la muestra, con 199uL de colorante (ONE dsDNA, QuantiFluor® Dye System) y 1ul de la muestra sin diluir.
 5. Seguir las instrucciones según el fabricante para operar el equipo.
 6. Observar la integridad del ADN por medio de electroforesis
- PCR. Seguir el protocolo descrito por el fabricante Promega (2014).
 1. El GoTaq® se deja a temperatura ambiente. Se revuelve con vortex y se centrifuga para coleccionar el líquido hasta el fondo.
 2. Todos los tubos de pcr (0.5mL) de las muestras se preparan en hielo.
 3. Para GoTaq® G2 Colorless Master Mix (40 reacciones) :

Tabla #9: Colorless Master Mix

Componente	Volumen	Concentración final
GoTaq® G2 Colorless Master Mix, 2x	12.5ul	1x
Primer forward	1ul	1uM
Primer reverse	1ul	1uM
ADN plantilla	1ul	<250ng
Agua libre de nucleasa	9.5ul	-
Total	25ul	

4. Para GoTaq® G2 DNA Polymerase Sample (100 unidades):

Tabla #10: Taq Polymerasa

Componente	Volumen	Concentración final
5x Green o Colorless GoTaq® Reaction Buffer	5ul	1x
Mix de nucleótidos PCR, 10uM cada uno	1ul	0.2mM cada dNTP
Primer forward	1ul	1uM
Primer reverse	1ul	1uM

Continuación Tabla #10

Componente	Volumen	Concentración Final
GoTaq® G2 DNA polymerase (5u/ul)	0.125ul	1.25u
ADN plantilla	1ul	<250ng
Agua libre de nucleasa	16.37ul	-
Total	25ul	

5. Agregar todos los componentes hasta llegar al volumen final con agua libre de nucleasas.
6. Mezclar con el vortex y luego se centrifugan.
7. Colocar los tubos de reacción en el termociclador Eppendor Mastercycler ® nexus, el cual se maneja según el Manual de operación (Anexos).
8. Correr la reacción según el siguiente programa:

Tabla #11: Corrección de reacción

Paso	Temperatura	Tiempo	No. De ciclos
Desnaturalización inicial	95° C	2 minuto	1
Desnaturalización	95°C	1 minuto	37
Anillamiento (gradiente)	65°C (12x) 55°C (25x)	45 segundos 45 segundos	
Elongación	72° C	1 minuto	
Extensión final	72° C	5 minutos	1

Almacenamiento	4° C	Lo necesario	1
-----------------------	-------------	---------------------	----------

- Gel de agarosa

Gel de integridad:

1. Preparar un gel de agarosa al 0.8%: pesar 0.24g de agarosa y agregarlo a 30mL de agua con TAE (29.4mL de agua y 600ul de TAE 50x)
2. Agregar TAE 1x para corrida.
3. Para la preparación de las muestras: 5uL de GelRed + 3uL loading dye + 3uL de ADN.
4. Utilizar una escalera de 100pb. Se prepara igual que las muestras.
5. Se observa en el transiluminador UV.

Gel para pcr:

6. Preparar un gel de agarosa al 1.5%: pesar 0.45g de agarosa y agregarlo a 30mL de agua con TAE (29.4mL de agua y 600ul de TAE 50x)
7. Agregar TAE 1x para corrida.
8. Para la preparación de las muestras: 3uL de GelRed + 3uL loading dye (si es buffer colorless) + 3uL de ADN.
9. Utilizar una escalera de 100pb. Se prepara igual que las muestras.
10. Se observa en el transiluminador UV.

C. Proceso de análisis molecular

El análisis molecular se realiza con la finalidad de poder discernir por medio de resultados obtenidos en la práctica la presencia de un gen virulento perteneciente a la roya del café. En el experimento se realizan 60 muestras, 2 por planta utilizando 30 plantas distintas, estas están evidentemente contagiadas permitiendo que las pruebas que se realicen presenten resultados positivos para demostrar que el método es eficiente. La elección de las plantas fue debido a la facilidad de acceso y conveniencia. La eficiencia de esta prueba se compara con los posibles resultados obtenidos y la capacidad de ser replicados.

Para este estudio se tienen contemplados dos escenarios, el primero es uno en el que se alquilan locales para instalar el laboratorio, esto se realiza en Zona 9 por el espacio y precio de los mismos. El segundo escenario tiene contemplado utilizar las instalaciones de la universidad para ensamblar y utilizar el laboratorio. Para ambos escenarios se tiene contemplado la compra de todos los reactivos, maquinaria y equipo necesarios para la implementación. La variación que se presenta en el precio es debido al alquiler de espacio físico para ensamblar el laboratorio.

Para este proyecto cuyos fines son únicamente de investigación, se requiere de 18 reactivos, 10 piezas de equipo y 11 piezas de maquinaria. Estos fueron cotizados en distintas distribuidoras obteniendo precios actuales del mercado. El distribuidor con mejores precios fue Dilab, en la Tabla # 12 mostramos el rubro de inversión que representa cada categoría. Se pueden observar datos más detallados en la Tabla # 13 en la que se detallan todos los datos pertinentes a los componentes de esta investigación y en la Tabla de costos en la que se detallan las cantidades utilizadas por prueba. Las cantidades necesarias para realizar cada prueba fueron determinadas basándose en concentraciones de solución y guiándose en procedimientos establecidos por instituciones de investigación molecular. Los materiales que se adquieren y utilizan como el Master Mix o los primers incluyen información acerca de qué cantidades son necesarias para que el análisis se ejecute de manera exitosa. En la Tabla de costos incluida en los anexos se especifica qué cantidades de cada material son utilizados por muestra, el costo por muestra se obtiene a partir de una división del valor de adquisición de un reactivo por la cantidad utilizada en cada muestra realizada.

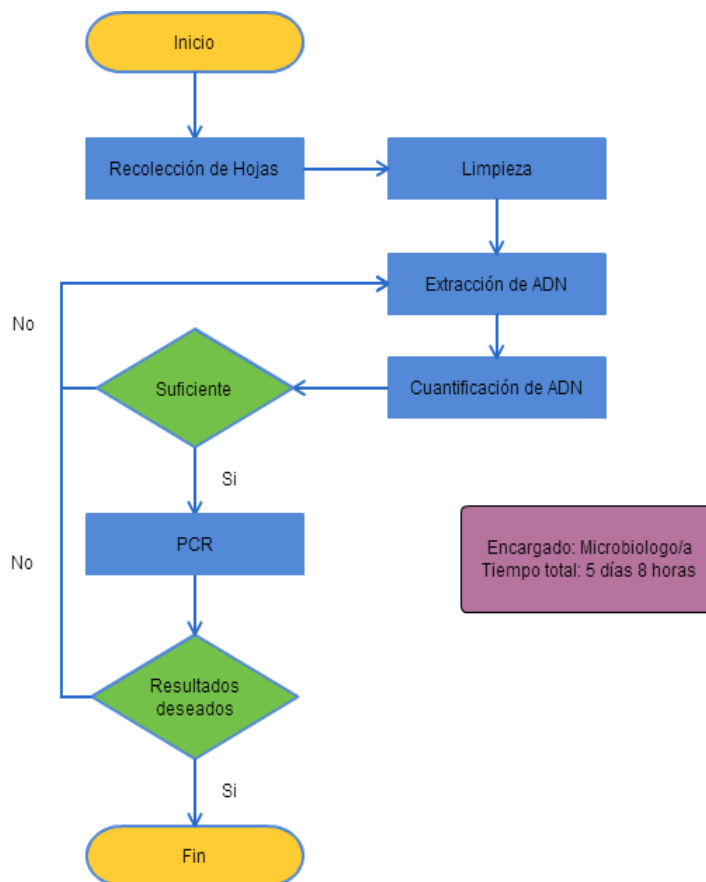
Tabla #12: Inversión requerida

Categoría	Componentes	Costo	Costo por prueba
Reactivos	18	Q 17,589.65	Q 1,370.81
Equipo	10	Q 9,136.55	Q 7,886.80

Maquinaria	11	Q 363,109.5	Q 12.22
------------	----	-------------	---------

El análisis consiste en una serie de cinco pasos, estos son: recolección de muestras, limpieza de hojas, extracción de ADN, cuantificación de ADN, y PCR. En el Diagrama # 3 se puede observar el proceso.

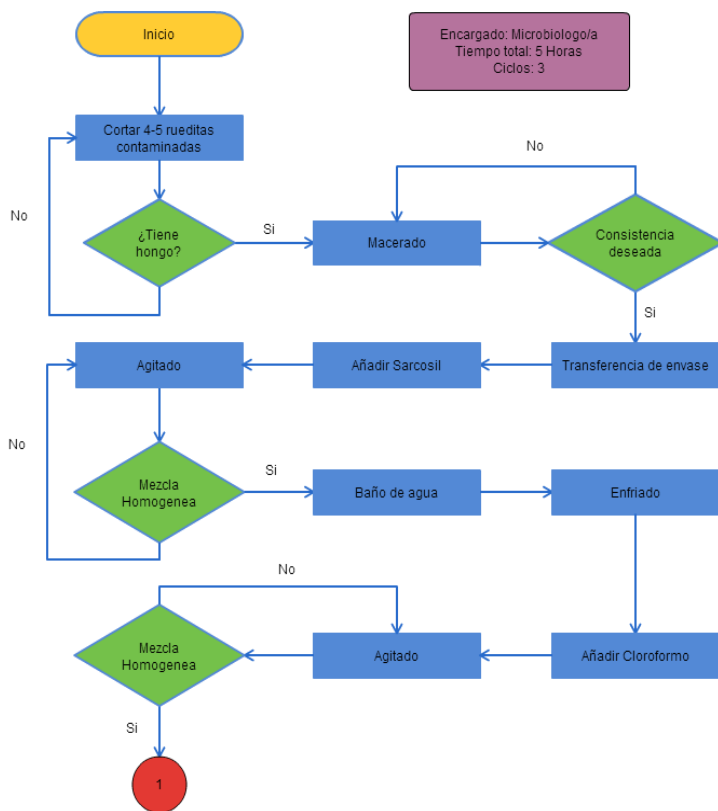
Diagrama #3: Proceso de análisis molecular



Cada etapa es de gran importancia y debe realizarse con la debida atención. La primera es la recolección de muestras, en esta elijen y obtienen las hojas contaminadas de café que vas a ser analizadas, estas deben estar contagiadas por el hongo y presentar lesiones visibles. La segunda etapa del proceso es la limpieza de las hojas, este proceso evita que la hoja que será analizada contenga impurezas o sustancias que puedan alterar los resultados del análisis. El proceso continúa con la extracción de ADN, en esta etapa se obtienen las hebras de ADN deseadas para el análisis que se realizará. El siguiente

paso es la cuantificación, en esta etapa del proceso se analiza la muestra que se extrajo y se evalúa si contiene la cantidad suficiente de hebras de ADN para proseguir con el análisis. Si la muestra no posee la cantidad necesaria para realizar el análisis, se debe realizar nuevamente la extracción. El proceso finaliza en la etapa de PCR en la que se multiplican las hebras de interés, este último paso se realiza ya que con más hebras del fragmento que es relevante es más fácil identificar virus o bacterias que causan la enfermedad.

Diagrama #4: Proceso de extracción



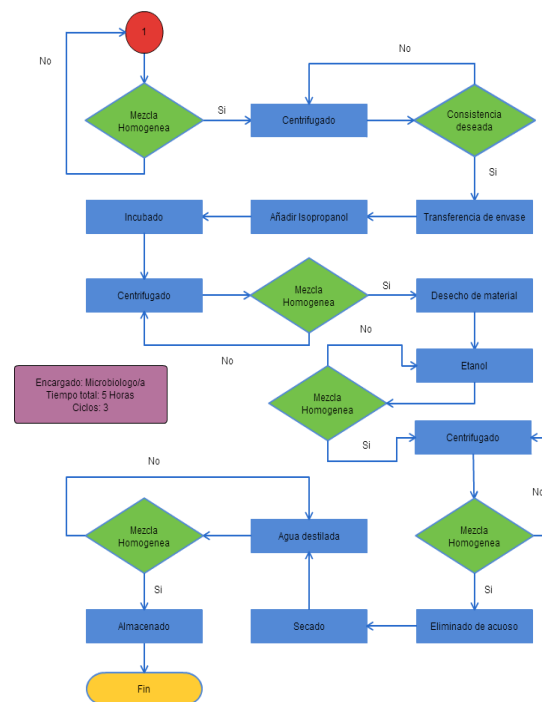
El proceso de extracción comienza por obtener las muestras contaminadas de la hoja, estas deben estar contaminadas con el hongo de manera visual para asegurar que existe contaminación en el muestreo seleccionado. Se procede a macerar las muestras hasta obtener una consistencia licuosa y tenga una apariencia pastosa, se combina con buffer hasta que la muestra sea homogénea.

El buffer, es una solución compuesta por distintas sustancias, este pertenece dentro de una región de pH seleccionada con la finalidad de mantener la célula o ADN en

un ambiente estable. Al describir un ambiente como estable se hace referencia a mantener el ADN o la célula con la que se trabaja en el pH que se desea, evitando que el pH de las demás sustancias utilizadas altere el medio.

Se toma la muestra homogénea y se añade Sarcosil diluido al 5%, nuevamente se mezcla hasta obtener una muestra homogénea, se procede a realizar un baño a 55 °C, se permite que se enfríe y se añade cloroformo a la mezcla, nuevamente se agita hasta obtener una muestra homogénea.

Diagrama #5: Proceso de extracción 2

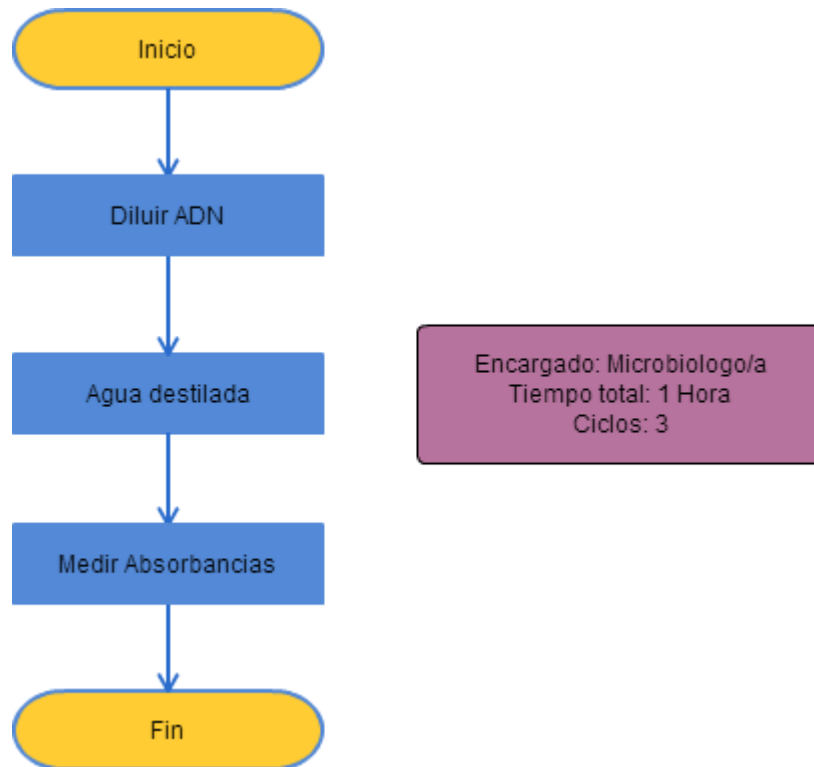


El proceso continúa al introducir la mezcla en una máquina centrifugadora a 13,000 rpm, 4 °C, por 10 min, se realiza un cambio de envase, se añade Isopropanol frío y se deja reposar en una refrigeradora por 1 hora a 0 °C, este tiempo se llama incubación.

Al terminar la etapa de incubación se debe realizar otra sesión de centrifugado bajo las mismas condiciones que la anterior, se procede a eliminar los desechos acuosos y conservar el precipitado. La siguiente etapa consiste en aplicar etanol diluido al 76% y se agita hasta obtener una muestra homogénea, se somete a otro proceso de centrifugado bajo las mismas condiciones, se elimina los desechos acuosos procurando mantener el

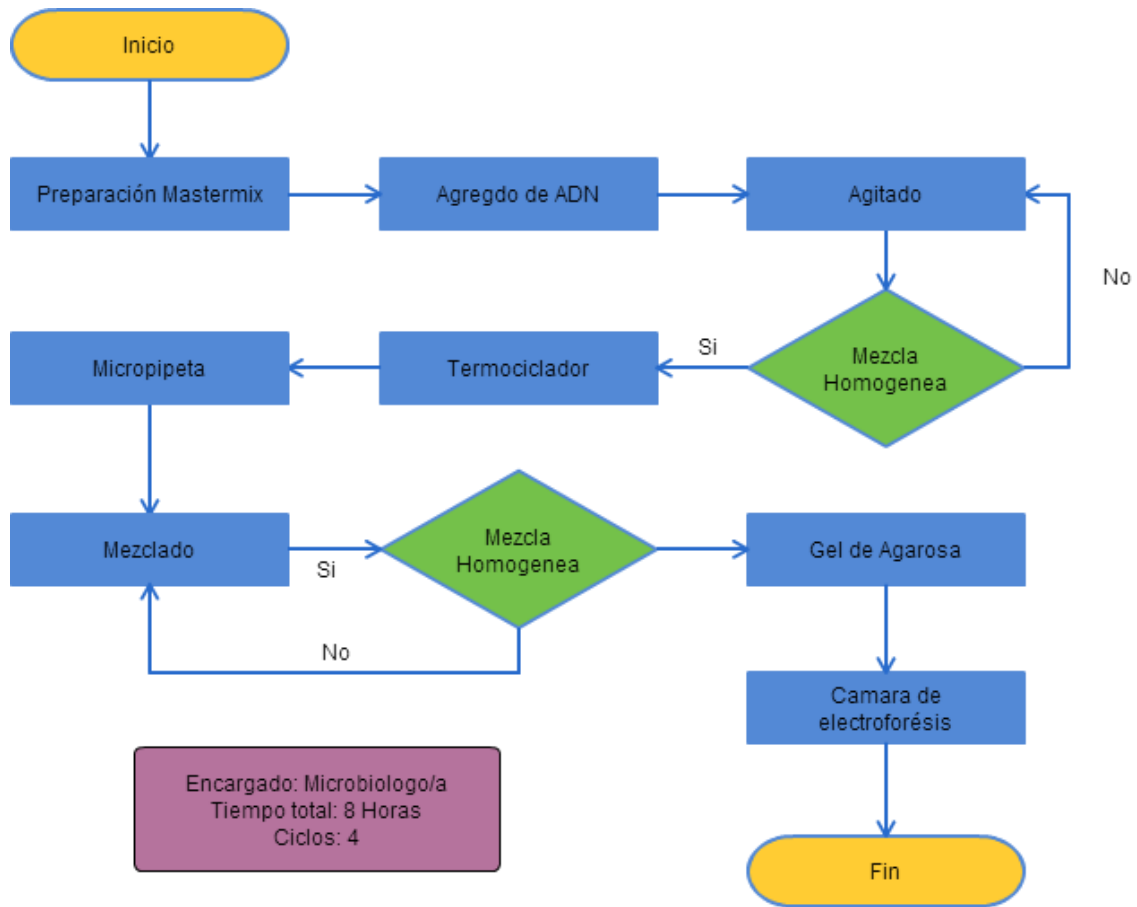
precipitado el cual se deja en reposo para que se seque. El procedimiento continúa al diluir el precipitado seco en agua destilada, agitar hasta tener una mezcla homogénea y almacenar a 5 °C.

Diagrama #6: Cuantificación de AND



La cuantificación comienza con el diluido del precipitado en agua destilada, esta muestra homogénea se analiza y en base a las absorbancias que presente se determina si la muestra es viable para proseguir con el análisis molecular o si debe ser descartada y repetir el proceso de extracción. Si la muestra tiene una cantidad mayor de absorbancias al deseado, la muestra debe ser dissociada logrando las absorbancias deseadas en la medida que se utilicen.

Diagrama #7: PCR



El proceso de PCR es en el que se duplican las hebras deseadas mediante la implementación de un termociclador que altera las temperaturas, comienza con la preparación del Master Mix, un compuesto generado por la combinación de distintos reactivos y componentes.

El Master mix implementado en este análisis consiste en la combinación que contiene dATP 400 micromol, 400 uM micromol dGTP, 400 uM dCTP, 400dTTP, 3 mM micro Mol MgCl₂. La función de esta mezcla es mantener estabilidad del ADN, contiene los nucleótidos que forman la nueva hebra de ADN a partir de los primers.

Una vez se tiene el Master mix se mezcla con el ADN que se desea utilizar después de la cuantificación y se agita hasta obtener una muestra homogénea, esta se

introduce en el termociclador con las indicaciones de temperaturas y tiempos deseados, es en esta etapa en la que se generan nuevas hebras del segmento deseado.

Al terminar la etapa de termociclador la muestra se introduce en una micro pipeta en la que se mezcla con buffer y gel red, esta mezcla se coloca en el gel de agarosa y luego se introduce en la cámara de electroforesis por 1 hora.

