"CARACTERIZACIÓN AGRO-MORFOLOGICA DEL MAÍZ (Zea mays L.) DE LA LOCALIDAD SAN JOSÉ DE CHAZO."

EDISON FERNANDO GUACHO ABARCA

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE INGENIERO AGRÓNOMO

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE RECURSOS NATURALES

ESCUELA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

RIOBAMBA – ECUADOR

2014

EL TRIBUNAL DE TESIS CERTIFICA, que el trabajo de investigación titulado ""CARACTERIZACIÓN AGRO-MORFOLOGICA DEL MAÍZ (Zea mays L.) DE LA LOCALIDAD SAN JOSÉ DE CHAZO", De responsabilidad del Sr. Egresado Edison Fernando Guacho Abarca, ha sido prolijamente revisada quedando autorizada su presentación.

TRIBUNAL DE TESIS	
ING. DAVID CABALLERO. DIRECTOR	
ING. FERNANDO ROMERO. MIEMBRO	

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE RECURSOS NATURALES ESCUELA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA RIOBAMBA – ECUADOR 2014

DEDICATORIA

A Dios por cuidarme y guiarme en todo momento, a mis padres, a mis hermanas y todos aquellas personas de gran corazón, que siempre estuvieron a mi lado, brindándome su cariño y ayuda oportuna, para hacer realidad este sueño, anhelado desde mi niñez .

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios, a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo y en especial a la Escuela de Ingeniería Agronómica.

A mi director de tesis Ing. David Caballero, a mi asesor Ing. Fernando Romero, por su grata colaboración, sus enseñanzas y guía brindada para la culminación de este trabajo.

De manera especial al Ing. Guillermo Pino, que junto a la FAO me brindaron su confianza y apoyo incondicional para llevar a cabo esta investigación.

A los habitantes de la Parroquia San José de Chazo, por permitirme participar en sus actividades agrícolas.

Y un especial agradecimiento a toda mi familia, por llenarme día a día de ánimo y valor para afrontar las adversidades de la vida.

TABLA DE CONTENIDO

CAPÍTULO		Página
	LISTA DE TABLAS	ii
	LISTA DE CUADROS	iii
	LISTA DE GRÁFICOS	iv
	LISTA DE ANEXOS	V
l.	TÍTULO	1
II.	INTRODUCCIÓN	1
III.	REVISIÓN DE LITERATURA	4
IV.	MATERIALES Y MÉTODOS	27
V.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	46
VI.	CONCLUSIONES	64
VII.	RECOMENDACIONES	66
VIII.	RESUMEN	67
IX.	SUMMARY	68
X.	BIBLIOGRAFÍA	69
XI.	ANEXOS	73

LISTA DE TABLAS

Nº	Descripción	Página
1	CLASIFICACIÓN COMERCIAL DEL MAÍZ BASADO EN EL COLOR.	6
2	REQUERIMIENTO TÉRMICO SEGÚN EL CICLO FENOLÓGICO DEL MAÍZ.	19
3	PRINCIPALES INSECTOS PLAGA DEL CULTIVO DE MAÍZ DE LA SIERRA.	23
4	PRINCIPALES NEMATODOS QUE AFECTAN AL CULTIVO DEL MAÍZ DE LA SIERRA.	24
5	PRINCIPALES ENFERMEDADES DEL CULTIVO DE MAÍZ DE LA SIERRA.	24
6	COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL PORCENTAJE DE PROTEÍNA Y ALMIDÓN DEL MAÍZ.	26
7	ESCALA PARA DETERMINAR COBERTURA DE LA MAZORCA.	33
8	SEVERIDAD DE INFECCIÓN DE ENFERMEDADES FOLIARES.	37
9	COMBINACIÓN DE PRIMERS EMPLEADOS EN EL ANÁLISIS MOLECULAR DE MAIZ.	43