El proceso concluye al analizar el gel en una cámara transiluminadora en donde se determina si el experimento ha dado resultados positivos o negativos.

Los resultados posibles son tres, en el gel se tiene dos casillas de control, una con ADN de hongo y una sin ADN, estas casillas determinan si el análisis se realizó de manera adecuada, las demás casillas comprueban si el método es eficiente y funciona.

El primer escenario es aquel en el cual la transiluminadora no muestra nada, esto significa que el proceso de preparación del gel de agarosa y la cámara de electroforesis no se realizó de manera apropiada.

El segundo escenario es aquel en el cual el control sale positivo pero las muestras no presentan resultados. En este escenario el proceso de termociclado se debe repetir o configurar de distinta manera y comprobar que se están generando suficientes hebras, si los resultados no cambian significa que este proceso no es eficiente para la detección de presencia de hongo.

El tercer escenario es aquel en el que el control y las muestras generan resultados positivos, en este caso se comprueba que el método es eficiente para la detección de presencia del hongo.

Los costos de equipos, reactivos, maquinaria y ubicación de ambos escenarios planteados son detallados en la Tabla # 13 en la que se analizan los costos totales de implementación y los costos correspondientes a cada muestra, estos costos se contemplan mediante el costo de maquinaria, terreno y mano de obra correspondientes a las horas laboradas para realizar el análisis. Los datos se pueden hallar con más detalle en la Tabla de costos que se encuentra en anexos.

El mejor escenario para realizar este experimento es el primero, escenario en el que se utilizan las instalaciones universitarias. Esto se debe a que al ser un estudio con fines de investigación, mantener el espacio físico para las pruebas no es necesario y por el tamaño necesario para la implementación del laboratorio, los locales comerciales con precios más accesibles no son rentables ya no permiten una política de renta menor a un año ni sub arrendamientos. Debido al tamaño de los locales se deben alquilar 2, cada uno con una renta mensual de Q 3,917.30 lo que significa que mensualmente el costo por los locales es de Q 7,834.59. Esto involucra un costo por hora, suponiendo que el mes consiste de 30 días, de Q10.73. Los locales que se eligieron en el caso se desee implementar el laboratorio de manera física están ubicados en 2da calle y 2da avenida Z 9.

Tabla #13: Costo unitario por escenario

	Escenario 1	Escenario 2	Costo Unitario 1	Costo Unitario 2
Reactivo	Q 17,598.65	Q 17,598.65	Q 1,370.81	Q 1,370.81
Equipo	Q 9,136.55	Q 9,136.55	Q 7,886.80	Q 7,886.80
Maquinaria	Q 363,109.05	Q 363,109.05	Q 12.22	Q 12.22
Terreno	--	Q 94,015.09	--	Q 472.12
Mano de Obra	Q1,100.00	Q1,100.00	Q1,100.00	Q1,100.00
Total	Q 390,944.25	Q 484,959.45	Q 10,369.81	Q 10,841.95

Al analizar la importancia e intentar justificar la implementación de este proyecto llegamos a un callejón sin salida en el que no podemos comparar de manera directa el costo de implementación y el beneficio que este proyecto otorga.

Estos beneficios se deben analizar con la herramienta de análisis de costo beneficio. Para este análisis lo primero que se debe realizar es definir cuál es el costo y que beneficios otorga implementar el proyecto. La Tabla de costos identifica el costo

monetario de la implementación de un laboratorio capaz de realizar el análisis molecular. Sin embargo, este anexo no considera los daños sociales, políticos y culturales que ha generado la infección. Al ser uno de los productos más importantes en la economía guatemalteca los daños y el costo que ha generado el hongo no se pueden medir en su totalidad.

El tema del hongo no solo afecta en términos económicos, estos a su vez generan distintas situaciones en las que las personas sufren consecuencias severas, por ejemplo desnutrición o falta de educación. Los daños que el país ha sufrido son exorbitantes.

No todos los costos son tangibles, existen también intangibles. Uno de los más valiosos y que no muchos están dispuestos a sacrificar es el tiempo, a esto se le suma el cambio de rutina, los proyectos que se dejan de implementar por realizar el predicho, la seguridad de lealtad. Estos factores son influyentes en la toma de decisiones. El tiempo puede ser medido desde el punto de vista de los inversionistas y del investigador que realiza las pruebas.

Analizando los beneficios que involucra la implementación de este proyecto se pueden enumerar la educación, el conocimiento, comprender al patógeno, mejores técnicas de control y prevención, conocimiento. Ningún beneficio es tangible, pero sin duda el peso y lo que representan generan un valor real ante la inversión que requiere realizar la investigación. Al poseer el conocimiento adecuado y con la implementación debida, los retornos monetarios y tangibles comienzan a surgir, en este caso se aumenta la producción de café, se generan empleos, se imparte educación, el país prospera.

Los beneficios que aporta el proyecto superan el costo que este representa, permitiendo que la implementación sea una buena decisión si el tiempo necesario para que los resultados sean obtenidos y aplicados es un factor que se está dispuesto a sacrificar. Es un proyecto cuyo retorno no será instantáneo pero será gratificante cuando comience a presentarse.

D. Implementación de material didáctico en regiones de producción cafetalera

Utilizando bases de datos proporcionados por Anacafé y MINEDUC se logra determinar las regiones de mayor importancia para la implementación de material didáctico con la finalidad de transmitir conocimiento de los catedráticos a los alumnos. Se identifica el factor que más influye en la educación y resultado de los alumnos así como las fallas en el sistema de educación que estructuran el país.

La Imagen #6 fue adquirida de la base de datos de Anacafé en esta se presenta las áreas de calor y regiones que son cultivadas con café. Es importante destacar que, aunque las mayores densidades se presentan en el sur del país, los departamentos al norte también cuentan con producción.

Imagen #6: Mapa de calor, producción de café en Guatemala



(Anacafé, 2015)

En el tema de educación se comienza delimitando la población guatemalteca dentro de sectores definidos por Anacafé, los cuales se pueden hallar en la Tabla # 14. Una vez se ha definido una clasificación se pueden comenzar a recopilar datos y realizar análisis con la finalidad de comprender la importancia de la producción de café por sector. Utilizando datos de la Tabla # 15 se toman las decisiones pertinentes para priorizar las regiones cuya dependencia de la producción es mayor basados en el número de productores. La Tabla # 16 detalla la producción de café por departamento en un año cafetalero y la Tabla # 17 se genera utilizando datos de las anteriores, estableciendo índices que soportan la priorización de los sectores.

Tabla #14: Regiones de producción cafetalera

Región	Departamentos
I	San Marcos y Quetzaltenango
II	Retalhuleu, Suchitepéquez, y Sololá
III	Escuintla, Sacatepéquez, Chimaltenango, Guatemala y El Progreso
IV	Santa Rosa, Jalapa y Jutiapa
V	Huehuetenango y Quiché
VI	Alta Verapaz, Baja Verapaz
VII	Zacapa, Chiquimula, Izabal y Peten

(Anacafé, 2015)

Tabla #15: Productores por región

Región	Departamento	Productores
I	San Marcos y Quetzaltenango	15,000
II	Retalhuleu, Suchitepéquez, y Sololá	16,011
III	Escuintla, Sacatepéquez, Chimaltenango, Guatemala y El Progreso	15,662
IV	Santa Rosa, Jalapa y Jutiapa	19,094
V	Huehuetenango y Quiché	18,775
VI	Alta Verapaz, Baja Verapaz	29,123
VII	Zacapa, Chiquimula, Izabal y Peten	11,517
Total		125,182

(Anacafé, 2015)

La selección de la región en la cual la producción de café es importante se realiza analizando cinco variables, la respuesta puede variar según el interés que posea el candidato que evalúa los datos. Las variables que se analizan son las siguientes:

- Producción

- Productores
- Producción promedio por productor
- Área cultivada
- Producción por manzana

El primer criterio de evaluación en el que el aspecto económico es el de mayor importancia, la selección de priorización de departamentos en los que se debe implementar la educación se realiza con base en la producción individual por departamento. Analizando los resultados de la Tabla # 16, el sistema de educación se debe implementar en los departamentos de Huehuetenango, Santa Rosa, San Marcos, Chiquimula y Chimaltenango.

Tabla #16: Producción por año cafetalero

Departamento	Producción por año cafetalero en quintales oro				
	2009/2010	2010/2011	2011/2012	2012/2013	2013/2014
Alta Verapaz	237,448	251,817	256,461	255,551	215,751
Baja Verapaz	36,093	39,093	39,814	39,673	33,494
Chimaltenango	335,839	356,161	362,731	361,443	305,151
Chiquimula	384,788	408,072	415,599	414,123	349,627
El Progreso	77,675	82,375	83,895	83,597	70,577
El Quiché	46,458	49,269	50,178	50,000	42,213
Escuintla	204,656	217,040	221,043	220,258	185,955
Guatemala	264,718	280,737	285,915	284,900	240,529
Huehuetenango	670,075	710,622	723,729	721,160	608,845
Izabal	12,460	13,214	13,458	13,410	11,322
Jalapa	293,223	310,966	316,702	315,577	266,429
Jutiapa	88,918	94,298	96,038	95,697	80,793
Quetzaltenango	204,081	216,430	220,423	219,640	185,433
Retalhuleu	56,344	59,753	60,855	60,639	51,195
Sacatepequez	65,557	69,524	70,807	70,555	59,567
San Marcos	407,040	431,671	439,633	438,072	369,845

Santa Rosa	580,470	615,595	626,950	624,724	527,428
Solola	166,015	176,060	179,308	178,671	150,844
Suchitepequez	186,010	197,266	200,904	200,191	169,013
Zacapa	173,607	184,112	187,508	186,842	157,743
Total	4,492,244	4,764,076	4,851,951	4,834,725	4,081,752

(Anacafé, 2015)

El segundo criterio de evaluación en el que la cantidad de personas que se ven afectadas es el de mayor importancia, la selección de priorización de departamentos en los que se debe implementar la educación se realiza de acuerdo a la cantidad de productores afectados ya que, junto con los productores, los familiares e individuos dependientes también se ven afectados. Analizando los resultados de la Tabla # 16, el sistema de educación se debe implementar en los departamentos de Santa Rosa, Jalapa, Jutiapa, Alta Verapaz y Baja Verapaz.

El tercer criterio de evaluación en el que la eficiencia es el factor de mayor importancia, la selección de priorización de departamentos en los que se debe implementar la educación se realiza con base en el volumen promedio producido por productor, este escenario tiene gran importancia ya que la falta de conocimiento puede representar un papel significativo en los resultados. Analizando los resultados de la Tabla # 17, el sistema de educación se debe implementar en los departamentos de Santa Rosa, Jalapa, Jutiapa, Chimaltenango, Guatemala, El Progreso, Escuintla y Sacatepéquez.

Tabla #17: Eficiencia departamental

Región	Producción (Qq)	Área (manzana)	Productores	Producción/ Productores	Eficiencia (Q/M)
I	738,527	76,740	15,000	49.24	9.62
II	553,137	48,538	16,011	34.55	11.40
III	1,039,572	87,015	15,662	66.38	11.95
IV	1,273,799	130,016	19,094	66.71	9.80

V	902,500	47,031	18,775	48.07	19.19
VI	339,210	32,769	29,123	11.65	10.35
VII	708,473	32,538	11,517	61.52	21.77

(Anacafé, 2015)

El cuarto criterio de evaluación en el que el costo beneficio de diversos cultivos es el de mayor importancia, la selección de priorización de departamentos en los que se debe implementar la educación se realiza con base en el área de cultivo individual por departamento. Analizando los resultados de la Tabla # 17, el sistema de educación se debe implementar en los departamentos de Santa Rosa, San Marcos, Huehuetenango, Chimaltenango y Alta Verapaz.

El quinto criterio de evaluación en el que la eficiencia, al igual que el cuarto escenario, es el factor de mayor importancia, la selección de priorización de departamentos en los que se debe implementar la educación se realiza de acuerdo al volumen promedio producido por unidad de área. Analizando los resultados de la Tabla # 18, el sistema de educación se debe implementar en los departamentos de Chiquimula, Huehuetenango, Zacapa, Jalapa y El Progreso.

Tabla #18: Área cultivada e índices departamentales

Departamento	Producción / manzana	Área Cultivada
Alta Verapaz	10.59	27,522
Baja Verapaz	9.13	5,247
Chimaltenango	12.56	32,784
Chiquimula	27.24	17,803
El Progreso	15.57	5,619
El Quiche	11.33	4,925

Escuintla	9.06	20,125
Guatemala	12.58	21,170
Huehuetenango	20.11	42,106
Izabal	5.18	2,992
Jalapa	15.98	21,832
Jutiapa	6.45	18,310
Quetzaltenango	10.14	25,277
Retalhuleu	9.88	6,936
Sacatepéquez	12.54	7,317
San Marcos	9.37	51,463
Santa Rosa	8.98	89,874
Sololá	11.87	18,544
Suchitepéquez	11.47	23,058
Zacapa	17.72	11,743

(Anacafé, 2015)

La recomendación que se considera adecuada está compuesta por la cantidad de criterios que cumple cada departamento. Al ser un producto de gran importancia, los efectos que este refleja no consiste en únicamente un elemento y no afectan solo a un segmento. Basados en el criterio establecido los cinco departamentos en los que se debe implementar el sistema educativo son Huehuetenango, Santa Rosa, Chimaltenango, Jalapa y Jutiapa.

La implementación del material está destinada a los maestros y catedráticos, esta decisión se realiza en base a la importancia que estos tienen sobre los resultados que presenten los alumnos, y a que los maestros no han recibido una educación adecuada.

El canal de distribución que se implementará en las primeras etapas del proceso será de manera directa, esto se debe a que el material didáctico no ha sido evaluado y no es buena decisión implementarlo en gran escala sin saber los efectos que este tiene sobre

los alumnos. La eficiencia de este material será medida y analizada con los resultados de las evaluaciones que generen los catedráticos a los alumnos.

El diseño de los materiales de preprimaria que consiste en memoria y libro de cuentos, se realizó con la ayuda de una estudiante de Diseño Gráfico de la Universidad Rafael Landívar quien cobró por ambos materiales. El libro de cuentos se imprimió en papel bond y contiene 26 hojas, este libro fue encuadernado. La memoria consiste en dos hojas y se utilizó papel “Husky”.

El material destinado a primaria está constituido por dos manuales, el manual de primero a tercer grado contiene un total de 22 hojas, en donde se utilizó papel bond blanco en las hojas del manual y la portada fue impresa con papel fotografía. Todas las hojas tenían color en sus impresiones. El manual que se utilizó de cuarto a sexto grado contiene 21 hojas, en donde las hojas del manual usadas fueron bond blancas y la portada fue impresa en papel fotografía.

Ambos trabajos fueron encuadernados con espiral de metal y una portada transparente.

El nivel de diversificado consiste de un manual que contiene 52 páginas, la impresión a color se realizó en hojas de papel bond y la portada en papel fotográfico. El trabajo se encuadernó con pastas de plástico transparente y espiral de metal

E. Propuesta de mejora, análisis molecular

El proceso de investigación y desarrollo que se ha planteado requiere de un proceso meticuloso cuyo orden no puede ser alterado. Esta propuesta involucra el estudio de procesos y la implementación de análisis para aumentar la eficiencia del proceso. Se hallaron dos áreas en las que se puede mejorar el tiempo empleado del proceso sin alterar los procesos, esto significa que se puede mejorar el sistema de análisis mediante la implementación de distintas herramientas.

La primer parte del proceso que se puede mejorar es la parte en la cual se utiliza el mortero y pistilo, esta acción requiere de tiempo indeterminado pues en base a la humedad que posea la hoja y la fuerza que se aplique será el tiempo necesario para macerar las muestras. La solución es utilizar un pistilo de extracción automatizado, la marca es con-torque. Esto generaría un aumento en los costos de maquinaria y equipo en el escenario en el que se adquiere todo el equipo para instalar el laboratorio. El beneficio de esta implementación se refleja en el tiempo invertido, esfuerzo, y calidad de maceración. El tiempo actual de este proceso toma aproximadamente de 3 a 4 horas, este se podría reducir a 20 min o menos lo que equivale a una mejora de 220 minutos. Otra solución al tiempo del macerado es implementar nitrógeno líquido para sumergir las hojas antes de utilizar el pistilo, este método es muy eficiente con la característica de mantener un precio elevado.

La segunda parte del proceso en la que se puede mejorar la eficiencia en términos de tiempo es en la implementación de la maquinaria llamada vortex. Los el tiempo aplicado durante los procesos de agitado para obtener una mezcla homogénea se verían drásticamente reducidos. El tiempo promedio de agitar las muestras es de 60 s lo que se reduce a 15 segundos y se pueden realizar varias muestras simultáneamente.

En el tema de costos, la universidad cuenta con el equipo necesario para realizar el proceso actual y para implementar las mejoras y reducción de tiempos. Esta opción proporciona una alternativa en la que se puede trabajar en conjunto con la universidad y de esta manera se eliminan los altos costos para instalar el laboratorio y el alquiler de un espacio físico dejando únicamente como costo adquirir los insumos y reactivos necesarios.

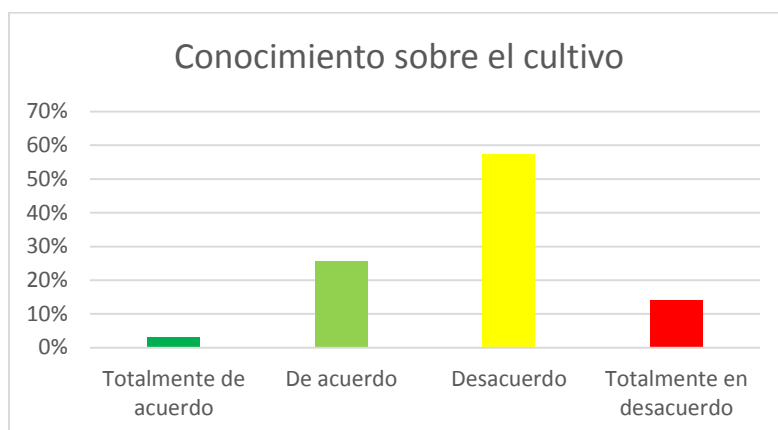
F. Estudio de conocimiento sobre el café en la población guatemalteca

El material didáctico está destinado a educar a la sociedad y mejorar el nivel de vida de las personas mediante la implementación del conocimiento. Respondiendo a la necesidad de implementar el material didáctico y la importancia que la sociedad guatemalteca otorga al conocimiento se realiza la siguiente encuesta como propuesta de

mejora al material didáctico implementado en el proyecto. Esta encuesta tiene contemplado el análisis tanto para personas que beben café como personas que no beben café e involucra preguntas de consumo y de la roya.

Cuando se le pregunta a la sociedad guatemalteca si creen que el guatemalteco posee conocimiento sobre el estatus del café, las respuestas en su mayoría fueron de carácter negativo. Este dato es interesante pues, a pesar de haber respondido un alto porcentaje que si poseían conocimiento sobre la roya, el 57% está en desacuerdo y un 14% totalmente en desacuerdo obteniendo una cifra acumulada de 71% en desacuerdo con que el conocimiento que poseen los guatemaltecos es suficiente, lo que indica que se tiene una falsa idea sobre el conocimiento actual que poseen los guatemaltecos.

Imagen #7: Conocimiento del guatemalteco sobre el cultivo

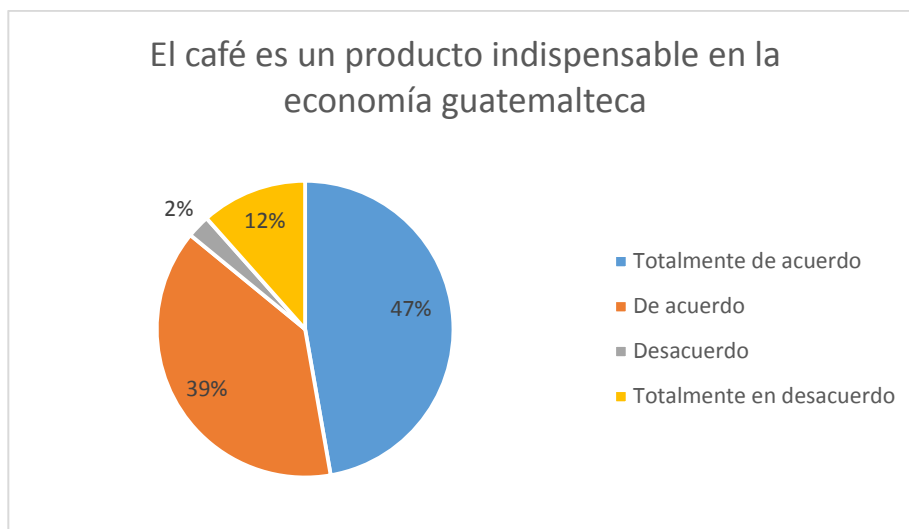


(Datos recopilados, 2015)

El siguiente paso es consiste en analizar cuántas personas consideran que el café es un producto primordial para la economía guatemalteca. Esta pregunta es un complemento a la primera y ambas responden a la interrogante de si la educación sobre el café puede mejorar la situación económica, política y social de Guatemala.

La mayoría de los guatemaltecos está consciente de la importancia del café para la economía del país ya que solo el 14% indica que no tiene importancia.

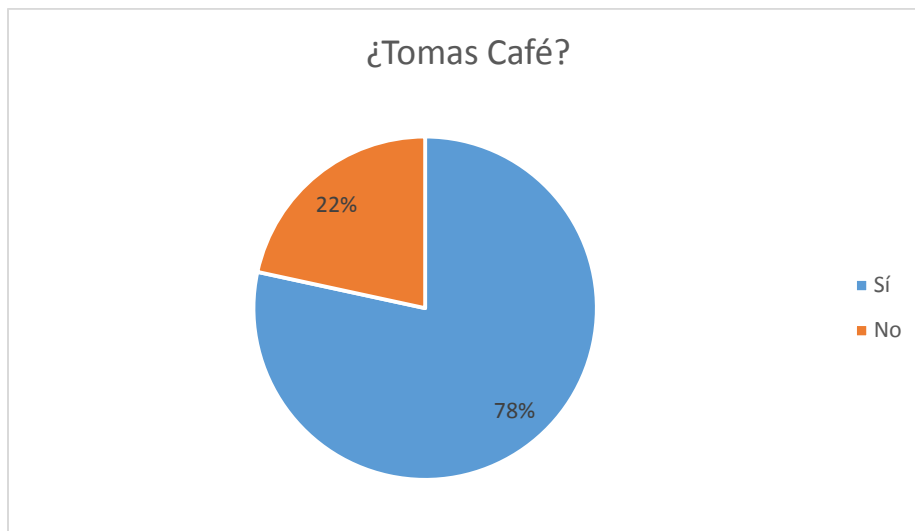
Imagen #8: Importancia del café en la economía guatemalteca



(Datos recopilados, 2015)

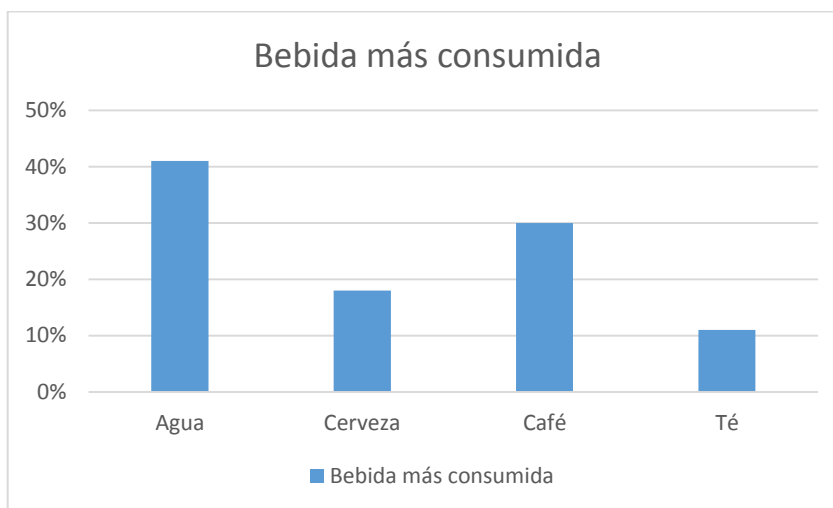
El conjunto de estas preguntas nos indica que los guatemaltecos están conscientes sobre el déficit de conocimiento que posee, y reconocen que se debe tomar acción sobre el tema educando a la población. También se reconoce la importancia del cultivo y los efectos que este genera sobre la economía del país. Las respuestas recopiladas reafirman la importancia de la implementación del material didáctico con la finalidad de educar a la población guatemalteca sobre el cultivo, cuidado y enfermedades del café.

Complementado información sobre los guatemaltecos y su relación con el café se realizaron más preguntas con las que se puede comprender las interacciones que tienen los guatemaltecos con el café. El 78% de las personas que realizaron la encuesta beben café, este lo disfrutan a distintas horas del día y con distintos propósitos. Sin embargo, el 58% indican conocer los efectos del hongo sobre la producción y solo el 21% respondieron de manera correcta los efectos que esta genera sobre la planta.

Imagen #9: ¿Tomas café?

(Datos recopilados, 2015)

Otro aspecto interesante es comprender cuántos guatemaltecos conocen acerca de la demanda y consumo de la bebida de café a nivel mundial. En promedio, la población está consciente que el café es la segunda bebida más consumida en el mundo superado únicamente por el agua. Esta respuesta refleja que la sociedad guatemalteca comprende la demanda de este producto.

Imagen #10: Consumo a nivel mundial

(Datos recopilados, 2015)

Es inevitable que la ignorancia no se presente y en el caso de este estudio se presenta en el tema de las enfermedades del café. La roya es una enfermedad que representa un mayor riesgo y amenaza, esto genera que sea un buen índice para medir el conocimiento acerca de las enfermedades. Esta pregunta obtuvo un 58% de respuestas positivas por lo que se entiende que hay una cantidad significativa de guatemaltecos que no están conscientes de los peligros que afectan la economía y las plantaciones de su país.

La ignorancia acerca de esta plaga y enfermedad continúa generando daños, tanto en ambientes rurales como urbanos. La propuesta de mejora se realiza con la idea de obtener patrocinadores que deseen subsidiar el material y de esta manera aplicar un canal de distribución directo obviando la intervención de terceros que puedan aumentar el costo del material dificultando el acceso al mismo para jóvenes con escasos recursos. Esta propuesta pretende abarcar más personas en menos tiempo por lo que se considera que un método eficiente de distribución es vital para el éxito de la propuesta.

La información y el conocimiento adquirido, recopilado e implementado se deben aplicar a toda Guatemala comenzando por los departamentos en los cuales la caficultura es relevante, este proceso de educación masiva está destinado a ser implementado por otro grupo de alumnos que desee proseguir con el tema de investigación y desarrollo de material didáctico. En esta evaluación de escenarios únicamente se propone la implementación de un canal de distribución eficiente y una alianza estratégica para distribuir el material didáctico en los departamentos previamente mencionados.

G. Metodología para el desarrollo de material didáctico en la comunidad educativa

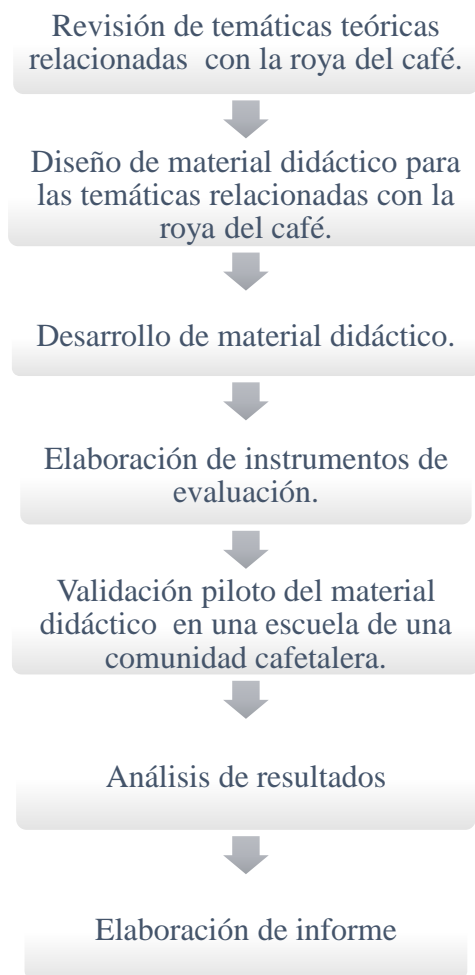
El material diseñado y creado a través de este megaproyecto fue validado como plan piloto de forma técnica tomando en cuenta las características demográficas, educativas y culturales de los docentes que trabajan con los estudiantes de los niveles preprimario, primario y ciclo diversificado del nivel medio. Sin embargo, si se desea expandir este material y utilizarlo en instituciones de otras áreas tanto urbanas como

rurales del país, es importante considerar una readecuación para que éste material siga cumpliendo su objetivo y beneficiar efectivamente a los estudiantes.

El material didáctico fue proporcionado a cada docente para que ellos lo utilizaron con los niños durante aproximadamente un mes. El fin de este proyecto de investigación fue proporcionar a los docentes, herramientas que les faciliten el abordaje de la temática de la Roya con sus estudiantes.

En cuanto al contenido de cada material, es bastante específico. En el caso de preprimaria, la información orienta sobre la importancia del café así como en el tema de la roya del café y cómo ésta afecta a las poblaciones y su impacto económico. En el caso de primaria y diversificado, se utiliza un método deductivo, en el que se analiza la información empezando de un tema general como lo son los seres vivos hasta llegar al impacto que tiene la roya en ecología y en la economía, así como también se considera una parte de concientización ambiental que busca acercar a la gente a la realidad y ver de qué forma pueden contribuir para enriquecer el entorno ambiental.

1. **Estrategia:** La estrategia utilizada para llevar a cabo este megaproyecto se describe en el siguiente diagrama de flujo.

Diagrama #8: Estrategia utilizada

2. **Alcances:** El material didáctico elaborado abarca temas específicos de la roya del café. Fue diseñado para que se pueda utilizar en los diferentes niveles educativos que ofrece la Escuela ubicada en la Finca “Los Andes”, dentro de los cuales se encuentran: preprimario, primario y ciclo diversificado del nivel medio. Se logró diseñar e implementar un manual introductorio teórico práctico sobre la roya del café para el nivel de bachillerato. El contenido considerado en los productos pedagógicos inicia con la organización de los seres vivos y se va desglosando hasta llegar a temas como la historia, el cultivo y la cosecha del café, la roya del café y la concientización ambiental.

3. **Límites:** En cuanto a las limitaciones se puede mencionar la distancia y el difícil acceso a las instalaciones educativas por las condiciones como: clima, mal estado de las carreteras, costos de transporte y falta de apertura por parte de las autoridades de dichas instituciones.

El tema desarrollado en este proyecto, requería el uso de un lenguaje técnico debido a la dimensión científica a la que pertenece. Por lo tanto, en la metodología que se utilizó para la elaboración del material didáctico, fue necesario considerar el nivel educativo de la comunidad con la que se está trabajó, haciendo uso de lenguaje sencillo e imágenes familiarizadas con el contexto en donde se desenvuelven.

Este estudio fue una propuesta validada como pilotaje para evaluar su impacto en la comunidad escolar cafetalera, identificando las modificaciones necesarias para que el material esté específicamente contextualizado y dirigido a los estudiantes pertenecientes a la comunidad cafetalera con la que se trabajó. Tomando en cuenta que cada comunidad posee características distintas, es importante, que si este material se pretende utilizar en una comunidad diferente, se realicen las readecuaciones necesarias.

4. **Componente específico para el desarrollo del material didáctico:** Para sustentar el material didáctico se trabajó una revisión teórica guiada de aspectos de microbiología relacionados con la roya. Esta revisión se realizó semanalmente a lo largo de un semestre con el grupo de estudiantes de psicopedagogía que integran este megaproyecto y una microbióloga del departamento de bioquímica de la Universidad del Valle de Guatemala. Según la población educativa con la que cuenta la escuela, el trabajo se dividió en tres áreas: preprimaria, primaria y ciclo diversificado del nivel medio.

a. **Preprimaria.** En el nivel pre primario, considerando las características y necesidades del aprendizaje de los estudiantes en esta área, al principio se tenía pensado elaborar seis tipos diferentes de material didáctico, pero de acuerdo al tiempo y recursos disponibles solamente se realizaron dos materiales. Proponiendo para un próximo megaproyecto la elaboración de juegos de mesa, entre ellos: tarjetas de secuencia, memoria, “Lupa”, dominó y un “Cafepolis”.

El material desarrollado en este módulo fue un libro de cuentos, el cual se llama “Súper Cafeto y la Malvada Roya”, el cual a través de la fantasía, por la cual se caracterizan los libros de cuentos, explica a los niños la importancia del café y el cuidado del medio ambiente, cómo es que la roya afecta el café y las consecuencias de ello. Además a lo largo de la lectura, se fomentan valores y contiene una parte de reflexión para promover en los niños el análisis e inferencia.

El otro material que se desarrolló fue un juego de memoria, tiene como objetivos que el niño identifique los pasos para plantar, aumente su vocabulario aprendiendo el nombre y el uso de las herramientas que se utilizan y desarrollar habilidades psicomotrices como lo son la percepción, discernimiento, memoria y discriminación visual.

Para desarrollar este material, se tomó en cuenta como fundamento la teoría de la mediación pedagógica la cual percibe al niño como un ser integral, tomando en cuenta las características del desarrollo para desarrollar un material efectivo que atienda a los intereses y capacidades propias de la edad, así como la realidad del contexto de los estudiantes de la población cafetalera. Además, se incluyó la importancia que el juego tiene durante el proceso de aprendizaje, el cual hace que el niño sea un ente activo dentro del mismo y sea capaz de aplicar el conocimiento adquirido a su entorno inmediato.

b. **Primaria.** En el nivel de primaria se tuvieron en mente varias propuestas para que los estudiantes conocieran de mejor forma lo que es la roya y la afección que esta tiene dentro de la comunidad, inicialmente se tenía la idea de un juego de mesa y una ruleta para la mejor comprensión del cultivo del café, sin embargo

se optó por un manual teórico y práctico que buscará introducir al estudiante al tema de la roya del café. Esta propuesta se concretó luego de conocer las características propias de los niños de primaria, y enfocándose también en la manera de trabajo que deben tener los niños en esa etapa escolar y la ejercitación necesaria para conocer la comprensión de lectura de un texto. Se realizaron dos manuales para las dos etapas que existen dentro de la primaria según características físicas, cognitivos y socioemocionales. Un manual de primer a tercer grado y otro de cuarto a sexto grado de primaria.

Teniendo ya la propuesta en mente, se realizó un bosquejo de los temas que era importante incluir en el manual, los cuales se fueron describiendo de forma clara, breve y con lenguaje sencillo. El manual se dividió en partes generales de conocimiento y el manejo de símbolos para que el estudiante y el docente conozcan cada llamada dentro del texto. Dentro del manual se introdujeron pequeños ejercicios y prácticas grupales como preguntas directas luego de una lectura, todo para introducir al niño en el reconocimiento de la roya como tal. Los símbolos enlistados en el manual son:

- ¿Sabías qué?: Para agregar información importante dentro del texto.
- Práctica: Se indica una ejercitación pequeña y creativa con base a los temas dentro de la lectura.
- Importante: Significa prestarle atención extra, para aprender cosas diversas y sacar ideas principales.
- Responde... este símbolo verifica la comprensión de lectura de manera inmediata y se deben de completar algunas preguntas.
- Trabajo en equipo: El trabajo grupal es muy importante para desarrollar diversas estrategias cooperativas y una manera constructiva que incrementan las destrezas de aprendizaje significativo.
- Ejercitación: Este símbolo aparece para verificar las destrezas que se esperan luego de presentar toda la información.

c. **Ciclo diversificado del nivel medio.** Específicamente en el nivel medio se elaboró un manual teórico práctico que busca introducir al estudiante al tema de la roya del café.

Esta propuesta se concretó después analizar cómo la información podía llegar de forma efectiva a los estudiantes. Al principio, se pensó solo en realizar un manual de miniprácticas de laboratorio, que se podrían elaborar con material de fácil acceso sabiendo la condición en la que los estudiantes de la escuela de la comunidad cafetalera aprenden. Después, se vio la necesidad de incluir información relevante relacionada con la temática para enriquecer el proceso de enseñanza y aprendizaje. Por lo cual, se incluyen temas como la organización de los seres vivos, los hongos, la roya del café, historia del café y concientización ambiental. Estos temas se dividieron en capítulos, generando en total 5 capítulos. Los cuales se fueron describiendo de forma clara, breve y con lenguaje sencillo.

Para evaluar la comprensión y el análisis que los estudiantes van desarrollando en el proceso de aprendizaje, se plantearon ejercicios en cada capítulo de información, llamados “Entiendo y aplico”, estos fortalecen el aprendizaje adquirido en cada capítulo.

También se incluyó una sección llamada “Mini-práctica” la cual consiste en listar algunas actividades para que el estudiante pueda realizar en el exterior de la escuela, en su entorno inmediato. Pudiendo así, aplicar algunos aprendizajes y ver de qué forma se relacionan con la vida cotidiana.

Al final de cada capítulo se le pide al estudiante que analice y escriba lo que ha aprendido en el capítulo, en la parte titulada “¿Qué aprendiste en este capítulo?”. Además de incluir una parte llamada “¿Qué aprenderás en el siguiente capítulo?” donde se indican algunos aprendizajes puntuales que se desarrollarán en el capítulo siguiente, estableciendo la relación entre capítulos.

Después también se pensó en que el manual además de ser informativo, podía apoyar paralelamente la educación formal desarrollando habilidades de organización de información y destrezas de aprendizaje. Por lo que se incluyó al principio de cada

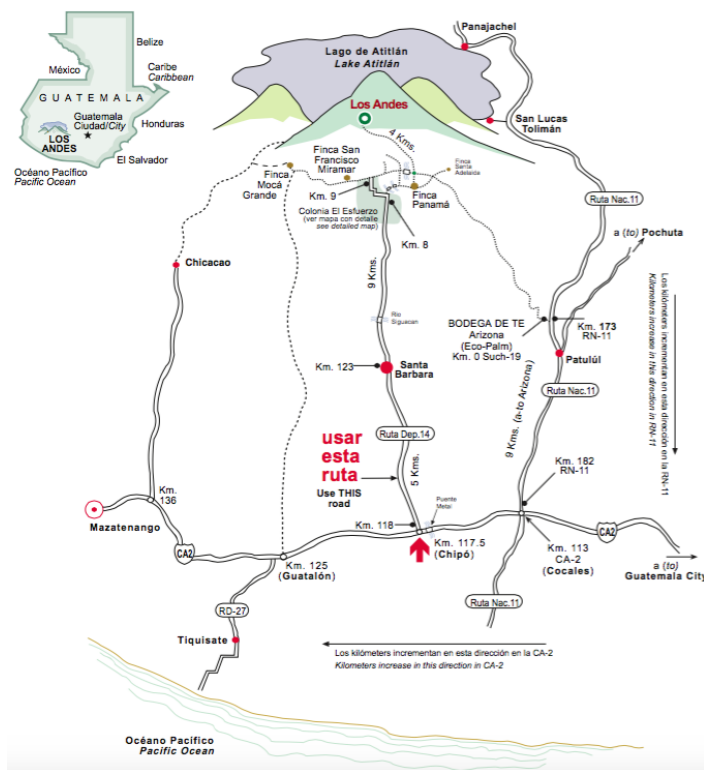
capítulo una descripción del mismo así como una sección de objetivos y otra de actividades en donde se enfocan una o dos estrategias de aprendizaje como: mapas mentales, cuadros sinópticos, síntesis, diagrama de flujo, línea de tiempo, mapa conceptual, diagrama de venn que los estudiantes deberán elaborar al finalizar la lectura del capítulo así como un glosario al final del manual donde el estudiante tendrá que ir anotando las palabras desconocidas para buscarlas en el diccionario, desarrollando ésto como una destreza.

Entonces al final, el material didáctico propuesto para bachillerato cuenta con una sección informativa dividida en 5 capítulos, una sección de ejercicios por capítulo, una sección de miniprácticas de laboratorio por capítulo y la sección de destrezas de aprendizaje generales.

5. Acciones específicas del componente. Se realizó una visita a la finca “Los Andes” para entregar el material didáctico a cada docente y capacitarlos para la utilización del mismo.

La finca “Los Andes” es una reserva natural en donde vive una comunidad de 35 familias las cuales trabajan en labores agrícolas de café, macadamia, entre otras. Atiende a niños de estas familias y cuenta con una escuela que funciona con el sistema ERA. Cuentan con aproximadamente 31 alumnos de primaria quienes son atendidos por dos maestras, 12 alumnos de preprimaria atendida por otra maestra y algunos estudiantes del nivel medio del nivel diversificado que reciben clases por medio de la metodología de IGER descrita anteriormente. Cuentan con la asesoría de Funcafé quien supervisa, evalúa y da seguimiento a los programas de higiene de los niños y control médico.

Imagen #11: Mapa de finca “Los Andes”



Responsable de la finca: Jaime Freire

Facilitadora: Dra. Dalia Lau quien es catedrática del departamento de Bioquímica de la Universidad del Valle de Guatemala.

Objetivos: El objetivo de la visita fue conocer el contexto de la finca como tal, los recursos con los que cuenta, los antecedentes en cuanto a la roya del café y el acercamiento a la comunidad educativa.

Se llevó a cabo una visita de 10 horas el día sábado 19 de octubre de 2015 a esta finca la cual se ubica en el kilómetro 133 en el municipio de Santa Bárbara del departamento de Suchitepéquez.

Se realizó una actividad especial el día de la visita por parte de los niños de la escuela como parte del recibimiento, se observó e identificó la forma de trabajo de la escuela (guías de autoformación), se platicó con las maestras sobre su metodología de

clase, qué temas abarcaban, etc. Se entregó el material a cada maestra y se dio una capacitación a los docentes sobre el uso del material y la labor de las psicopedagogas dentro del megaproyecto.