LISTA DE CUADROS

Nº	Descripción	Página
1	IDENTIFICACION DEL MATERIAL INICIAL.	30
2	DATOS DE RECOLECCIÓN EN SAN JOSÉ DE CHAZO.	46
3	CARACTERÍSTICAS CUALITATIVAS DEL MATERIAL RECOLECTADO.	47
4	CARACTERÍSTICAS CUANTITATIVAS DEL MATERIAL RECOLECTADO.	48
5	CONCENTRACIÓN DE ADN EN LAS MUESTRAS ANALIZADAS.	50
6	ANÁLISIS MOLECULAR DE 100 MUESTRAS DE MAÍZ CON DOCE MARCADORES MOLECULARES MICROSATÉLITES.	51
7	CARACTERES GENÉTICOS ANALIZADOS EN CADA MUESTRA.	53
8	DISTANCIA GENÉTICA OBTENIDA ENTRE LAS 10 MUESTRAS ANALIZADAS.	54
9	SIMILITUD ENTRE LAS MUESTRAS CALCULADA CON EL COEFICIENTE DE PEARSON.	55
10	DISTANCIA GENÉTICA BASADA EN EL COEFICIENTE DE PEARSON.	55
11	FRECUENCIA DE CARACTERES CUALITATIVOS EN 10 MUESTRAS DE MAÍZ DE LA LOCALIDAD SAN JOSÉ DE CHAZO.	58
12	ANÁLISIS FUNCIONAL DE LOS CARACTERES CUANTITATIVOS DE 10 MUESTRAS DE MAÍZ DE LA LOCALIDAD SAN JOSÉ DE CHAZO.	60
13	ENFERMEDAD FOLIAR Y DAÑO DE MAZORCA.	63

LISTA DE GRÁFICOS

Nº	Descripción	Página
1	REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DEL MÉTODO DE AISLAMIENTO DE MICROSATÉLITES.	14
2	ORGANIGRAMA DE MEJORAMIENTO DE POBLACIONES DE MAÍZ.	17
3	LONGITUD Y DIÁMETRO DE MAZORCA DE LAS MUESTRAS RECOLECTADAS (cm).	49
4	LONGITUD Y ANCHO DEL GRANO DE LAS MUESTRAS RECOLECTADAS (cm).	49
5	DENDROGRAMA FILOGENÉTICO DE LAS MUESTRAS RECOLECTADAS.	56
6	ALTURA DE PLANTA Y MAZORCA (cm).	61
7	LONGITUD Y DIÁMETRO DE MAZORCA (cm).	61
8	NUMERO DE HILERAS Y NUMERO DE GRANOS POR MAZORCA.	62
9	PESO DE LA MAZORCA (g).	62
10	RENDIMIENTO (t/ha).	63

LISTA DE ANEXOS

Nº	Descripción	Página
1	CICLO VEGETATIVO DEL MAÍZ.	73
2	ESTADO FENOLÓGICO Y REPRODUCTIVO DEL MAÍZ.	73
3	MAPA DE RECOLECCIÓN DEL MATERIAL.	74
4	DISEÑO DE LA PARCELA.	75
5	FORMA DE LA MAZORCA.	76
6	DISPOSICIÓN DE LAS HILERAS DE GRANO.	76
7	LONGITUD Y DIÁMETRO DE LA MAZORCA.	76
8	IMÁGENES DEL PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS MOLECULAR.	77
9	MÉTODO DE EXTRACCIÓN DE ADN CON CTAB.	78
10	GENOTIPADO DE 100 MUESTRAS DE MAÍZ CON 12 MARCADORES MOLECULARES MICROSATÉLITES (Tamaño de marcadores).	81
11	DISTANCIA GENÉTICA ENTRE MUESTRAS Y SUBMUESTRAS.	85