Evaluación de los aprendizajes: en cuanto a la evaluación los docentes trabajaron durante un mes aproximadamente con los estudiantes y así evaluar los aprendizajes, se aplicaron los instrumentos descritos anteriormente para esta evaluación.

Recursos: El transporte fue proporcionado por la Universidad del Valle de Guatemala. La Universidad solventó los gastos de transporte para la ida y el regreso de la finca siendo un total de Q1600.00. El material que se proporcionó a la escuela, tuvo un costo de impresión y encuadernación que es Q.267.00.

Reflexión y validación: Al principio al proponer y diseñar el material didáctico solo se tomó en cuenta el contexto y las condiciones en las que vivían los niños, pero al hacer la visita se pudo apreciar el entorno donde vive la comunidad cafetalera, cuál es su labor diaria, se conoció la escuela, a las maestras y a los niños. Esto brindó una perspectiva diferente al trabajo y permitió contextualizar un poco más el material. Realmente las condiciones de aprendizaje son precarias porque no tienen suficientes materiales didácticos ni útiles escolares, y aun así se pueden implementar estrategias, siguiendo la teoría de la mediación pedagógica, que no requieren de recursos y lujos, solo requiere creatividad de parte del facilitador. Los docentes deben estar capacitados y fortalecidos académicamente para que puedan orientar y promover un aprendizaje significativo en los estudiantes.

6. Instrumentos de validación para el material didáctico. Para evaluar el impacto del material didáctico en la comunidad cafetalera, se elaboraron dos instrumentos:

- Instrumento de validación Pre-test y Post-test (ver en anexo).
- Instrumento para validación del material didáctico (ver en anexos).

El instrumento de validación pre-test y post-test fue desarrollado para detectar las necesidades y capacidades de la población escolar de la finca, así como realizar una evaluación del contexto para el que se desarrolló el material didáctico. Este instrumento consistió en indagar sobre el dominio del tema de la roya del café por parte de los maestros, así como la disponibilidad y utilización de material didáctico, así como si han recibido capacitaciones relacionadas con la temática. Este instrumento fue aplicado tanto antes de la fase de implementación del material como después de la misma, determinando así el impacto y la utilidad que tuvo el material en los maestros.

Con respecto al instrumento para validación del material didáctico, se tomaron en cuenta los siguientes aspectos: presentación, diseño, contenido y aplicabilidad del material para evaluar la calidad del material. En la sección de presentación se evaluaron aspectos relacionados con la estructura del material, dentro de los cuales se pueden mencionar: carátula, índice, objetivos y bibliografía. En la sección de diseño se evaluó el tipo y tamaño de letra, márgenes, la densidad de la información así como la organización del texto e imágenes. Con respecto al contenido se evaluó vocabulario, conceptos básicos y generales, si respondía a los objetivos y si va de acuerdo al nivel escolar de los estudiantes, utilizando un lenguaje sencillo. Por otro lado, en la sección de aplicabilidad del material se evaluó una lista de aspectos relacionados a la población a la que iba dirigida, por ejemplo: si el lenguaje fue apropiado para la edad de la población, si fue fácil de comprender, si las estrategias facilitaron el trabajo en clase y si se propició la sensibilización en los estudiantes y la búsqueda del cuidado del medio ambiente. Estos aspectos fueron valorados con la siguiente escala: 1. Necesita mejorar, 2. Satisfactorio, 3. Muy bueno, 4. Excelente.

En referencia a la sistematización de la validación, se realizó una validación interna y luego una validación externa en la escuela de una comunidad cafetalera. La primera consistió en la revisión detallada del material didáctico realizando las modificaciones necesarias brindadas por un profesional de la educación de la Universidad del Valle de Guatemala. La externa se llevó a cabo en la escuela de la Finca “Los Andes”, en donde se entregó a cada docente una copia del material creado para cada uno

de los niveles escolares. La cual utilizaron con los estudiantes durante aproximadamente un mes y evaluaron su efectividad mediante el instrumento de validación mencionado anteriormente.

De acuerdo al instrumento de validación pre-test y post-test se obtuvieron los siguientes resultados: Los docentes carecen de material didáctico que aborde el tema de la roya del café, tampoco han recibido capacitaciones, cursos o talleres que se relacionen con la temática a pesar de encontrarse en un finca donde se siembra, se cultiva y se produce el café. Sin embargo, los docentes consideran que es importante incluir dentro del pènsum educativo el tema de la roya del café “porque viven rodeados de café” y es “la base fundamental de la finca”

En la aplicación del post-test se evidenció que el material didáctico diseñado específicamente para el nivel de primaria permitió el abordaje de la temática de la roya de manera muy general con los estudiantes y los maestros hicieron la mención que el material necesitaba mayor abordaje de la temática de la roya, ya que se enfocó en conocimiento general de los reinos y hongos y poco en cuanto a la roya. Como esto fue un piloto donde se pretendía conocer las condiciones de la finca el material les sirvió de mucha ayuda para desarrollar nuevas destrezas con sus estudiantes.

Además menciona que cuenta con conocimiento del tema derivado de la capacitación recibida el día la visita de las estudiantes de Psicopedagogía a la escuela.

Con base en el instrumento de validación de material didáctico, el cual fue diseñado para evaluar la calidad de este, los resultados demuestran que: el material cuenta con la estructura adecuada y resulta atractivo según su diseño, el contenido incluye conceptos, básicos y generales, un vocabulario adecuado al nivel escolar de los estudiantes y a sus necesidades, los maestros hicieron la mención de realizar el manual de acuerdo al trabajo dentro de la escuela, con las guías de aprendizaje que los estudiantes ya están acostumbrados a utilizar y proporcionando más información con respecto a la roya para que puedan conocer más de ese contexto.

El diseño evaluado por los maestros demostró ser adecuado y el contenido pertinente a los objetivos planteados en el manual.

7. Sistematización de la validación y resultados. En referencia a la sistematización de la validación, se realizó una validación interna y luego una validación externa en la escuela de una comunidad cafetalera. La primera consistió en la revisión detallada del material didáctico realizando las modificaciones necesarias brindadas por un profesional de la educación de la Universidad del Valle de Guatemala. La externa se llevó a cabo en la escuela de la Finca “Los Andes”, en donde se entregó a cada docente una copia del material creado para cada uno de los niveles escolares. La cual utilizaron con los estudiantes durante aproximadamente un mes y evaluaron su efectividad mediante el instrumento para validación del material didáctico mencionado anteriormente.

VI. RESULTADOS

A. Pruebas moleculares de detección de genes virulentos

Los resultados se dividen en dos segmentos, la parte de bioinformática y la de laboratorio. La primera sirvió como base para el siguiente paso, el trabajo en el laboratorio. Para ello, se basó en los artículos publicados por Talhinhos et al. (2014) y Cristancho et al. (2014). Los genes seleccionados (proteínas secretadas) secuenciados por Talhinhos et al. (2014) fueron comparados en el genoma parcial ensamblado por Cristancho et al. (2014).

Tabla #19: Genes de Virulencia

Genes que codifican para proteínas secretoras en las esporas de *Hemileia vastatrix* que se encuentran en el genoma parcial del hongo, en contig donde se encontró y el porcentaje de identidad.

Nombre del gen	Contig del genoma	% de identidad
Hv01268	Contig_116415	0.99623704
Hv00297	Contig_6238	0.99729484
Hv00303	Contig_20932	0.9940222
Hv00357	Contig_230428	0.997003
Hv01506	Contig_24199	0.996357

En la Tabla # 19 se observan los resultados que se obtuvieron con el programa Jaligner. El Contig del genoma se refiere al sitio donde fue encontrado dicho gen en el

genoma parcialmente ensamblado. El porcentaje de identidad está sobre 1, siendo 1 el más homólogo en la información genética. De los 8 genes seleccionados descritos por Talhinhos et al. (2014), solamente se encontraron 5 genes dentro del genoma parcial ensamblado por Cristancho et al. (2014).

Tabla #20: Función y homología de los genes encontrados

Nombre	Gen	Función
Hv01268	Superóxido dismutasa manganeso	Metabolismo de estrés oxidativo
Hv00297	Superóxido dismutasa manganeso	Metabolismo de estrés oxidativo
Hv00303	RTP1	Proteína receptora y transportadora
Hv00357	RTP1	Proteína receptora y transportadora
Hv01506	HESP-178	Proteínas secretadas del haustorio

En la Tabla # 20 se observan los genes seleccionados, el posible nombre (según la homología con otros genes de otras especies de royas) y su función potencial. Talhinhos et al. (2014) lograron comparar dichos genes en datos previamente publicados, estando, los indicados, involucrados en las primeras etapas de la germinación del hongo en la planta. En el Cuadro 6 (Sección Anexos) se encuentra la secuencia de dichos genes, y los cuales fueron utilizados para el diseño de los primers.

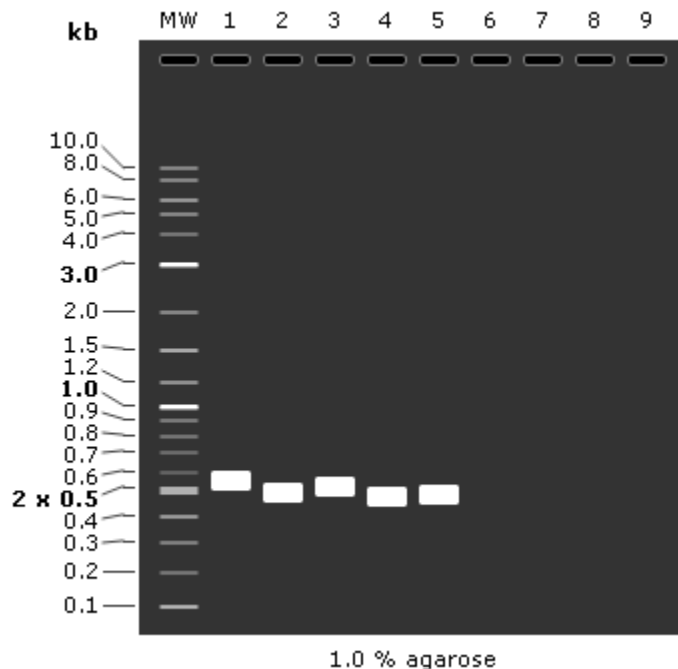
Tabla #21: Secuencia de los primers obtenidos

Código	Nombre	Primer izquierdo	Primer derecho
Hv1	Hv0126 8	GGCCCAGATGAATGTTTCA C Tm = 60.33	TTCACAACGTCCCAGAACA A Tm = 60.13
Hv2	Hv0029 7	GCCAATCCGTGTTTCTTGA T Tm = 59.94	GGCATTGATCTCCTTTTGG A Tm = 60.01
Hv3	Hv0030 3	GCTTTTCTCGCATTTTGCTT Tm = 59.61	CTGCCATTTGGAAAAGTTG C Tm = 60.62
Hv4	Hv0035 7	CGTACGCAGTCGTTAAAG CA Tm = 60.07	ACCAGCCAAACGAAATGA AG Tm = 60.11
Hv5	Hv0150 6	TCAGAGGAGTTCGCATTGT G Tm = 59.98	CTTACTTGGTGCACGCTTC A Tm = 60.05
ITS	ITS1 y 2	TCCGTAGGTGAACCTGCG G	GCTGCGTTCTTCATCGATG C

En la Tabla # 21 se observan los primers obtenidos por el programa Primer 3, en donde se especifica el primer izquierdo (forward) y el primer derecho (reverse). Con estos oligos se procedió a la realización de un PCR in silico y un gel de agarosa simulado con el programa Snapgene, mostrado en la Figura 12. El producto amplificado no abarca todo el gen, ya que es producto de 500pb aproximadamente y el gen es de 1200pb aproximadamente.

Imagen #12: Gel de Agarosa simulado de los resultados de PCR in silico

Gel de Agarosa simulado de los resultados de PCR in silico utilizando el programa SnapGen. Pozo 1 (Hv01268), Pozo 2 (Hv00297), Pozo 3(Hv00303), Pozo 4 (Hv00357) y Pozo 5 (Hv01506). Producto final: 1 (600pb), 2 (536pb), 3 (567pb), 4 (521pb), 5 (529pb).



En el segundo segmento, posteriormente a la extracción de ADN, se realizó la cuantificación de ADN por fluorometría (Cuadro 5), el cual incluye ADN de planta y otros posibles organismos no identificados

Tabla #22: Concentración de ADN utilizando Quantus™ fluorometer

Muestra	Concentración (ng/ul)
P1n	8.8
P1v	12
P2n	13
P2v	44
P3n	15
P3v	20
P4n	8.1
P4v	7.6
P5n	8.4
P5v	6.3
P6n	0.573
P6v	23
nC-	24
vC-	33
C+	56
L	2.64

En la Tabla # 22 se observa las concentraciones obtenidas de las muestras y los controles utilizando el protocolo descrito anteriormente. Se muestra que las concentraciones son muy bajas por lo que se decidió, para las pruebas de optimización del PCR, utilizar tres muestras: control positivo (C+) por tener la concentración más alta, control negativo (nC-) y la muestra P5v por tener la concentración más baja (sin contar P6n que se eliminó por tener una concentración cercana a cero). El sufijo n- se refiere a hoja nueva y el v- a hoja vieja. P# se refiere al número de planta donde se recolectó la hoja. L se refiere (*Candida albicans*).

Imagen #13: Gel de integridad de ADN 1

Gel de agarosa 0.8% de integridad del ADN de las muestras extraídas. Pozo 1: escalera 100pb (no se observa), Pozo 2: vacío, Pozo 3: P1n, Pozo 4: P1v, Pozo 5: P2n, Pozo 6: P2v, Pozo 7: P3n, Pozo 8: P3v, Pozo 9: P4n, Pozo 10: vacío, Pozo 11: P4v, Pozo 12: P5n, Pozo 13: P5v, Pozo 14: P6n, Pozo 15: escalera 100pb (no se observa). Peso estimado del producto: 1,000pb.

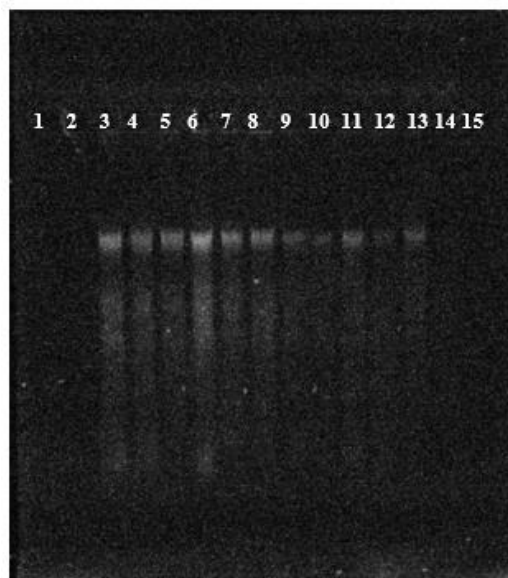
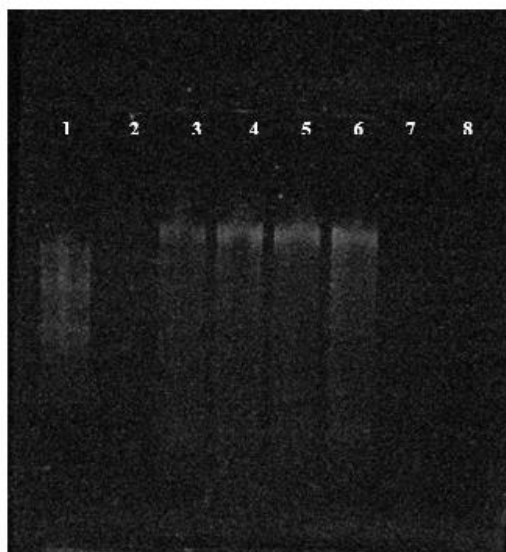


Imagen #14: Gel de integridad de ADN 2

Gel de agarosa 0.8% de integridad del ADN de las muestras extraídas. Pozo 1: escalera 100pb, Pozo 2: P6n, Pozo 3: P6v, Pozo 4: nC- (control negativo hoja nueva), Pozo 5: vC- (control negativo hoja vieja), Pozo 6: C+, Pozo 7: escalera 100pb (no se observa), Pozo 8: vacío. Peso estimado del producto: 1,000pb.



En las Imágenes: 13 y 14 se observan geles de integridad con gel de agarosa 0.8% para la comprobación del estado del ADN extraído. Se muestra que no están degradados ya que sí se observa la banda principal y también suficiente cantidad para proseguir con el PCR. Las escaleras se observan degradadas por lo que no se distingue las bandas.

Imagen #15: Gel de electroforesis con PCR convencional 1

2% para productos de PCR (utilizando un promedio de anillamiento de todos los primers “57°C”). Pozo 1: escalera 100pb, Pozo 2: Hv1 C+, Pozo 3: Hv1 nC-, Pozo 4: Hv1 P5v, Pozo 5: Hv2 C+, Pozo 6: Hv2 nC-, Pozo 7: Hv1 P5v, Pozo 8: Hv3 C+, Pozo 9: Hv3 nC-, Pozo 10: Hv1 P5v, Pozo 11: Hv4 C+, Pozo 12: Hv4 nC-, Pozo 13: Hv1 P5v, Pozo 14: escalera 100pb, Pozo 15: vacío.

**Imagen #16:** Gel de electroforesis con PCR convencional 2

2% para productos de PCR (utilizando un promedio de anillamiento de todos los primers “57°C”). Pozo 1: Hv5 C+, Pozo 2: Hv5 nC-, Pozo 3: Hv5 P5v, **Pozo 4: ITS C+, Pozo 5: ITS nC-, Pozo 6: ITS P5v**, Pozo 7: escalera 100pb, Pozo 8: vacío. Peso estimado del producto: 500pb.



En las imágenes 15 y 16 no se observan las bandas del producto de PCR de los primer Hv1 al Hv5 (siendo Hv01268, Hv00297, Hv00303, Hv00357 y Hv01506). Sí se observan las bandas de los primers ITS, los cuales determinan presencia de hongo (cualquier hongo). Se observan mucha concentración de ADN (bandas corridas). Las escaleras se observan degradadas por lo que no se distingue las bandas.

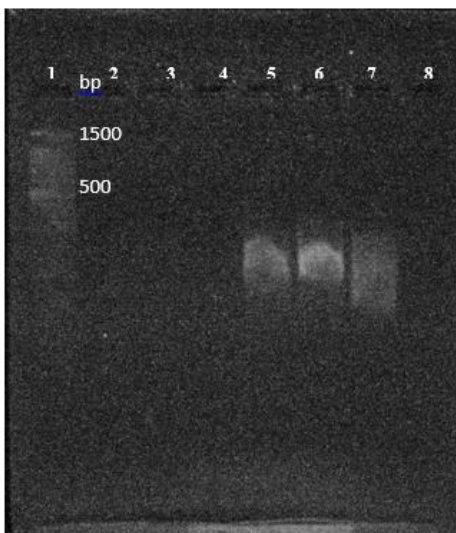
Imagen #17: Gel de electroforesis con PCR touchdown 1

2% para productos de PCR (utilizando Touchdown PCR). Pozo 1: escalera 100pb, **Pozo 2: Hv1 C+**, Pozo 3: Hv1 nC-, Pozo 4: Hv1 P5v, **Pozo 5: Hv2 C+**, Pozo 6: Hv2 nC-, Pozo 7: Hv1 P5v, **Pozo 8: Hv3 C+**, Pozo 9: Hv3 nC-, Pozo 10: Hv1 P5v, **Pozo 11: Hv4 C+**, Pozo 12: Hv4 nC-, Pozo 13: Hv1 P5v, Pozo 14: escalera 100pb, Pozo 15: vacío. Peso estimado del producto: no se observa.



Imagen #18: Gel de electroforesis con PCR touchdown 2

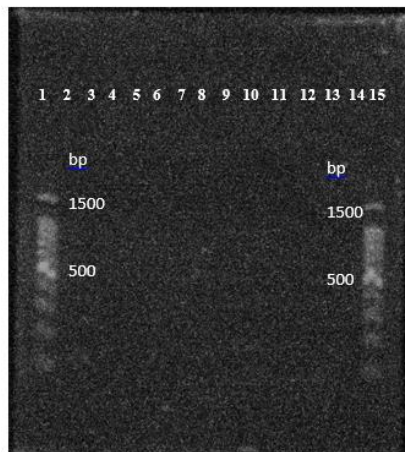
2% para productos de PCR (utilizando Touchdown PCR). Pozo 1: escalera 100pb, Pozo 2: Hv5 C+, Pozo 3: Hv5 nC-, Pozo 4: Hv5 P5v, **Pozo 5: ITS C+**, **Pozo 6: ITS nC-**, **Pozo 7: ITS P5v**, Pozo 8: vacío. Peso estimado del producto: menor a 500pb (200pb).



En la Imagen 17 se observan bandas en los controles positivos (C+) de 4 set de primers Hv5 (siendo Hv01268, Hv00297, Hv00303, Hv00357) y ausencia de bandas en el control negativo (nC-) y la muestra P5v. En la Imagen 18 no se observa presencia de banda en ninguno de las muestras del primer Hv01506, pero sí se observa banda de las tres muestras con el primer ITS.

Imagen #19: Gel con PCR touchdown con cambios en el anillamiento 1

Gel de electroforesis con agarosa 1.5% para productos de PCR (Touchdown PCR). Pozo 1: escalera 100pb, Pozo 2: Hv1 C+, Pozo 3: Hv1 vC-, Pozo 4: Hv1 L, Pozo 5: Hv1 P2v, Pozo 6: Hv1 P4v, Pozo 7: Hv2 C+, Pozo 8: Hv2 vC-, Pozo 9: Hv2 L, Pozo 10: Hv2 P2v, Pozo 11: Hv2 P4v, Pozo 12: Hv3 C+, Pozo 13: Hv3 vC-, Pozo 14: Hv3 L, Pozo 15: escalera 100pb.

**Imagen #20:** Gel con PCR touchdown con cambios en el anillamiento 2

Gel de electroforesis con agarosa 1.5% para productos de PCR (Touchdown PCR). Pozo 1: escalera 100pb, Pozo 2: Hv3 P2v, Pozo 3: Hv3 P4v, Pozo 4: Hv4 C+, Pozo 5: Hv4 vC-, Pozo 6: Hv4 L, Pozo 7: Hv4 P2v, **Pozo 8: Hv4 P4v**, Pozo 9: Hv5 C+, Pozo 10: Hv5 vC-, Pozo 11: Hv5 L, Pozo 12: Hv5 P2v, **Pozo 13: Hv5 P4v**, Pozo 14: ITS C+, Pozo 15: escalera 100pb. Peso estimado del producto: 1,000pb.

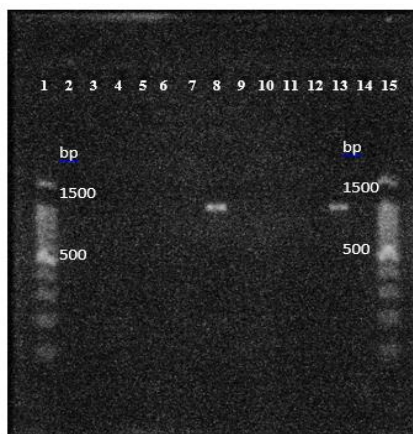
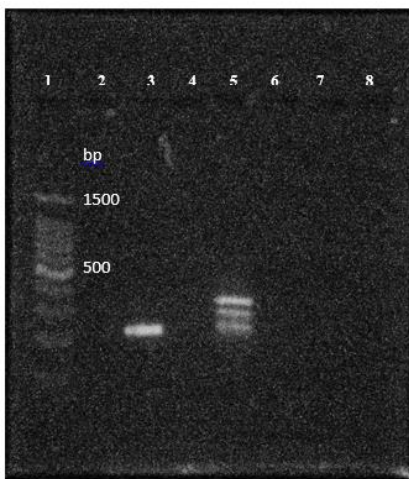


Imagen #21: Gel con PCR touchdown con cambios en el anillamiento 3

Gel de electroforesis con agarosa 1.5% para productos de PCR (Touchdown PCR). Pozo 1: escalera 100pb, Pozo 2: ITS vC-, **Pozo 3: ITS L**, Pozo 4: ITS P2v, **Pozo 5: ITS P4v**, Pozo 6: vacío, Pozo 7: vacío, Pozo 8: vacío. Peso estimado del producto: 250 – 300pb.



En la Imagen 19 no se observan bandas en ninguno de las muestras. En la Imagen 20 se observan dos bandas, en la pozo 8 y 13, los cuales pertenecen a los primer Hv4 y Hv5 de la muestra P4v. En la Imagen 21 se observan una banda en el pozo 3, primer ITS de L (levadura) y varias bandas en el pozo 5, primer ITS de la muestra P4v.

Imagen #22: Gel con PCR touchdown con cambios en el anillamiento 4

Gel de electroforesis con agarosa 1.5% para productos de PCR (Touchdown PCR). Pozo 1: escalera 100pb, Pozo 2: Hv1 P1n, Pozo 3: Hv1 P1v, **Pozo 4: Hv1 P2n, Pozo 5: Hv1 P3n, Pozo 6: Hv2 P1n**, Pozo 7: Hv2 P1v, **Pozo 8: Hv2 P2n, Pozo 9: Hv2 P3n**, Pozo 10: Hv3 P1n, Pozo 11: Hv3 P1v, **Pozo 12: Hv3 P2n, Pozo 13: Hv3 P3n**, Pozo 14: Hv4 P1n, Pozo 15: escalera 100pb. Peso estimado del producto: entre 1,500 a 1,000pb y 900pb.

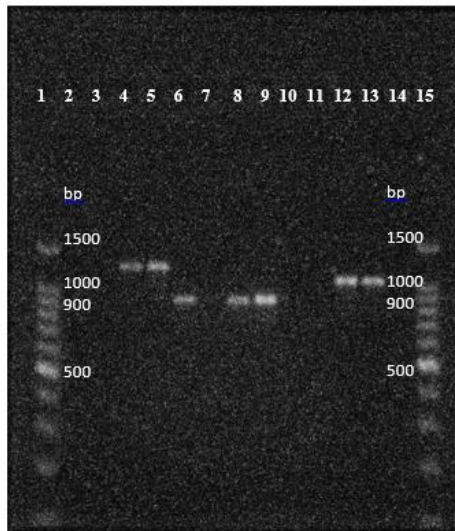
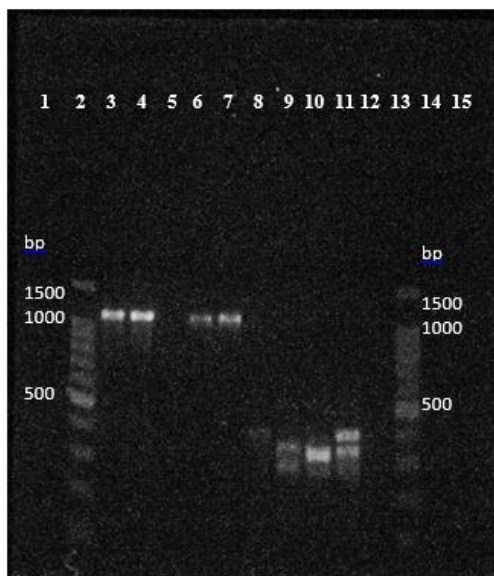


Imagen #23: Gel con PCR touchdown con cambios en el anillamiento 5

Gel de electroforesis con agarosa 1.5% para productos de PCR (Touchdown PCR). Pozo 1: Hv4 P1v, Pozo 2: escalera 100pb, **Pozo 3: Hv4 P2nv, Pozo 4: Hv4 P3n**, Pozo 5: Hv5 P1v, **Pozo 6: Hv5 P2n, Pozo 7: Hv5 P3n, Pozo 8: ITS P1n, Pozo 9: ITS P1v, Pozo 10: ITS P2n, Pozo 11: ITS P3n, Pozo 12: Hv5 P1n**, Pozo 13: escalera 100pb, Pozo 14: vacío, Pozo 15: vacío. Peso estimado del producto: arriba de 1,000pb, 400-300pb.



En la Imagen 22 se observan bandas en los pozos 4 y 5 para primer Hv1 (muestras P2n y P3n); en los pozos 6, 8 y 9 para primer Hv2 (muestra P1n, P2n y P3n) y pozos 12 y 13 (muestras P2n y P3n). En la Imagen 23 se observan bandas en los pozos 3 y 4 para primer Hv4 (muestras P2n y P3n), pozos 6 y 7 (muestras P2n y P3n), pozo 8 y 9 se observan bandas muy degradadas para primer ITS (muestras P1n y P1v) y pozo 10 y 11 para primer ITS (muestra P2n y P3n).

Imagen #24: Gel con PCR touchdown con cambios en el anillamiento 6

Gel de electroforesis con agarosa 1.5% para productos de PCR (Touchdown PCR). Pozo 1: escalera 100pb, Pozo 2: Hv1 P3v, **Pozo 3: Hv1 P4n**, Pozo 4: Hv1 P5n, Pozo 5: Hv1 P6v, **Pozo 6: Hv2 P3v**, **Pozo 7: Hv2 P4n**, Pozo 8: Hv2 P5n, Pozo 9: Hv2 P6v, **Pozo 10: Hv3 P3v**, **Pozo 11: Hv3 P4n**, Pozo 12: Hv3 P5n, Pozo 13: Hv3 P6v, **Pozo 14: Hv4 P3v**, Pozo 15: escalera 100pb. Peso estimado del producto: 1,000- 900pb.

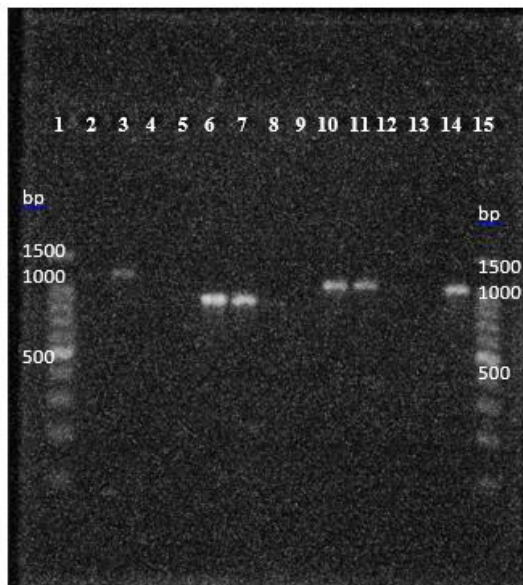
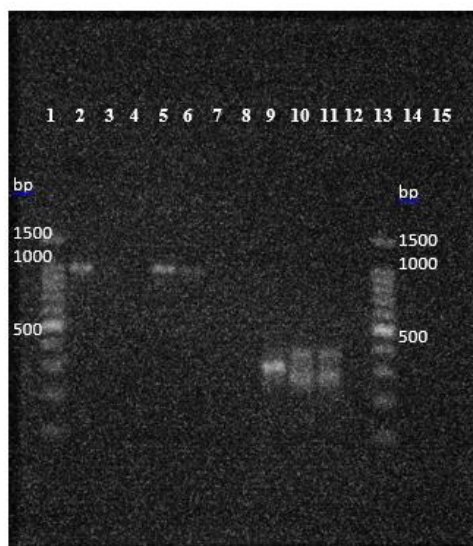


Imagen #25: Gel con PCR touchdown con cambios en el anillamiento 7

Gel de electroforesis con agarosa 1.5% para productos de PCR (Touchdown PCR). Pozo 1: escalera 100pb, **Pozo 2: Hv4 P4n**, Pozo 3: Hv4 P5n, Pozo 4: Hv4 P6v, **Pozo 5: Hv5 P3v, Pozo 6: Hv5 P4n**, Pozo 7: Hv5 P5n, Pozo 8: Hv3 P6v, **Pozo 9: ITS P3v, Pozo 10: ITS P4n, Pozo 11: ITS P5n**, Pozo 12: ITS P6v, Pozo 13: escalera 100pb, Pozo 14: vacío, Pozo 15: vacío. Peso estimado del producto: 900pb y 400-300pb.



En la Imagen 24 se observa presencia de bandas en el pozos 3 para el primer Hv1 (muestra P4n), pozos 6 y 7 para el primer Hv2 (muestras P3v y P4n), pozo 10 y 11 para el primer Hv3 (muestras P3v y P4n) y pozo 14 para el primer Hv4 (muestra P3v). En la Imagen 25 se observa presencia de banda en el pozo 2 para el primer Hv4 (muestra P4n), pozos 5 y 6 para el primer Hv5 (muestras P3v y P4n) y pozos 9, 10 y 11 para el primer ITS (muestras P3v, P4n y P5n).

B. Comunidad educativa.

De acuerdo a los instrumentos de validación se obtuvieron los siguientes resultados:

Según el instrumento de validación pre y post se evidencia que: Los docentes carecen de material didáctico que aborde el tema de la roya del café, tampoco han recibido capacitaciones, cursos o talleres que se relacionen con la temática a pesar de encontrarse en un finca donde se siembra, se cultiva y se produce el café. Sin embargo, los docentes consideran que es importante incluir dentro del pensum educativo el tema de la roya del café “porque viven rodeados de café y se encuentran en una comunidad cafetalera”.

En la aplicación del post se evidenció que el material didáctico diseñado permitió el abordaje de la temática de la roya con los estudiantes y según los resultados obtenidos, el maestro indica que ahora cuenta con estrategias didácticas y metodología que le permiten la enseñanza del tema de la Roya. Además menciona que cuenta con conocimiento del tema derivado de la capacitación recibida el día la visita de las estudiantes de Psicopedagogía a la escuela de la finca “Los Andes”.

Con base en el instrumento de validación de material didáctico, el cual fue diseñado para evaluar la calidad de este, los resultados demuestra que: el material cuenta con la presentación y estructura adecuada, valorando todos los aspectos con 4, lo que significa excelente. El material resulta atractivo y llamativo según su diseño, el cual está muy bien organizado, valorando la mayoría de aspectos con 4 lo que significa excelente. El contenido del material incluye conceptos, básicos y generales, un vocabulario adecuado al nivel escolar de los estudiantes y a sus necesidades, incita a la reflexión, pensamiento crítico, análisis y aplicación inmediata de las ideas, valorando todos los aspectos con 4, lo que significa excelente. El material resulta fácil de comprender por su lenguaje sencillo y responde a los objetivos planteados, además favorece las destrezas de pensamiento

VII. ANÁLISIS DE RESULTADOS

A. Microbiología

El hongo *Hemileia Vastatrix*, es un organismo patógeno obligatorio que se desarrolla en las hojas de las plantas del café. Esta infección afecta a los cafetos bajando su producción y calidad del café, por lo que tiene gran repercusión en países productores de café, que en su mayoría son países en vías de desarrollo. Debido a esto, las investigaciones que lo involucra son muy pocos, por lo que todavía queda muchos temas que abarcan al respecto. Hasta la fecha de este proyecto, aún no se conoce algún estudio que involucre el aislamiento del hongo y esto se debe principalmente a la dificultad de crear un medio o método para poder aislarlo fuera de la hoja. Actualmente, se está estudiando el genoma de *H. Vastatrix* para su mejor entendimiento en su adaptación con la planta y su evolución, pero este se encuentra ensamblado parcialmente (aún no está completo) por lo que queda mucho trabajo que realizar. Otro factor importante a considerar es que no se conocen métodos moleculares que busquen detectar genes del hongo, sea para su diagnóstico o posible estudio para fungicidas.

En el artículo descrito de Talhinhos et al. (2014), mencionaban distintos posibles genes con funciones importantes durante las primeras etapas de invasión del hongo, que en su mayoría de estos están involucrados en vías metabólicas. Uno de los transcritos analizados eran las proteínas secretadas putativas, que mostraron homología con otros hongos y que están relacionados con las primeras etapas de invasión del hongo *Hemileia vastatrix* hacia la planta del café. Por ser genes virulentos específicos del *H. vastatrix*, hay especial interés de identificarlos, analizarlos y utilizarlos para evitar la infección del hongo hacia la planta del café. Se identificaron 8 genes o transcritos que traducen a proteínas secretadas y que funcionan para el transporte como RTP1 (Hv0303, 00357, 01043 y 04304), proteínas del haustorio o HESP (Hv01506, 04456, 00258 y 09298), involucrados en el estrés oxidativo por ROS (Hv00297 y 01268) y otros (Hv00297), ver Cuadro 3. (Talhinhos et al., 2014).

Utilizando el programa Jalinger, se realizó un alineamiento entre los transcritos mencionados y el genoma parcialmente ensamblado por Cristancho et al. (2014). En el Cuadro 2 se observan los transcritos o genes que fueron localizados en el genoma, en el contig donde fue encontrado y el porcentaje de identidad que muestra la similitud de la secuencia entre el transcrito y el genoma. En los 5 transcritos encontrados (Hv01268, Hv00297, Hv00303, Hv00357 y Hv01506), se muestra un porcentaje de identidad mayor al 99% y el número de contig es diferente para cada gen. Esto comprueba que los genes secuenciados por los primeros autores sí se encuentran en el genoma parcialmente ensamblado por los segundos autores. Con estos 5 genes (ver Tabla#22, Anexos), se llevó a cabo el diseño de primers, utilizando el programa web Primer3. De los resultados obtenidos, se seleccionaron los primers que tenían un valor de TM similar de los dos primers, un rango de 15-30 bases y 40-60% de G+C (Promega, 2014). En el Tabla#20 se muestran los primers obtenidos para cada secuencia de interés. Para cada secuencia de primers, se obtuvo de 20 bases, 40-50% de G+C, y TM similares de cada par. A parte de las 5 secuencias de genes seleccionados, se consideró utilizar un par de primers genéricos para la amplificación de ADN de cualquier hongo. Con ello se busca comprobar que durante la extracción de ADN, exista presencia de ADN de hongo (aunque no se especifica cuál). Se seleccionó primers que amplifican la Secuencia Transcripta Interna (ITS en siglas en inglés) del 5S ARN ribosomal del hongo. Esta región es la más utilizada para la amplificación de cualquier especie del reino fungi (Duke University, 2005). El ITS1 e ITS2 fueron diseñados por White et al. (1990) y comprobados por Gardes y Bruns (1993) en hongos basidiomicetos y royas.

Para la comprobación de la funcionalidad de los primers para la amplificación de la región de los genes de interés, se realizó un PCR in silico utilizando el programa SnapGene, y el cual fue visualizado utilizando una simulación de gel de agarosa al 1%. En el Pozo 1 (Hv01268) el producto final es de 600pb, Pozo 2 (Hv00297) es de 536pb, Pozo 3(Hv00303) es de 567pb, Pozo 4 (Hv00357) es de 521pb y Pozo 5 (Hv01506) es de 529pb. No se realizó la comprobación con los primer ITS debido a que no se conoce aún (no se ha publicado hasta el momento) la secuencia de 5s ARN ribosomal específico para el hongo de *Hemileia vastatrix*, aunque los datos teóricos se estima un peso de 200pb

(Duke University, 2005). Al ser confirmado el PCR in silico y visualizado en el gel de agarosa, se procedió a la extracción de ADN.

Las hojas de café infectadas con roya fueron recolectadas en la Universidad del Valle de Guatemala, en una parcela de 12 plantas de café localizada en la Plaza Helen Franklin (enfrente de la biblioteca). De estas 12 plantas, se seleccionaron al azar, 6 cafetos y se tomaron al azar 2 hojas por cafeto siendo una hoja joven y otra madura por planta. Se etiquetó con P (planta), número de la planta y n (si era joven) o v (si es madura). No se siguió ningún modelo estadístico debido a que es una implementación de metodología y no una validación. En la Figura 25 (Anexos) se observan las hojas recolectadas y el nombre que se le dio. En la Figura 26 (Anexos) se observan las hojas de café que funcionaron como control positivo (C+), control negativo de hoja joven (nC-) y control negativo de hoja madura. El control positivo se seleccionó en base de la hoja más infectada con roya (el que presentara mayor manifestación de hongo). En el caso de las hojas control, se seleccionó en base de ausencia de síntomas de la enfermedad. También se eligió hoja joven y madura para comprobar que ninguna de las hojas en cualquier etapa de desarrollo pueda tener presencia de hongo.

Para la extracción de ADN del hongo, se utilizó el método de Doyle & Doyle (1990) modificado y el cual se utiliza para extracción de ADN de planta. Se decidió este método debido a que el hongo, al ser un patógeno obligatorio, no se ha podido hasta el momento aislar por lo que la extracción de su ADN estará ligado al de la planta. En este método se incluye PVP (Polivinilpirrolidona) el cual funciona para la eliminación de fenoles, compuesto rico en las hojas de las plantas, y que evita extraer ADN de calidad; CTAB (Bromuro de cetil trimetil amonio) se incluye en el buffer de extracción y sirve como detergente para el rompimiento de membranas; EDTA que es un quelante de iones de magnesio, siendo estos requeridos para la ADNasa. Tris y cloruro de sodio funcionan para precipitar y neutralizar cargas negativas del ADN. El sarcosil funciona como detergente y solubilizador de proteínas. (Gaikwad, 2006; Wendel Lab, 2001). Para el rompimiento de la pared celular de la planta, se realizó por medio de maceración junto con el buffer de extracción.