I. CARACTERIZACIÓN AGRO-MORFOLOGICA DEL MAÍZ (Zea mays L.) DE LA LOCALIDAD SAN JOSÉ DE CHAZO.

II. <u>INTRODUCCIÓN</u>

El maíz desde la antigüedad ha sido uno de los principales cultivos de América latina, tiene su origen en México donde existen alrededor de 2000 especies, mientras que en Ecuador hasta la fecha se han descrito 29 razas, de las cuales 17 corresponden a maíz de la Sierra mientras que las restantes corresponden a maíces de la zona tropical (TIMOTHY, et al.1996). Por otra parte el 18% de las colecciones de Maíz del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) proviene de Ecuador, lo que lo sitúa como el tercer país en cuanto a diversidad de cultivos (CABALLERO, D y YANEZ, C. 2012).

El maíz se cultiva en diferentes pisos altitudinales y ambientes climáticos, por ello lo podemos encontrar en la región sierra del país, comprendida entre los 2000 y 3000 m.s.n.m donde se constituye en un cultivo de importancia económica para la población de esta región; además, este cereal es una excelente fuente de hidratos de carbono por lo que es uno de los elementos básicos de la dieta alimentaria de la población rural (INIAP, 2000).

La importancia de este cereal abarca más campos dentro del desarrollo de la población pues se aprovecha al máximo el material vegetal; así podemos mencionar que los tallos tiernos se los pueden chupar y cuando están secos se usan para forraje de ganado, construcción de chozas, combustible y abono. Además las brácteas que cubren la mazorca son utilizadas en la elaboración de humitas y también se puede elaborar artesanías (ALVAREZ, J. 2007).

La riqueza genética del maíz es de mucha importancia para los trabajos de mejoramiento, que buscan fortalecer la seguridad alimentaria del país (TIMOTHY, et al., 1966).

Las razas de maíz de la serranía ecuatoriana, se caracterizan por ser de tipo harinoso y semiduros. La distribución de algunos tipos de maíz cultivados se debe a

los gustos y a las costumbres de los agricultores de las diferentes zonas andinas del país. De esta manera, podemos indicar que en la parte central (Chimborazo y Bolívar) se cultivan los maíces blanco harinosos, teniendo en Chimborazo una superficie cultivada de maíz de 12.906 ha (INIAP, 2011).

Según el Instituto Nacional de Estadística y Censos, la superficie promedio cultivada de maíz de altura (solo y asociado) es de 238.614 ha, con rendimientos promedios de 0,45 t/ha para maíz suave en seco y 1,4 t/ha para maíz suave en choclo (INEC; MAGAP, 2012).

A. JUSTIFICACIÓN

En el Ecuador existen variedades locales de maíz que no cuentan con una descripción agronómica y morfológica que ayuden al agricultor a desarrollar sistemas eficientes de producción y establecer épocas definidas para el establecimiento del cultivo que garanticen la seguridad alimentaria, sostenibilidad rural y supervivencia de las futuras generaciones.

Por otra parte el maíz de Chazo se ha hecho popular entre los agricultores del centro del país, que acuden a esta localidad para adquirir la semilla, pues según ellos se adapta muy bien a otras zonas de producción, alcanzando altos rendimientos, que para el agricultor significa excelentes cosechas, que les permiten alcanzar mayores ingresos.

Por esta razón se ha visto la necesidad de realizar una descripción agro-morfológica de este material, con la finalidad de generar información que permita a los agricultores de esta zona documentar su patrimonio genético y protegerlo de algún intento de biopiratería.

B. OBJETIVOS

1. General

Determinar las características agro-morfológicas el maíz de la localidad San José de Chazo, cantón Guano, provincia de Chimborazo.

2. Específicos

- a. Identificar las características morfológicas del maíz local.
- b. Determinar las características agronómicas.
- c. Caracterizar las etapas fenológicas de este maíz local.

C. HIPÓTESIS

1. Hipótesis nula

El maíz cultivado en San José de Chazo presenta características agro-morfológicas heterogéneas.