Para la detección y cuantificación del ADN extraído, se realizó por medio de fluorimetría (Quantus™). Este método es más eficiente que las mediciones de absorbancia con UV por espectrofotometría, ya que este último no puede distinguir entre ADN, ARN o proteína, de forma específica (ThermoFisher Scientific, 2014). La fluorimetría de Promega Quantus™ consiste en el uso de tintes fluorescentes sensibles para ácidos nucleicos o proteínas (según sea el interés). Posee un sensor sólido de silicón y el cual detecta las longitudes de onda del color rojo (627nm) y azul (495nm). Los picos de emisión son e 660-720nm (rojo) y 510-580nm (azul). Se utilizó el sistema de tinción QuantiFluor® ONE dsDNA, el cual solo mide ADN de doble hebra. Con esto se evita error a la medición con espectrofotometría y da un resultado del ADN extraído purificado. Utilizando este método, se evita realizar otras medidas de comprobación (el cual utiliza más cantidad de ADN), debido a que es un método exacto. En el Cuadro 5 se observa las concentraciones del ADN extraído en las muestras, controles y levadura. Se incluyó ADN de levadura (*Candida albicans*) para comprobar que los primers diseñados sean específicos para *H. vastatrix* (con excepción de los primers ITS). Los resultados mostraron que la cantidad de ADN obtenido en la mayoría fue menor a 50ng/ul, siendo esto una cantidad muy pequeña. La concentración más alta fue el control positivo con 56ng/ul, mientras que el más pequeño fue la muestra P6n con 0.573ng/ul, por lo que esta última muestra fue descartada para el resto del experimento. Esta concentración baja en las muestras y controles se pudo deber a la maceración de la hoja. En el caso de las muestras, la extracción se realizó días después de la recolección por lo que la hoja primero se secó y fue más difícil de macerar. En el caso de los controles, las hojas fueron extraídas en estado fresco (después de la recolección). La maceración se realizó por medio de micropistilos en tubos de 2mL, la fuerza, fricción y alcance del movimiento del macerado no fue lo suficiente ya que se mantuvo intacto los discos por mucho tiempo y no se formó la “pasta” esperada como se describía en procedimiento.

Al comprobarse la cantidad y pureza del ADN, se llevó a cabo un gel de agarosa 0.8% para la verificación de la integridad del ADN extraído. En la Figura 13 y 14 se observan bandas en todas las muestras y controles extraídos, menos de la muestra P6n (mencionado anteriormente). Las bandas son definidas y no se observan exceso de ADN

o desintegración. Posteriormente se llevó a cabo el PCR de tres muestras: C+, nC- y P5v, con el objetivo de optimizar el PCR antes de amplificar todas las muestras. Este último se seleccionó debido a su baja concentración por lo que se quería comprobar la sensibilidad del PCR. Se realizó un PRC convencional, el cual la temperatura del anillamiento fue el promedio de todos los TM (Temperature Melting) de cada primer utilizado, el cual fue de 57°C. En la Figura 15 y 16 se observan los geles de agarosa 2% con los productos de PCR, en la primera figura no se obtuvieron bandas mientras que la segunda figura se obtuvieron bandas que indican amplificación de la región ITS en las tres muestras. Esto indica que sí se extrajo ADN de hongo (no necesariamente *H. vastatrix*). Con el promedio de anillamiento, no se pudo amplificar los primers específicos para la roya por lo que se buscó otro método de PCR.

Se realizó un PCR Touchdown, debido a que es una forma de optimización más rápida, sensible y con mejor rendimiento que un PCR convencional (Korbie y Mattick, 2008). Este método consiste en incrementar la especificidad de las reacciones de PCR, utilizando un programa cíclico en donde la temperatura de anillamiento es reducido gradualmente (ej. 1-2°C cada segundo del ciclo), siendo la temperatura inicial de anillamiento varios grados abajo del TM de los primers (NEB, 2015). Este método es aplicado para estandarización de los protocolos de PCR, productos que son difíciles de amplificar, polimorfismos de un solo nucleótido, etc. (Korbie y Mattick, 2008). Antes de realizar los PCR's, hacer alícuotas pequeñas del ADN extraído, escalera, dNTP's y primers, para evitar degradación durante el descongelamiento constante. Se mantuvieron los mismos ciclos para los otros pasos del PCR. El anillamiento consistió de 10 ciclos a 65°C, bajando 1°C cada ciclo y 20 ciclos a 55°C, formando en total 30 ciclos. Se realizaron modificaciones en la cantidad de ADN agregado, utilizando diluciones de 1:10, 1:5 y puro. La presencia de bandas fue en los PCR con ADN puro, por lo que se continuó utilizando el extracto de ADN intacto. En la Figura 17 y 18 se observaron en el gel de agarosa 2%, el producto de PCR de las tres muestras. En la Figura 17 se muestran el producto amplificado del control positivo (C+) para los primers Hv01268, Hv00297, Hv00303 y Hv00357. En la Figura 18 se obtuvo producto amplificado del control positivo (C+) para la región ITS. No se obtuvo amplificación del control positivo (C+)

para el par de primers Hv001506. Esto se pudo deber a que las temperaturas de anillamiento no eran los adecuados para dicho primer, aunque sí entraba en el rango de anillamiento (58°C) o el ADN del control positivo no poseía dicha secuencia para que fuera amplificado. No se obtuvo amplificación en el control negativo y de la muestra P5v (excluyendo la región ITS), lo cual fue lo esperado. Esto muestra que la hoja del control negativo posee un hongo que no es *H. vastatrix*, mientras que P5v pudo ser afectado por la baja concentración de ADN. Se modificó el rango de anillamiento, de 58°C (10 ciclos) y 50°C (20 ciclos) con objetivo de amplificar el primer faltante (Hv001506). No se obtuvo presencia de producto amplificado para los primers específicos (Hv1 al 5) en las tres muestras, solamente para la región ITS.

Se realizó una nueva modificación al rango de anillamiento, siendo el final de 65°C (12x) y 55° (20x) con el objetivo de aumentar la cantidad del producto amplificado y mayor repetición de las temperaturas para un mejor anillamiento. Se probó el PCR con muestras de ADN diluido (1:2) para confirmar si la ausencia de bandas en el gen Hv5 era causado por exceso de ADN pero el resultado en el resto de los sets de primers fue negativo (incluyendo ITS), confirmando así que la cantidad de ADN no es factor durante el anillamiento. Se utilizaron las muestras: C+, vC- (otro control negativo), L (*Candida albicans*), P4v (segunda muestra con menor concentración de ADN) y P2v (muestra con mayor concentración de ADN). Se utilizó un nuevo control negativo para comprobar que no se obtuviera amplificación con los primers específicos. En la Figura 19 no se obtuvo ninguna banda por lo que no hubo amplificación con los primers Hv1 al Hv3. No hubo amplificación el control positivo con dichos primers y esto se pudo deber que a causa de varios descongelamientos del ADN del control positivo, este se degradara. Sí se esperaba ausencia de banda en el caso de la levadura. En la Figura 20 se observaron dos bandas que corresponden al primer Hv4 (muestra P4v) y Hv5 (P4v). Con esto se confirma que el rango de anillamiento utilizado es el adecuado para la amplificación de ADN de *H. vastatrix*. En la Figura 21 se obtuvo amplificación del gen ITS de las muestras de levadura y P4v. Esta última, se obtuvieron 3 bandas definidas y cercanas unas a las otras. Esto se pudo deber a que el primer genérico ITS, amplificó otras secuencias de otros hongos presentes en la hoja, generando bandas con diferente tamaños de producto.

Se continuó con la amplificación del resto de las muestras extraídas, utilizando PCR touchdown. No se volvió a utilizar el control positivo (degradado) ni controles negativos (los cuales ya se comprobaron que no hubo amplificación). Las siguientes muestras fueron: P1n, P1v, P2n y P3n. En la Figura 22 se observa bandas para los primers Hv1 (muestras P2n y P3n); primers Hv2 (muestra P1n, P2n y P3n) y primers Hv3 (muestras P2n y P3n). En la Figura 23 se observan bandas para los primers Hv4 (muestras P2n y P3n), primers Hv5 (muestras P2n y P3n), bandas muy degradadas para primer ITS (muestras P1n y P1v) y bandas definidas para ITS en muestra P2n y P3n. Este último se muestran dos bandas cercanas, que igual que el anterior, se amplificó para otro hongo presente en la hoja durante la extracción del ADN. Las bandas degradadas o poco visibles en las muestras P1n y P1v se pudo deber a la poca concentración de ADN del hongo (puede ser *H. vastatrix* u otro hongo) ya que no obtuvieron presencia de banda de amplificación con otro par de primers específicos (solamente el Hv2 con la muestra P1n). Las últimas muestras fueron P3v, P4n, P5n y P6v. En la Figura 24 se observa presencia de bandas para el primer Hv1 (muestra P4n), el primer Hv2 (muestras P3v y P4n), el primer Hv3 (muestras P3v y P4n) y el primer Hv4 (muestra P3v). No hubo amplificación para la muestra P5n y P6v. En la Figura 25 se observa presencia de banda en el primer Hv4 (muestra P4n), el primer Hv5 (muestras P3v y P4n) y el primer ITS (muestras P3v, P4n y P5n). Se muestran que no todas las muestras de P3v y P4n amplifican para todos los sets de primers. El P6v no amplificó para ninguno. El P5n muestra presencia de hongo pero no con las regiones específicas para *H. vastatrix*. Realizar la optimización en un Termociclador normal (sin Touchdown o gradiente) para comprobar los anillamientos de cada par de primers a su temperaturas promedio calculadas.

Como se mencionaba anteriormente, las múltiples bandas que se obtuvieron en el producto amplificado (y visualizado en los geles) se debe a la presencia de otro posible hongo (que no es *Hemileia vastatrix*) en la hoja o durante el proceso de la extracción. En el caso de los productos amplificados de los primers específicos, obtuvieron un peso mayor al estimado (el cual fue de 500pb) y esto se pudo deber a que el PCR touchdown amplifica a un rango de temperatura, por lo que pudo haber amplificación no específica,

es decir, que aparte del producto deseado también se obtuvo uno no esperado. Y esto se debe a que otra temperatura aparte del anillamiento causara que los primers hibridizaron otro gen (hibridización no específico).

Entre las modificaciones que se fueron realizando durante el avance del experimento fue el aumento del volumen de GelRed (3ul a 5ul) debido a que no se observaba fácilmente las bandas en el transiluminador UV. Otra modificación fue que se realizaron alícuotas de los primers y de la escalera, debido a que por su constante descongelamiento, ocasionó degradación de los mismos. También, se cambió el porcentaje de cantidad de agarosa en los geles (de 2% a 1.5%) debido a que el producto amplificado y la escalera corría mejor en el gel con menor concentración de agarosa.

Las limitantes que se encontraron en el estudio fueron varios por lo que se deben tomar en cuenta para futuras referencias. Uno es que los reactivos que se utilizan para la extracción (PVP soluble, sarcosil y CTAB) se necesitan que sean solicitados con el mayor tiempo posible ya que se tardan en ingresar al país. Otro aspecto a considerar es la época de recolecta de las hojas, ya que en la época lluviosa, la roya se disminuye su presencia en las mismas; mientras que en la época seca aumentan por lo que se debe considerar cuál es el interés al momento de recolectarlas. Otro aspecto a considerar es la manera de almacenaje de las hojas que sea adecuado, ya que al ser varias, estas pueden oxidarse rápidamente y afectar el proceso de extracción de ADN.

La importancia de este estudio es que al lograr identificar genes que traduzcan posibles proteínas virulentas durante la invasión del hongo a las células vegetales de la planta del café, con objetivo de determinar su funcionamiento y posible selección como “target” para fungicidas. Lo que se debe realizar para continuar con este estudio, sería la caracterización de los genes que fueron identificados en este proyecto ya que puede ser utilizado para el estudio de la estructura proteica y su funcionamiento durante la invasión del hongo hacia la planta. Esto además conllevaría al desarrollo de posibles fungicidas que busquen eliminar o bloquear la transcripción o traducción de dichos genes.

B. Análisis económico

Los escenarios evaluados varían debido al rubro designado a la ubicación física para implementar el laboratorio, este laboratorio puede ser utilizado para distintas pruebas moleculares distintas al análisis de detección. Es viable la implementación y la ejecución del análisis por un costo unitario de Q 10,369.81, monto que puede disminuir si se genera una alianza con instituciones que posean el equipo o deseen realizar una donación al trabajo de investigación.

Adquirir el patrocinio no solo del lugar físico pero también de la maquinaria, equipo o reactivos permiten que el proceso de investigación sea más fácil permitiendo que el análisis de investigación se implemente en menos tiempo. Este tipo de alianzas permite que se desarrolle de una manera más eficiente el proyecto ya que permite utilizar el conocimiento y técnicas de personal capacitado evitando cometer errores generados por ignorancia.

La distribución del material didáctico debe ser implementada en más departamentos, no solo los cinco que han sido seleccionados como público objetivo, esto con la finalidad de mejorar el conocimiento que posee la sociedad guatemalteca sobre un cultivo de gran importancia para el país. Es interesante que la mayoría de las personas indican poseer conocimiento sobre el cultivo, lo que representa y qué factores afectan su desempeño. Sin embargo, son pocas las personas que conocen del tema y permanecen informados. Este proyecto consiste en lograr una alianza o auspicio por parte de fundaciones o empresas como Funcafé que están interesados en compartir la educación con las personas que no tienen acceso a ella. Uno de los criterios que se ha utilizado para la implementación de la primer etapa es que la escuela debe tener los tres niveles de educación, este criterio será anulado ya que no en todas las escuelas existe esta condición.

Los departamentos que han sido seleccionados para implementar la primer etapa del material didáctico son aquellos que cumplen con el mayor número de criterios seleccionados, estos criterios fueron elegidos debido al costo que representan. El costo de estos criterios abarcan desde un factor económico hasta un social tomando en cuenta la población afectada. Estos criterios se unen para obtener un análisis del costo de

oportunidad que representa mantener las plantaciones de café ya que el talento humano o el área geográfica se podrían implementar en otras actividades. Los criterios de selección fueron producción, productores, producción promedio por productor, área cultivada, producción por manzana. Los departamentos seleccionados son Santa Rosa, Huehuetenango, Chimaltenango, Jalapa y Jutiapa.

C. Comunidad educativa

La escuela de primaria y preprimaria trabaja con la metodología de trabajo en equipo donde cada grado ocupa una mesa de trabajo y en cada mesa de trabajo, cada niño desempeña un rol diferente como secretaria, de limpieza, presidenta, cronometrista, entre otros. Algo que llamó mucho la atención fue lo empoderadas que están las niñas al asumir sus cargos dentro de su equipo, perteneciendo a una comunidad rural donde muchas familias se caracterizan por el machismo. Además de trabajar con equipos de trabajo, utilizan guías de autoformación donde los estudiantes aprenden de una manera sencilla pero con mucha ejercitación lo cual favorece su desempeño en el aprendizaje individual y en la aplicabilidad de conceptos.

Los docentes no cuentan con material didáctico que aborde el tema de la roya del café. Incluso la escuela en sí, carece de materiales didácticos que propicien el aprendizaje del estudiante y faciliten la enseñanza. Algunos materiales con los que cuentan son cuadernos y fotocopias de libros que han conseguido prestados de otras escuelas. Pues, como es una escuela que no es pública sino sostenida con recursos de la finca, el Ministerio de Educación no les provee material educativo, solo lo que logran comprar con el presupuesto de la finca. Al no tener materiales los estudiantes dejan de tener una herramienta activa que permite el aprendizaje significativo. En el caso de la escuela de básicos y diversificado que utilizan la metodología de IGER, cada estudiante cuenta con un libro de aprendizaje con el que va formando destrezas, actitudes, valores y habilidades a través del conocimiento adquirido en el libro y en la clase radial.

Los docentes pese a que viven en una comunidad cafetalera y donde la mayoría de sus familias trabaja en los cafetales ignoran mucha información de la roya. Saben que “es algo que hace que las plantas de café se mueran”, pero nada más. Por lo tanto, si este

material va dirigido a que los docentes lo utilicen en el aula, es importante que él mismo se capacite para dominar muy bien el tema y poder abordar de una mejor manera el contenido con argumentos válidos que orienten el aprendizaje de los estudiantes. Sin embargo, ellos hasta el momento, no han recibido ninguna capacitación, curso, taller o plática sobre la roya del café, lo que pudiera haber sido una desventaja en la utilización del material didáctico con los estudiantes, porque los maestros no dominaban bien el tema. Pero, al momento de entregarle a cada docente el material, se impartió una pequeña capacitación al docente sobre la temática de la roya y sobre cómo utilizar el material.

Los docentes piensan que es importante abordar la temática de la roya del café con sus estudiantes porque “viven rodeados de café” y para que “desde pequeños vayan aprendiendo”. Aunque la respuesta sea un poco ambigua, es válida porque la comunidad cafetalera debe por lo menos tener un conocimiento no solo de la siembra, el cultivo, la cosecha y la producción del café, sino de las enfermedades que lo atacan, cómo lo atacan y qué se puede hacer para contrarrestar estas enfermedades. Pues según lo indicado por los maestros muchos niños y jóvenes acompañan a sus padres, cuando están de vacaciones o por las tardes, a los campos cafetaleros donde los ayudan con la labor. Si ellos llegan a desarrollar un amplio conocimiento sobre las causas, identificación, propagación y prevención de la Roya del café, es posible que surjan ideas creativas, innovadoras y funcionales que permitan atacar la roya del café.

VIII. CONCLUSIONES

El trabajo multidisciplinario implicó el desarrollo de diversas estrategias orientadas a la detección y prevención de la roya del café, aportando información indispensable que permitió la identificación de 5 genes virulentos localizados en las plantas infectadas y la divulgación de la temática de esta enfermedad del café informando a las comunidades cafetaleras a través de estrategias didácticas y dando a conocer la importancia de este producto en la sociedad guatemalteca considerando su impacto económico.

Para el diseño y desarrollo de estrategias didácticas y/o psicopedagógicas, fue necesario tomar en cuenta las características de la edad y de la comunidad educativa rural cafetalera para que la explicación del contenido de la roya del café fuera dirigida específicamente respondiendo a las características de los distintos niveles educativos, logrando informar y concientizar a la población de la temática de la roya del café y los efectos que causa en su entorno inmediato.

Se lograron establecer líneas de investigación sobre la roya del café, por medio de un método molecular para la detección de 5 genes de virulencia putativos en el hongo de la roya del café *Hemileia vastatrix*. Se realizó y se estandarizó la prueba molecular, se lograron diseñar primers específicos que son funcionales y adecuados, y se logró determinar la presencia de los cinco genes de virulencia propuestos por medio de PCR touchdown.

El costo de implementar un laboratorio de análisis molecular es de Q 10,369.81 por lote de muestras, es vital contar con el patrocinio o donación del espacio físico para que estos costos sean accesibles. Los departamentos que recibirán la educación mediante el material didáctico generado son Santa Rosa, Huehuetenango, Chimaltenango, Jalapa y Jutiapa. El criterio de selección de la población debe eliminar el filtro en el que se implementa el material solo en escuelas con los tres niveles de educación.

IX. RECOMENDACIONES

Tomando en cuenta la importancia del café en nuestro país, se propone dar seguimiento a este proyecto o a similares, que fomenten la prevención y control de la roya del café, considerando el cambio climático y la contaminación del medio ambiente una de las principales causas de su propagación.

Se sugiere darle continuidad al diseño y desarrollo de material didáctico y/o pedagógico que atienda las necesidades de la comunidad, para la divulgación del tema de la roya del café en las poblaciones educativas de las comunidades cafetaleras. Esto con el objetivo de concientizar a los estudiantes, por medio de las diferentes estrategias de enseñanza específicas para cada nivel escolar, que los motiven a aplicar lo aprendido en su entorno inmediato. Además se propone brindar talleres o capacitaciones a los docentes de dichas comunidades para que esta temática trascienda y provoque un impacto que influya en la prevención y control de la roya.

Es recomendable continuar la investigación de los genes virulentos con las secuencias identificadas en este proyecto ya que pueden ser de utilidad en la búsqueda de posibles “targets” fúngicos. Pero primero se debe realizar secuenciación del producto amplificado para verificar que sí sea el gen de interés y no un amplificado no específico. Al ser comprobado, caracterizar el producto. Además determinar si los primers o el producto amplificado son dependientes de la raza de roya y también lograr identificar las especies de otros hongos presentes en la hoja.

Se recomienda a las instituciones que poseen el equipo necesario para realizar el análisis molecular que implementen una política sobre arrendamiento a personas que deseen realizar diversos análisis y no posean el capital para realizarlo. Es importante buscar la ayuda de empresas como *Funcafé* para la dispersión del material didáctico, esto debido a que poseen los canales de comunicación y suministro de materiales adecuadas para obtener un mayor alcance y generar un impacto mayor en las personas de distintas regiones y departamentos.

X. BIBLIOGRAFÍA

ABG (2013). *Sector cafetalero*, recuperado el 5 de Junio del 2015
<http://abg.org.gt/pdfs/junio2013/sector%201%20cafe%20junio%202013.pdf>

Aguirre, A. (1994) *Psicología de la adolescencia*. Boixareu Universitaria. España. [en línea] disponible en:
<https://books.google.com.gt/books?id=ENVMNZgyxQIC&pg=PA143&dq=desarrollo+humano+en+la+adolescencia&hl=es&sa=X&ved=0CCYQ6AEwAmoVChMIp6a-ybbFyAIVx52ACh0mEA-4#v=onepage&q=desarrollo%20humano%20en%20la%20adolescencia&f=false> [2015, octubre 15]

Aitkin, T. (2006) *¿Cómo aprenden los niños y los adolescentes?* Universidad del Estado de Óregon, Estados Unidos. Recuperado el 23 de octubre de 2015. [Disponible en:]
http://oregon.4h.oregonstate.edu/sites/default/files/HowChildrenLearn_0.pdf

Álvarez, I; González, J.(2006) *Desarrollo afectivo-social del adolescente*. Instituto de Málaga, España. Recuperado el 13 de octubre de 2015. [Disponible en:]
http://www.miscelaneaeducativa.com/Archivos/desarrollo_afectivo_social_adolescente.