2. Hipótesis alternante

El maíz cultivado en San José de Chazo presenta características agro-morfológicas homogéneas.

REVISIÓN LITERARIA III.

A. EL MAIZ

1. Origen

El origen del maíz ha sido causa de discusión desde hace mucho tiempo.

Numerosas investigaciones revelan que esta gramínea tiene su origen en México

hace unos 7000 años, como el resultado de la mutación de una gramínea silvestre

llamada Teosinte. Y seguramente antiguos mexicanos se interesaron en reproducir

esta planta y por selección, produjeron algunas variedades mutantes (GRUPO

SEMILLAS, 2012).

En Ecuador se dice que el cultivo de maíz se desarrolló hace 6500 años, pues

investigaciones realizadas a partir de fitolitos en muestras de tierra, revelan que en

la Península de Santa Elena (Provincia de Santa Elena), los antiguos habitantes de

la cultura "Las Vegas" ya empezaron a cultivar esta gramínea desarrollando de esta

manera el inicio de una incipiente horticultura (YANEZ, C. 2010).

2. Taxonomía

La clasificación del maíz puede ser botánica o taxonómica, comercial, estructural,

especial y en función de su calidad (CABRERIZO, C. 2012).

a. Botánica

Reino: Vegetal

Familia: Poaceae

Subreino: Embriobionta

Género: Zea

División: Angiospermae

Especie: Mays

Clase: Monocotyledoneae

Nombre científico: Zea mays L.

Orden: Poales

b. Estructural

CABRERIZO, C (2006) señala que el maíz puede dividirse en varios tipos (razas o grupos), en función de calidad, cantidad y patrón de composición del endospermo. Estos son: el maíz dentado, cristalino, amiláceo, dulce y palomero que se los describe a continuación.

Zea mays indentata, conocido también como maíz dentado que tiene una cantidad variable de endospermo corneo (duro) y harinoso (suave). La parte cornea está los lados y detrás del grano, mientras que la porción harinosa se localiza en la zona central y en la corona del grano. Se caracteriza por una depresión o "diente" en la corona del grano que se origina por la contracción del endospermo harinoso a medida que se va secando. Se utiliza principalmente para la alimentación humana y el follaje es aprovechado en alimentación animal.

Zea mays indurada, conocido como maíz duro por contener un capa gruesa de endospermo cristalino que cubre un pequeño centro harinoso. Además el grano es liso, redondo y cristalino.

Zea mays amiláceo, conocido como maíz harinoso se caracteriza por tener un endospermo harinoso, no cristalino. Es muy común en la región andina del sur de América.

Zea mays saccharata, conocido como maíz dulce o chulpi, en este tipo de maíz la conversión del azúcar en almidón es retardada durante el desarrollo del endospermo. Se caracteriza también porque su maduración es temprana, tiene mazorca pequeña y un contenido elevado de azúcar en el grano.

Zea mays everta, conocido como el maíz palomero o reventón, considerado como una de las razas más primitivas y es una forma extrema de maíz cristalino. Además se caracteriza por tener un endospermo cristalino muy duro y presentar una porción muy pequeña de endosperma harinoso. Sus granos son redondos (como perlas), o puntiagudos (como arroz). Se emplea principalmente para el consumo humano en forma de rosetas (palomitas).

Zea mays tunicata, conocido como maíz tunicado, se caracteriza porque cada grano está encerrado en una vaina o túnica. La mazorca se encuentra cubierta por "espatas" como los otros tipos de maíz. Se utiliza como fuente de germoplasma en los programas de fitomejoramiento.

c. Comercial

La clasificación del maíz por colores es una formalidad comercial y las características de los diferentes tipos se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Clasificación comercial del maíz basado en el color

Color	Características
	Presenta un valor menor o igual a 5% de maíces amarillos.
Maíz blanco	Un ligero tinte cremoso, pajizo o rosado no influye en esta
	clase.
Maíz amarillo	De granos amarillos o con un trozo rojizo y que tenga un
Maiz amamo	valor menor o igual al 6% de maíces de otro color.
	Maíz blanco que contenga entre 5,1 a 10 % de maíces
Maíz mezclado	amarillos, así como el maíz amarillo que presenta un valor
	entre 5,1 a 10% de maíces blancos.
Presenta un valor menor o igual a 5% de maíces bla	
Maíz negro	amarillos. Siendo superior al 10% de maíces oscuros.