Alzate, M. V., Arbelaez, M., Gómez, M., & Romero, F. (2013). *Intervención, mediación pedagógica y los usos del texto escolar*. Universidad Tecnológica de Pereira.

Anacafé (2014) *Dirección de Sanidad Vegetal Guatemala*. Recuperado el 5 de junio de 2015. [Disponible en:] <http://visar.maga.gob.gt/visar/manfroya.pdf>

Anacafé (2014) *Exportaciones de café se reducirán este año*, recuperado el 2 de Junio del 2015

<http://noticias.com.gt/nacionales/20140729-exportaciones-de-cafe-se-reduciran-este-ano-anacafe-2.html>

Anacafé, *Despulpado*, con acceso el 30 de Septiembre del 2015, https://www.anacafe.org/glifos/index.php/BeneficiadoHumedo_Despulpado

Anacafé, *Historia del café*, recuperado el 22 de Julio del 2015, https://www.anacafe.org/glifos/index.php?title=10con:historia_del_cafe

Anacafé, *Varietades de café*, recuperado el 10 de Julio del 2015, https://www.anacafe.org/glifos/index.php/variedades_de_cafe

Anacafé. (2013). *La roya del café es una enfermedad temible pero puede controlarse*. Disponible en: http://www.anacafe.org/glifos/index.php/Recomendaciones_Control_Roya

Andrade, D. (2014) *Mediación pedagógica*. Universidad central del ecuador, Facultad de filosofía, carrera de informática. Recuperado el 4 de septiembre de 2015. [Disponible en:] <https://www.youtube.com/watch?v=Hs19v27m8Ro>

Applied Molecular Genetics Laboratory. Tercera Edición. CIMMYT. México, D.F.

Arneson, P.A. (2000). *Coffee rust*. Recuperado el 20 de mayo de 2015. [Disponible en:] <http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/lessons/fungi/Basidiomycetes/Pages/CoffeeRust.aspx>

Asociación Nacional del Café “Anacafé”. *¿Qué es la roya del cafeto?* [en línea] disponible en: https://www.anacafe.org/glifos/index.php/12PRIN:Que_es_la_Roya [2015, junio 20]

Avelino, J. (2002). *The coffee rust (Hemileia vastatrix), some biological and epidemiological aspects*. Recuperado el 18 de septiembre de 2014. [Disponible en:] http://agrilinks.org/sites/default/files/resource/files/Coffee%20rust%20AID%20JAvelino%2011%20April%202013_0.pdf

Avelino, J. y G. Rivas. (2013). *La roya anaranjada del cafeto*. Disponible en: http://biblioteca.catie.ac.cr/royadelcafeto/descargas/LA_ROYA_ANARANJADA_DEL_CAFETO_Version_1.pdf

Avelino, Jacques (2004) *Effects of crop management patterns of coffee rust epidemics*, Plant Pathology, Vol 53, pags, 547.

Avelino, Jacques (2012a). *Shade is conducive to coffee rust as compared to full sun exposure under standardized fruit load conditions*, Crop protection, Vol 38, pags 29.

Avelino, Jacques (2012b). *Landscape context and scale differentially impact coffee leaf rust, coffee berry borer, and coffee root-knot nematodes*, Ecological Applications, Vol 22, pags, 596

Avelino, Jacques, et al. (2014). *The coffee rust crises in Colombia and Central America (2008): impacts, plausible causes and proposed solutions*, Springer, pags. 19.

Banco de Guatemala, (2015) Guatemala: valor (fob), *Volumen y precio medio de los 25 principales productos de exportación*, recuperado el 26 de Septiembre del 2015, <http://www.banguat.gob.gt/inc/ver.asp?id=/estaeco/ceie/CG/2015/ceie01.htm>

Barquero M. (2013) *Recomendaciones para el combate de la Roya*. Instituto del café de Costa Rica – Centro de Investigaciones en Café (CICAFE) [en línea] disponible en: <http://www.cafeciba.com.sv/PDF/LaRoyaDelCafeto.pdf> [2015, 18 noviembre].

Bayer. (2014). *Problemas biológicos: Roya del Café*. Disponible en: http://www.bayercropscience-ca.com/contenido.php?id=241&cod_afeccion=29

Berk, M.J. & C.E. Broome. *Hemileia vastatrix*. *Gardeners' Chronicle*: 1157.

Bladyka, E. (2013). *Some Insights on Coffe Leaf Rust (Hemileia vastatrix)*. Recuperado el 21 de octubre de 2014 [Disponible en:] <http://www.scaa.org/chronicle/2013/02/15/some-insights-on-coffee-leaf-rust-hemileia-vastatrix/>

Boadella, Alejandro (2014) *Roya del cafeto, Prejuicios y beneficios para la caficultura, Cultivos y Suelos S.A.*, recuperado el 24 de septiembre del 2015, <http://www.cafeciba.com.sv/PDF/LaRoyadelCafeto.pdf>

Boix, R. (1995) *Estrategias y recursos didácticos en la escuela rural*. Universidad de Barcelona. España. Recuperado el 5 de septiembre de 2015. [Disponible en:] https://books.google.com.gt/books?id=m0YBPSeCToIC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbg_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false

Borda, J., & Ormeño, M. (2011). *Corrientes pedagógicas contemporáneas y los estilos de educación física. Investigación Educativa* , 14, 79-104.

Castañer Martínez, Juan. (2014) *Análisis de costo beneficio ejemplos de análisis sector privado*, estudios técnicos inc, recuperado el 14 de Junio del 2015, http://gis.jp.pr.gov/externo_econ/talleres/presentationcb_jp_eti.pdf

CIEN (2014) *Selección de maestros en Guatemala*, recuperado el 24 de Septiembre del 2015, <http://es.scribd.com/doc/238254597/Seleccion-de-maestros-en-Guatemala>

CIEN (2015) recuperado el 22 de Septiembre del 2015, <https://www.youtube.com/watch?v=JND-pyFLLC0>

CONALFA (2014) *Estadísticas*, recuperado el 13 de Agosto del 2015, <http://www.conalfa.edu.gt/estadis.html>

Cooperación para la educación (2015) *La pobreza y la educación*. Recuperado el 5 de septiembre de 2015. [Disponible en:] <http://www.coeduc.org/es/guatemala/pobreza.html>

Coz, C. *et al.* (2013) *Trasnformando a traves de la alfabetización*. Recurado el 15 de noviembre de 2014. [Disponible en:] http://www.conalfa.edu.gt/desc/Esta_Situac_Pro_Alf.pdf

Cristancho, M.A.; D.O. Botero-Rozo, W. Giraldo, J. Tabima, D.M. Riaño-Pachón, C. Escobar, Y. Rozo, L.F. Rivera, A. Durán, S. Restrepo, T. Eilam, Y. Anikster y A.L. Gaitán. (2014). *Annotation of a hybrid partial genome of the coffee rust Hemileia vastatrix contributes to the gene repertoire catalog of the Pucciniales*. *Frontiers in plant science*. Volume 5. Article 594.

Dávila, T. (2013). Club del café. recuperado el 24 de Septiembre del 2014, *Historia del café en Guatemala* Recuperado de: <http://clubdelcafe.net/2013/10/30/historia-del-cafe-en-guatemala/>

Dhondt, A (1996) *Molecular techniques in conservation and evolutionary biology: a quantum leap?*, Elsevier Ltd., 1ra edición, p. 692

Digión, L; Sosa, M; Velásquez, I. (2015) *Estrategias de la mediación pedagógica en ambientes de educación a distancia*. Universidad Nacional de Santiago del Estero, Argentina. Recuperado el 4 de septiembre de 2015. [Disponible en:] www.utn.edu.ar/aprobedutec07/docs/171.doc

Doyle, J.J ; J.L. Doyle. (1990). *Isolation of plant DNA from fresh tissue*. *Focus* 12:13-15

Dueñas N. (2005) *Psicología de la salud, revisión bibliográfica* [en línea] disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/mciego/docencia/psicologia_salud/index.html [2015, octubre 18].

Duke University. (2005). *Conserved primer sequences for PCR amplification and sequencing from nuclear ribosomal RNA*. Disponible en: [http://sites.biology.duke.edu/fungi/mycolab/primers.htm#Internal transcribed spacer \(ITS\) region primers](http://sites.biology.duke.edu/fungi/mycolab/primers.htm#Internal_transcribed_spacer_(ITS)_region_primers)

Eppendor Company. (2012). *Mastercycler® nexus*. Operating manual. Alemania.

Escobar, N. (2011). *La mediación del Aprendizaje en la Escuela*. Universidad Pedagógica Experimental Libertador.

Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala. (2014) *Roya del café en Guatemala*. [en línea] disponible en: [http://fausac.usac.edu.gt/GPublica/index.php/Roya del Café en Guatemala](http://fausac.usac.edu.gt/GPublica/index.php/Roya_del_Café_en_Guatemala) [2015, junio 3]

Feldman, R. (2009) *Psicología: con aplicaciones en países de habla hispana*. Octava edición. México: McGraw - Hill/Interamericana Editores S.A. de C.V

Fernández, A. (2013) *Propuesta de ejercicios para perfeccionar el proceso de enseñanza y aprendizaje de la química en la secundaria básica*. Universidad de Ciencias

Pedagógicas “Frank Pais García”. Cuba. Recuperado el 15 de septiembre de 2015. Disponible en: <http://www.eumed.net/libros-gratis/2013/1278/ensenanza-quimica.html>

Fernández, José (1991) *El proceso administrativo*, Editorial DIANA, 2da edición, 272 páginas.

Fest Net. (2014). Informe especial Centro América. *Ingresos de productores y jornaleros del café se reducirán por segundo año consecutivo*. Disponible en: http://redhum.org/uploads/documentos/pdf/Redhum-CA-coffee_rust_shock_report_update_2014_02_es-FEWS_NET-20140304-EP-14407.pdf

Gaikwad, A. (2006). DNA extraction: *Comparison of methodologies*. Disponible en: http://www.nbpg.ernet.in/Portals/6/DMX/GENOMIC_RESOURCES/DNA%20extraction-Comparison%20of%20methodologies.pdf

Galo C. (2006) *Situaciones y Destrezas Didácticas*. Segunda Edición. Guatemala: Editorial Piedra Santa.

Gardes, M. y T. D. Bruns. (1993). *ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes - application to the identification of mycorrhizae and rusts*. Mol. Ecol. 2: 113-118.

Gardiner, J.M.; E.H. Coe, S. Melia-Hancock, D.A. Hoisington, S. Chao. (1993). *Development of a core RFLP map in maize using an immortalized F2 population*. Genetics 134:917-930

Hall, R.A. (1989). *Pathogenicity of fungi and bioassay design*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 84, Supl. III, 47-50. Disponible en: [http://www.scielo.br/pdf/mioc/v84s3/vol84\(fsup3\)_044-047.pdf](http://www.scielo.br/pdf/mioc/v84s3/vol84(fsup3)_044-047.pdf)

Hernández, M. (2013). *La metodología de Enseñanza Aprendizaje utilizada en el curso de Comunicación y Lenguaje*. Tesis, Universidad de San Carlos de Guatemala.

Hoisington, D., M. Khairallah, D. González de León. (1998). *Laboratory Protocols: CIMMYT Applied Molecular Genetics Laboratory*. Third Ed. CIMMYT. México, D.F.

Hunter Lab. (2015). Searching for a solution to the coffee rust epidemic: how spectrophotometry may provide the answer. Disponible en: <http://www.hunterlab.com/blog/color-food-industry/searching-solution-coffee-rust-epidemic-spectrophotometry-may-provide-answers/>

ICO, *Aspectos botánicos*, recuperado el 18 de Julio del 2015, http://www.ico.org/es/botanical_c.asp?section=acerca_del_caf%e9

ICO, *Historia del café*, recuperado el 21 de Julio del 2015, http://www.ico.org/es/coffee_storyc.asp

Infocafé (2011) *Principales productores de café en el mundo*, recuperado el 3 de junio del 2015, <http://www.infocafe.es/cafe/principales-productores-cafe.php>

Inmunopedia.org. (2014). *PCR*. Disponible en: <http://www.lymphomation.org/MRD.htm>

Instituto Tecnológico de Sonora. *Diseño de material didáctico para cursos de capacitación* [en línea] disponible en: http://biblioteca.itson.mx/oa/educacion/oa40/disenode_materialedidactico_para_cursos_de_capacitacion/dm4.htm [2015, octubre 15]

Instituto Tecnológico de Sonora. *Diseño de material didáctico para cursos de capacitación*. Recuperado el 13 de octubre de 2015. [Disponible en:] http://biblioteca.itson.mx/oa/educacion/oa40/disenode_materialedidactico_para_cursos_de_capacitacion/dm4.htm

Jiménez, J. (2009, 23 de octubre) *La escuela rural*. Innovaciones y experiencias educativas. No.23. España. Recuperado el 12 de octubre de 2015. [Disponible en:]

http://www.csicsif.es/andalucia/modules/mod_ense/revista/pdf/Numero_23/JOSEFA_JI_MENEZ_FERNANDEZ01.pdf

Korbie, D.J. y J.S. Mattick. (2008). *Touchdown PCR for increased specificity and sensitivity in PCR amplification*. Nature Protocols 3, 1425-1456. doi:10.1038/nprot.2008.133

Kushalappa, A.C. y A.B. Eskes. (1989). *Advances in coffee rust research*. Annu. Rev. Phytopathol. 27:503-531. Recuperado el 14 de noviembre de 2014. [Disponible en:] <http://www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev.py.27.090189.002443>

Labarrere A. (2008) Mediación Pedagógica [en línea] disponible en: <http://www.summapsicologica.cl/index.php/summa/article/view/214/203> [2015, octubre 18].

Legorreta, B. P. (2013). *Fundamentos Teórico - Metodológicos para incorporar las TIC*.

Linares, A. R. (2007). *Desarrollo Cognitivo, Las teorías de Piaget y Vigotsky*. de Univesidad Autónoma de Barcelona [en línea] disponible en: http://www.paidopsiquiatria.cat/files/teorias_desarrollo_cognitivo.pdf [2011 noviembre 11].

MAGA (2013). *Manejo fitosanitario de la roya del café*. Recuperado el 24 de DEPARTAMENTOS Septiembre del 2014 http://web.maga.gob.gt/wp-content/uploads/img/roya/acceso_informacion-roya_del_cafe.pdf

Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación (MAGA). (2013). *Información roya del café*. Disponible en: http://web.maga.gob.gt/wp-content/uploads/img/roya/acceso_informacion-roya_del_cafe.pdf

Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación (2014). *Roya del Café*. Recuperado el 10 de noviembre de 2015. [Disponible en:] http://web.maga.gob.gt/wp-content/uploads/img/roya/acceso_informacion-roya_del_cafe.pdf

Ministerio de Educación. (2012). *Estrategia para una educación de calidad para la niñez y juventud guatemalteca*.

Mischke, S. (1997). *A quantitative bioassay for extracellular metabolites that antagonize growth of filamentous fungi, and its use with biocontrol fungi*. *Mycopathologia* 137: 45-52. Disponible en: <http://link.springer.com/article/10.1023%2FA%3A1006814521872>

Mogollón, O., & Solano, M. (2009). *Escuelas Activas, propuestas para mejorar la calidad de la educación*. (A. Flóres, Ed.) Washington.

NEB. (2015). *PCR Touchdown*. Disponible en: <https://www.neb.com/faqs/1/01/01/what-is-touchdown-pcr>

Orengo, J. *Desarrollo de la adolescencia-capítulo 16*. Sistema Universitario Ana G. Méndez. Puerto Rico. Recuperado el 13 de octubre de 2015. [Disponible en:] http://www.suagm.edu/umet/biblioteca/Reserva_Profesores/janette_orengo_educ_173/Desarrollo_cognitivo_en_la_adolescencia.pdf

Padilla R. (2009). *Desarrollo psicoevolutivo en niños de 6 – 12 años*. . [en línea] disponible en: http://www.csi-csif.es/andalucia/modules/mod_ense/revista/pdf/Numero_14/RAFAEL_PADILLA_1.pdf [2015, noviembre 2].

Pastoral Movilidad Humana y Unicef, 2013. *Informe sobre avances y desafíos en la protección internacional*. Recurado el 15 de noviembre de 2014. [Disponible en:] <http://www.movilidadhumana.com/informe-sobre-avances-y-desafios-en-la-proteccion-internacional/>

Posada, Á. H. (2006). *El subistema en la etapa escolar*. Recuperado el 5 de noviembre de 2014. [Disponible en:] <http://www.redalyc.org/pdf/741/74160108.pdf>

Prendes, M. (2000) *El diseño y la producción de manuales escolares*. Universidad de Murcia, España. Recuperado el 5 de mayo de 2015. [Disponible en:] <http://ocw.um.es/gat/contenidos/mpaz/tema4/evaluacionlibrostexto.pdf>

Prendes, M. (2001) *Evaluación de manuales escolares*. Universidad de Murcia, España. Recuperado el 25 de abril de 2015. [Disponible en:] <http://www.sav.us.es/pixelbit/pixelbit/articulos/n16/n16art/art167.htm>

Prendes, M. *El diseño y la producción de manuales escolares*. Universidad de Murcia, España. [en línea] disponible en: <http://ocw.um.es/gat/contenidos/mpaz/tema4/evaluacionlibrostexto.pdf> [2015, 5 mayo]

Prieto D. (2010) *La Mediación Pedagógica* [en línea], disponible en: <http://es.slideshare.net/cintiafredes/mediacin-pedaggica-13521789> [2015, de noviembre 6].

Promega. (2013). *QuantusTM Fluorometer Operating Manual*. Instructions for use of Product E6150.

Promega. (2014). *Usage information. General consideration*. GoTaq® G2 Colorless Master Mix.

Ramírez, E; Álvarez, J; Fajardo, O. *Manejo fitosanitario de la roya del café*. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación, Guatemala. [en línea] Disponible en: http://web.maga.gob.gt/wp-content/uploads/img/roya/manejo_fitosanitario_de_la_roya_del_cafe.pdf [2015, junio 3]

Ramírez, E; Álvarez, J; Fajardo, O. *Manejo fitosanitario de la roya del café*. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación, Guatemala. Recuperado el 3 de junio de 2015. [Disponible en:]

http://web.maga.gob.gt/wpcontent/uploads/img/roya/manejo_fitosanitario_de_la_roya_de_l_cafe.pdf

Rayner, W. (1962) *Control of coffee rust in Kenya by fungicides*, Annals of Applied Biology, Vol 50, pags, 261.

Real academia española (2015) Diccionario de la Real Academia Española, redición en línea. Recuperado el 4 de septiembre de 2015. [Disponible en:] www.rae.es

Recinto universitario de mayagüez, *Historia del café*, recuperado el 2 de Julio del 2015, <http://academic.uprm.edu/mmonroig/id50.htm>

Revista Bibliográfica de Geografía y Ciencias Sociales (2006) [en línea] disponible en: <http://www.ub.edu/geocrit/b3w-414.htm> [2015, octubre 30].

Rivera, Jaime, Garcillán, Mencía (2007) *Dirección de marketing: Fundamentos y Aplicaciones*, Esic Editorial, 1ra edición, 434 pags.

Rodríguez, R. Monroig, M. *Manejo de la roya del cafeto*. Recinto Universitario de Mayagüez, Puerto Rico. [en línea] disponible en: <http://academic.uprm.edu/mmonroig/id22.htm> [2015, marzo 14]

Ruiz G., I. (2012). *Psicología del Desarrollo*. Universidad Rafael Landívar, Facultad de Humanidades.

Salinas W, De Volder C. (s.f) *La colección “Histórica de los textos escolares argentinos” de la Biblioteca del Docente*, [en línea] disponible en: <http://www.bn.gov.ar/descargas/pnbc/fondosantiguosyraros/26-3.pdf> [2015, noviembre 5].

Sandoval (s.f) *Psicobiología* Guatemala: Editorial Sandoval Idear

Serrano, J. (2001) *El desarrollo cognitivo del adolescente*. Universidad Jaume I, España. Recuperado el 3 de mayo de 2015. [Disponible en:] <http://www3.uji.es/~betoret/Instruccion/Aprendizaje%20y%20Personalidad/Curso%2012-13/Apuntes%20Tema%202%20El%20desarrollo%20cognitivo%20del%20adolescente.pdf>

Silva, M.C.; V. Várzea, L. Guerra-Guimaraes, H.G. Azinheira, D. Fernandez, A.S. Petitot, B. Bertrand, P. Lashermes y M. Nicole (2006). *Coffee resistance to the main diseases: leaf rust and coffee Berry disease*. Braz. J. Plant Physiol., 18(1): 119-147. Recuperado el 10 de octubre de 2014. [Disponible en:] <http://www.scielo.br/pdf/bjpp/v18n1/a10v18n1>

Suárez, M. (2000). *Las corrientes pedagógicas contemporáneas*. 1 - 10.

Talhinhas, P.; H.G. Azinheira, B. Vieira, A. Loureiro, S. Tavares, D. Batista, E. Morin, A.S. Petitot, O.S. Paulo, J. Poulain, C.D. Silva, S. Duplessis, M.C. Silva y D. Fernández. (2014). *Overview of the functional virulent genome of the coffee leaf rust pathogen Hemileia vastatrix with an emphasis on early stages of infection*. *Frontiers in plant science*. Volume 5, article 88.

Thermo Fisher Scientific Inc. (2014). *Comparison of fluorescence-based quantitation with UV absorbance measurements*. Disponible en: <https://www.thermofisher.com/content/dam/LifeTech/global/life-sciences/Laboratory%20Instruments/Files/1014/Qubit-fluorometric-quantitation-vs-spectrophotometer-measurements.pdf>

Torres Rodríguez, M.T. (2003). *Empleo de los ensayos con plantas en el control de contaminantes tóxicos ambientales*. Rev Cubana Hig Epidemiol; 41(2-3). Disponible en: http://www.bvs.sld.cu/revistas/hie/vol41_2-3_03/hie092-3203.htm

Universidad de Navarra, *Estructura del fruto y del grano de un cafeto*, recuperado el 28 de Junio del 2015, <http://multiblog.educacion.navarra.es/gangsva/2012/05/14/estructura-del-fruto-y-grano-del-cafeto/>

Universidad del Valle de Guatemala, 1998, Revista Universidad del Valle de Guatemala No. 8, Guatemala, pags. 29.1

University of Utah Health Sciences. (2015). PCR. Disponible en: <http://learn.genetics.utah.edu/content/labs/pcr/>

Vandermeer, J.; D. Jackson e I. Perfecto. (2014). *Qualitative Dynamics of the Coffee Rust Epidemic: Educationg Intuition with Theoretical Ecology*. BioScience Advance Access. 64(3): 210-218. Recuperado el 2 de junio de 2015. [Disponible en:] <http://bioscience.oxfordjournals.org/content/64/3/210.full.pdf>

Vásquez, A.(2013) *La roya del café: sus efectos directos en la pérdida de empleo y emigración*, recuperado el 23 de Septiembre del 2014 <http://www.movilidadhumana.com/wp-content/uploads/2013/09/boletin-2.-la-roya-y-sus-efectos-en-el-desempleo-y-emigracion-gt..pdf>

Vásquez, A.(2014) *Informe país de la sociedad civil y academia en Guatemala sobre avances y desafíos en la protección internacional*, recuperado el 18 de Octubre del 2015 <http://www.movilidadhumana.com/informe-sobre-avances-y-desafios-en-la-proteccion-internacional/>

Wendel Lab. (2001). *DNA extraction*. Disponible en: <http://www.eeob.iastate.edu/faculty/WendelJ/dnaextraction.htm>

White, T. J.; T. Bruns, S. Lee y J. W. Taylor. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Pp. 315-322 In: PCR

Protocols: A Guide to Methods and Applications, Editorial Academic Press, Inc. Estados Unidos.

Wintgens, N, (2008). Coffee: Growing, Processing, Sustainable Production: A Guidebook for Growers, Processors, Traders and Researchers, Wiley-VCH, 2 da edición, pags, 1040

Zapata, V. (2012). *Manual de Estrategias de Enseñanza Aprendizaje.*

XI. ANEXOS

Tabla #23: Secuencia de cada gen que se utilizará en el proyecto

Nombre	Secuencia
Hv01268	GTGTCTTGCAGGCCCGCACATTTACCCTTTGTGGGGTGTGGG GGCTTGAAGATCTTAGAACTTCCTTTATATAAATACCTTGGTT ATTTTCGTCCTCATATTTGTCTTCTACTCAACTTCAGTTGGAC CCGAATTTACAATCTTTTAGATAAAAATCTAATATCTGCATCA TCTACCTCTTTCCTTTCTACGTTGTTTGYYTTTTTTTTAATTTG TTTTGCCGTTTGTATTACCTCCATAACGGTGCAATATTAGTGA AGATGATTGCCACCATCATTCAACCGCTTGCAGAGCGAACA CTTTCATTCTCTTGATCGCTGCCATTGCTCAGCTCAATGGTCT CAGCTACAGCATGCCAACACCCGTTATGGTTGGCACCGCAGA AATGCAGGCCAGATGAATGTTTCACTATCAGTTAATAGCCC CACTAAAAAGTTCAAGCCCGTTCCTTGCCTTACGCAATGGA TGCCCTCCAACCGTCTATAATGGCCGTCACTATGAGGGTACA CTATGATGGACATTATATGAAATATATCCAAACGGCGAACAA TCTGACCGAGGAGCTCCAGGCCGCTGTAAAGGCCAAAGATA TGGCTAAACAAGCTATTCTCATACCTAAACTTCGATTCAATTC TGGTGGAGTCCACAATCACGGATTGTTCTGGCTTAACCTTCA ACCTACAGCTCAAGGTGGCGGCAAATTGAAAGATGGTTTACT GAAAAAGATGATTGAAAAGAAATGGTCTTCGCTCGCCAAATT CCAAAGTATTTTACCACCTATGCCACTAGCTTAATGGGTTC AGGATGGACATGGCTGGCTGTAGAAATATCCTCCAAAAGCCT TGTGATTGTCACTACTGCTAATCAAGATATCCTTGATGGACG ATATTTTCCAATCATTGGGCTTGATATGTGGGAACATGCTTAC TATCTTGACCGGAAGAACCTCAAGGCCACATATGTTCAATTG TTCTGGGACGTTGTGAACTGGTCAGTAGCTGAGAGTCGTCTC

Nombre	Secuencia
	TTCTGGGACGTTGTGAACTGGTCAGTAGCTGAGAGTCGTCTC AAGGCTGCACTGTCGAAATAAAGTTTCTTTTGTCAAGTTTCA CTGGG
Hv00297	GGTTGTTTTCCATCCTGTTGCCTTTGCCTTTGCCTTTGTCTTTG CCTGTTGCCCCTGCCTTTTTGCCTTTGCCAATCCGTGTTTCTT GATACATGTTTCCCATTGTCTGTCTGATTTGATTCCACTGCTG TTGGCTCCATCCACACCATGCTCGTCTGTCTTTCCCAATCCTT CCGTCCGGCTCTTCGTCCCTCGGCAATAAATCTCCGAACTGC ATATTCTTCTCTTCCCTCTCCGTTCCGCTTGGACTTCAGGGGA AAACACACTCTGCCTGATCTTCCTTACTCTTATGACGCTCTTG AGCCTGCCATCTGCAAGAAGATTATGGAGCTCCATCACTCCA AGCATCATCTTGCATATGTCAATGGACTCAATGCTGCCGAGG AAGCCTTTGAAGGTGCCGTCAAAGCTAACAATATCCAAAAGC AAATCGCCCTGCAGGGTGTCTGAAATTCCATGGAGGTGGCC ACTTGAATCACTCTATATTCTGGAAAAATCTTCAGCCTGTTTC CAAAGGTGGTGGTAAATTGAATGAAGGAACACTCTCCAAAC TTATCAAGGAACAGTTTGGAAAGTTTAGAAGCTCTCCAAAAGG AGATCAATGCCGCAGCCACGGCATTGCAAGGTTCTGGTTGGG TTTGGCTGGGATATTGCACTTCCAAAAGCATCTTGTCAATTG AAACAACCGGAAATCAAGACCCACTTATTAATGCTATTCCCT TGATTGGAATTGACATGTGGGAACATGCATACTATCTTCAGT ATGAAAATCAAAAAGGCAATTACTTGACCAATATTTGGTCAG TTATCAACTATGAGGAAGCGGAAAAAAGGTTACAAGCTGTT ATATAACGGTTACGAGCAGCTCTTTGAAAGCCCAAGTACATT TTGAAAGCTGCTCGATGGTGTGTTGCATCTCTAAGCCTGTTGCA CATAGACGAACGGAAATTCAGTGTATGGGGGCTATGGTGGAT TTTCTCTGATATACATATCAAGGAATACTAAGCCTATACAC AAAATATTTATTGAGCTATATATATATGAAATGTAGTACTA

	GTGTTTTTCACCTGTTGAGTCTGAAATACGAATTTTTTCCTTTG TAGCTGTG
Hv00303	TTTTATTGGGGACTCAACTAAGATCTGACTGAACCCATTCCA CCCTTTCTGTCTATCCACATTTACACACACACAAAACTTGTT TATAATGGTCTTCGTCAGCAGAAATCTTGACTCAAAGTAGC TTTTCTCGCATTTTGCTTGATCTCTTATTCCACAGCTGAGGAT CAGCAGGACTTGGGTTTAATTCAACGAAATCCTCAGCATAAA ACGGCATTACAAAATGCCGAACTGAAAAACACTTATTATCTC TCCAACACGGAGGTTAAGGTTTCTGTGTACAACTTCCAGAC CAGCTTGCCAAACGAGACGAGAACAACCTTGACTCTACGAA AATTCCTGAGCGTCTTTACAAAACCTCACTAGATTGGACTT GACACCATCTGATTGTAATTCCAAAGGATGTTTCACCAATGA TCCTCCAAAGGACCAACAACAGTTTTGGGAAGACTGCAGAC AAATCGAGTTTGCCCAATTTGTTTCCAATGGAAGTGCAGTGA TTGATCCTGGTTATGTTGTTTCCGTCTCTTATAATTCTTGCTTC ATAGCATTTTATAATTTTCAACCCGATAAAGTAATATGGTAC AATTGGGCTATGATGGGAACGCGAGCCCAAGCGCTTCGAAA GAAATGTGTTGGTAATCAAACCCCTAGCAGTGGTGGTATTTG CAACTTTTCCAAATGGCAGAAAGTTATCAAATTACAAAACGT CTTCTTCGAAGTAGCTTTCAACAGAAAATGATGCTTCTAAGA TATCCAAAAGCTTAAGTTGATGTTTTATAACCAGAGTGCCTCA ACTCATTAATATAATGAAAATGAACAGTACGATGCATTGTGA AAAATCAAACAAGTTCATTCTAATTCAAGTAGTCGTGACTCT AAATTTTGTTTTGCTTTATTGGTATGAACATGATAGTCTTTGG GTAACCAAAGTGATTCTATCAACTTGTTCKTTTTTTATGCTT ACTTTATGCGATAATGGATAAAAAAATATGTTGATAGTAGCT AGCTTCCTAGTGGACCACAGAAAGAATATTGCTATGTTTATT GTAACATTTGTTTCTCTTGAGACCTAAGTATAACGAAG ACCCCAAATTTCCAGGAGTGTACGATTAACGTGCTCAATCT TTTGGTGACTATAATAATGATGGACTTTATTACC

Hv00357	<p> ACAGACCCTGTTACTGGCGCCAATCACTTTCCTCCGTTTCACC ATAAAAGACACCMCCTAATCCTAAGTTTAACAACCTGTCACCA CATTCACTCCTTGGATTCTAGTCACAACTTGATTTTTTCATTC TAAATCCATCATTAACAAATATGAAATTTACAATTGCTACTA TCATTCTGTCCTTAGTCACATTAGCTATTCACAATGTTGATGC TCGTGCCAATAATGTAAAAGGGTTCGCCCTCAAGCCATCAA TAAGAATGATATTGTTCAAAGCGGCTACACGCCTTCTGGCTT GCCGTACGCAGTCGTAAAGCAGGAAATCAATTCTCCAAAAG AGACGAAGAAAGCGAGAAATGTGATAAAGACGAAAAAAGC GAGAAATGCAAAAAAGTGAAGAGGTCCGACCTTGATCTCAC TCCCGCTGATCCAACCTCGACAGTCTGCTGGCCAGGTACATT TCAATCTCCTCAGATGGAGGATTGCCAAGTAATCATCGAAGC GCAGTTGTTTAAACAGCTTCGGTAGCTTGAAATGTAATCCTGG AAATTCGTCTATGTTTGGTCAAAAACATGTGCCGTAGTATTC CAAAATCCTGACTATCATGGCAAAATTATTGAGTACAATTGG GCTATGCTCGGCAAAGCCATGTTGCGAATAAAAGATAAGTGT ATGATCAATAACCAGACTCACAGCTGCGGTGGTGTGTTTGGAA TTTGGAAAATACTTGAACATACTTTGAATGATGTTATGATC AGTTTCCAACGTTTTGATCAAACCGTTTCTTGAAATACCTCAA CTTCATTTTCGTTTGGCTGGTTAAACATGGACTCCAATCAAGTC GAACAAAGGACAGTGGAGTTGGAAGAAAACCTAGAATGGAAG GAATTTTTAGTTATTATTAGCGATTCATTTTAATGTACATCCT TGAATTTACCATTCCCTTAGGAAGCAAACTTTCTTGAAAGAC AACAGAAATATAAAACCTAACATTTTATGTAA </p>
Hv01506	<p> CCGGTGACTGCACTCAATAAACGTGACTAGTCAGGGTCAAAG TGTTATTAACCTGAAGCATTAATAACCCAGTAACCTCCG ACTCTCAACATTGACTTTGATCTTACGATTGATTACTTCATGA </p>

<p> TTCCCCGTTGGCCTTCGAATTATGTACAAAAGACAGTAAATT TACTTGAACATGAAAATATTTGATTGTTCAATCGAAGAAGTA AACATAAACCAATTTAAGCCAACAAGTCTTTTGCACGTGAGG GATACCAAAAAACAATGATTCTGCATCCAAATACTCTCATCA AGAGATATCAATACTCATGAAATTCGTGTGACACAAGCATCA GAAACCAATTTAGCTCAACATTGTTAAGCAAAGACTGATCGC CAGCGTTCAGCCCCAATTACGCTGGAGGAGACAGATCCAA ACGTGGCGGAAGATCCGCCCCGAAGGTGTAGTAGATGAAGAA GTCTCAGAGGAGTTCGCATTGTGAGCACCGGTCACATTGGTA CCGGCGGTCATATTGTGCGATGTAGAAGAAGTATTAGTCATG TTTGCAGTCATGCCTGCAATGGACCCAGGAACAGCACTACAA GATGAAACGCCAAATTTAATAGCTGCTTCCCCTTCGCTTGAG TTGCAGCTTTGGGCGAGACAATGGGCAACACCTTTCTGGAAG GTTTCATCCGTACATATGCAAGTAAAGTTGGTAAGACTAATA CAAGGAGATTTTGAAAGCTGCGTGGAGGAACATTGGATAGC ACAGGCTGCTGGAAGCCCAGGAGCACTGGTTGAATCGGCGG TAGTGGAACGTTAGTTGAAGGATCAGCAGCAATCAAGAAA GAAACAAGAGAGAAGTGGAACAAAATCCAAAAAATAACAT GATGATTGGATGAGATGTATAAGTTAGACAATAGGACTGAG ATGAGGAAGAGCGAAGATGGGATATTTCCAAGGCTTTAAAT GATACTCAAGAAAGTGAAGCGTGCACCAAGTAAGGTGAATA AGCAAAGCTGGTGATGGGAAAACAAGAAGAAGAAGCTAGA ATATGTGGAAGGACACTCTACTAGTTTGTATGTGGCTAAAAC AGAGGATCCCCAATAA </p>
--

Se muestran las secuencias de los genes de proteínas secretoras anotadas por Talhinhos et al. (2014). Dichas secuencias se utilizaron para la obtención de primers, pcr in sílico y gel de agarosa simulado.

Tabla #24: Tabla de costos

Cantidad	Unidad	Material	Presentación	Marca	Proveedor	Valor por unidad	Valor por prueba
0.0818	gramos	NaCl	500	MP Biomedicals	Dilab	471	0.08
0.0121	gramos	Tris HCl	100	Promega	Dilab	485.65	0.06
0.00744	gramos	EDTA	500	Promega	Dilab	1234.25	0.02
0.02	gramos	CTAB	100	MP Biomedicals	Dilab	620	0.12
0.01	gramos	PVP soluble	100	MP Biomedicals	Dilab	562.75	0.06
0.0061	gramos	Sarcosil al 5%	50	Sigma Aldrich	Dilab	360	0.04
0.25	mililitros	Cloroformo	100	MP Biomedicals	Dilab	643.85	1.62
0.25	mililitros	Isopropanol	3785		Dilab	34.5	0.01
76	mililitros	Etanol	3785		Dilab		1.30
1.8925	litros	Agua destilada	3.785		Dilab	24.75	12.38
500	Reacciones	Taq buffer	0	Promega	Dilab	0	0.00
0.0000714	gramos	MgCl2	100	MP Biomedicals	Dilab	643.85	0.00
5	milimol	DNTP's (A, T, C y G)	400	Promega	Dilab	3508	43.85
10	micro moles	Primer F	27		Dilab	222.15	82.28
10	micro moles	Primer R	27		Dilab	222.15	82.28
2.5	unidades	Taq polimerasa	100	Promega	Dilab	2104.75	52.62
1	litros	TAE	5	Promega	Dilab	4540	308.00
10	gramos	Agarosa	100	Promega	Dilab	1855	185.50
1000	unidad	Puntas p10	1000	Eppendorf	Dilab	530	0.53
1000	unidad	Puntas p100	1000	Eppendorf	Dilab	360.25	0.36
1000	unidad	Puntas p1000	1000	Eppendorf	Dilab	360.75	0.36
1	unidad	Micropipeta p10	1	Eppendorf	Dilab	6556	6556.00
1	unidad	Micropipeta p100	1	Eppendorf	Dilab	0	0.00
1	unidad	Micropipeta p1000	1	Eppendorf	Dilab	0	0.00
1000	unidad	Tubos eppendorf 1.5ml	1000	Eppendorf	Dilab	452.5	452.50
1	unidad	Gradilla	1	Bel Art	Dilab	258.25	258.25
1	unidad	Sacabocados	1	Barrilito	Librería	7	7.00
1	unidad	Mortero con pistilo	1	Marienfeld	Dilab	611.8	611.80
1	unidad	Espectofotómetro	1	Eppendorf	Dilab	70450	1.61
1	unidad	Cámara de electroforesis	1	Fisher	Dilab	7634	0.18
1	Unidad	Fuente de poder	1	Fisher	Dilab	6658	0.15
1	unidad	Termociclador	1	Eppendorf	Dilab	71700	6.55
1	unidad	Campana de flujo laminar	1	Nusire	Dilab	70000	1.60
1	unidad	Balanza analítica	1	Ohaus	Dilab	18308.55	0.14
1	unidad	Autoclave	1	All American	Dilab	7404.5	0.34
1	unidad	Transiluminador	1	Fisher	Dilab	74210	0.85
1	unidad	Medidor PH	1	Ohaus	Dilab	2813	0.02
1	unidad	Centrifugadora	1	Eppendorf	Dilab	23681	0.36
1	unidad	Refrigeradora	1	Fogel	Dilab	3430	0.43
TOTAL						330944.25	3269.83

(Datos recopilados)

Imagen #26: Muestras de hojas de café recolectadas en la UVG

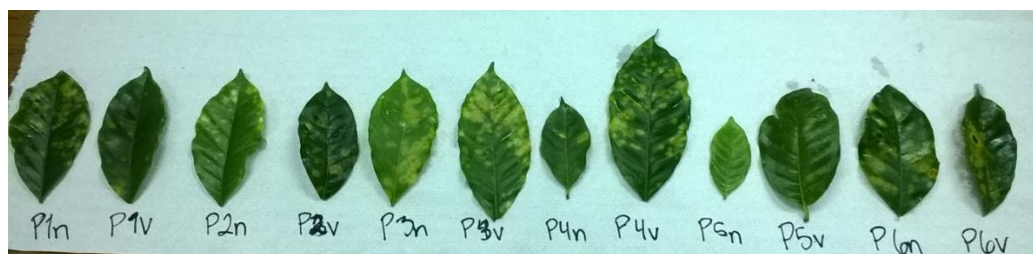


Imagen #27: Control positivo y negativo

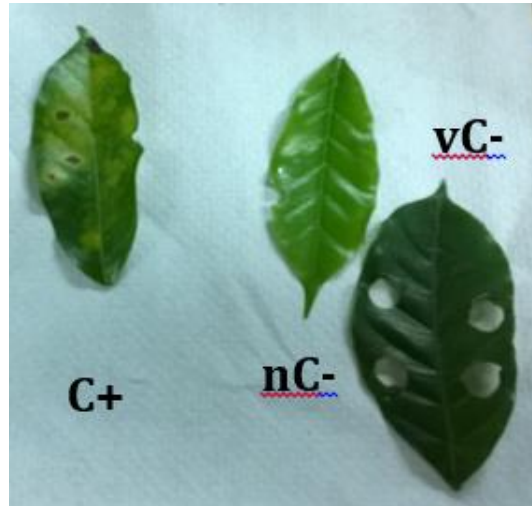


Imagen #28: Visita a finca Los Andes 1



Imagen #29: Visita a finca Los Andes 2



Imagen #30: Visita a finca Los Andes 3



XII. GLOSARIO

1. **Cebador o primers:** Cadena de ADN que aporta a la ADN polimerasa el extremo terminal 3'OH necesario.
2. **Gen:** Segmento de ADN que contiene la información para un solo polipéptido.
3. **Genoma:** Complemento de información genética única de cada especie de organismo.
4. **Patógeno:** Cualquier agente capaz de causar infección o enfermedad una célula u organismo.
5. **PCR:** Reacción en Cadena de la Polimerasa