Fuente: (GRUPO SEMILLAS, 2012)

3. Características botánicas

Según MAROTO, J (1998), el maíz presenta las siguientes características botánicas:

a. Raíces

Son fasciculadas y su misión es aportar un perfecto anclaje a la planta. En algunos casos sobresalen unos nudos de las raíces a nivel del suelo y suele ocurrir en aquellas raíces secundarias o adventicias.

b. Tallo

Es simple, erecto en forma de caña y macizo en su interior, tiene una longitud elevada pudiendo alcanzar los 4 metros de altura, además es robusto y no presenta ramificaciones.

c. Hojas

Son largas, lanceoladas, alternas, paralelinervias y de gran tamaño. Se encuentran abrazando al tallo y con presencia de vellosidad en el haz, además los extremos de las hojas son muy afilados y cortantes.

d. Inflorescencia

Es una planta monoica pues presenta inflorescencia masculina y femenina separada dentro de la misma planta. La inflorescencia masculina es una panícula (vulgarmente denominado espigón o penacho) de coloración amarilla que posee aproximadamente entre 20 a 25 millones de granos de polen, además cada flor que compone la panícula contiene tres estambres donde se desarrolla el polen.

En cambio la inflorescencia femenina cuando ha sido fecundada por los granos de polen se denomina mazorca, aquí se encuentran las semillas (granos de maíz) agrupadas a lo largo de un eje, esta mazorca se halla cubierta por hojitas de color verde, terminando en una especie de penacho de color amarillo oscuro, formado por estilos.

e. Grano

La cubierta de la semilla (fruto) se llama pericarpio, es dura, por debajo se encuentra la capa de aleurona que le da color al grano (blanco, amarillo, morado), contiene proteínas y en su interior se halla el endosperma con el 85-90% del peso del grano. El embrión está formado por la radícula y la plúmula.

4. Ciclo del cultivo

Las variedades de maíz suave son diferentes para cada zona. Por lo general la mayoría de los productores siembran desde septiembre hasta mediados de enero, coincidiendo la siembra con el inicio del periodo de lluvias, obteniendo de esta forma

un mayor grado de germinación y producción. El ciclo del cultivo, en variedades mejoradas, llega hasta los 270 días (Anexo 1); sin embargo, el periodo depende de la variedad y del propósito, si es para choclo o grano seco (INIAP, 2011).

5. Fenología del maíz

La fenología del maíz (Anexo 2) se divide en dos estados (INTA, 2012).

<u>ESTADOS VEGETATIVOS</u> <u>ESTADOS REPRODUCTIVOS</u>

VE emergencia R1 sedas

V1 primera hoja R2 ampolla

V2 segunda hoja
R3 Grano lechoso
V3 tercera hoja
R4 Grano pastoso

V(n) enésima hoja R5 Dentado

VT Panoja R6 Madurez Fisiológica

Dentro del desarrollo de los estados fenológicos del maíz ocurren eventos importantes en ciertos estados, que se mencionan a continuación:

V3: El punto de crecimiento está bajo tierra, las bajas temperaturas pueden aumentar el tiempo entre la aparición de las hojas y el daño por helada en este estado tiene muy poco efecto en el crecimiento y en el rendimiento final.

V6: En este estado se recomienda completar la fertilización, puesto el sistema de raíces nodales está bien distribuido en el suelo. También es posible observar síntomas de deficiencias de macro o micro nutrientes.

V9: En este estado varias mazorcas rudimentarias ya se encuentran formadas, la panoja se desarrolla rápidamente en el interior de la planta. Además comienza una rápida acumulación de biomasa, absorción de nutrientes y agua que continuará hasta casi el término del estado reproductivo.

V12: Aquí se determina el tamaño potencial de mazorca y número potencial de óvulos por mazorca. Dado que se está formando el tamaño de la mazorca y número de óvulos, el riego y la nutrición son críticos.

V15: Es el estado más crucial para la determinación del rendimiento. Las hojas aparecen cada uno o dos días y las sedas están comenzando a crecer en las mazorcas superiores.

R1: El número de óvulos fertilizados se determina en este estado. Los óvulos no fertilizados no producen grano y mueren. El estrés ambiental en este momento afecta la polinización y cuaje, especialmente el estrés hídrico que deseca las sedas y los granos de polen. Además a partir del inicio de este estado hasta R5 se produce un rápido llenado del grano por lo que se presenta también ataque de gusano por lo que es necesario realizar controles.

R5: Los granos empiezan a secarse desde la parte superior donde se forma una capa blanca de almidón. El estrés y las heladas pueden reducir el peso de los granos. Llegando a R6 donde el grano alcanza su peso máximo y es cosechado.

B. EVALUACIÓN Y CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DEL MAÍZ

La evaluación y caracterización de germoplasma son actividades rutinarias en proyectos de investigación que involucran el estudio y la valoración del germoplasma en forma general, el término evaluación se refiere a la definición de características determinadas por muchos genes (herencia cuantitativa). Mientras la caracterización apunta a características de herencia mendeliana (SANCHEZ, V. 2002).

La evaluación y caracterización de las colecciones de germoplasma es un paso fundamental dentro del manejo de colecciones pues permiten conocer el germoplasma morfológicamente y así poder depurar u organizar los materiales y sobre todo identificar genotipos valiosos para ser usados directamente o utilizarlos en programas de mejoramiento genético. Por lo tanto es vital tener información

disponible de cada material, sobre caracteres cualitativos y cuantitativos de importancia actual o futura (TAPIA, 1998 citado por SANCHEZ, V. 2002).

Los tipos de caracteres utilizados para caracterizar la diversidad genética son numerosas. Tradicionalmente se ha utilizado las variaciones morfológicas relacionadas especialmente con el hábito de crecimiento, tamaño, forma y color de la semilla (CHICAIZA, O. 1991).

Las plantas cultivadas con importancia económica tienen sus patrones de identificación, caracterización y evaluación. Para llegar a estos protocolos se ha realizado estudios básicos de las características en el sentido de conocer la variabilidad de los caracteres cualitativos o cuantitativos que han resultado ser más útiles para la descripción (ENRIQUEZ, G. 1991 y CIMMYT, 1998).

Según TAPIA (1998), la caracterización incluye la descripción morfológica básica de las accesiones, identificación, clasificación, contaminación de semillas, etc. Usualmente es ejecutada en el tiempo de la generación o incremento de la semilla. Para la caracterización se toma en cuenta los descriptores cualitativos (color y textura del grano, color de planta, etc.), y aquellos descriptores cuantitativos que son muy poco influenciados por el ambiente (altura de la planta, número de hojas por planta, número de ramificaciones de la espiga, etc.). La evaluación se la realiza en el espacio y en el tiempo, por lo tanto requiere evaluar varias veces en distintos sitios un mismo material. Los datos de caracterización son constantes por eso bastará con una sola caracterización del material.

1. Tipos de evaluación

NIETO, et al., (1984) citado por SANCHEZ, V (2002) manifiesta:

a. Con fines de identificación o lo que se llama recopilación de datos PASAPORTE. Esta información es tomada, tanto al momento de hacer las recolecciones, como al ingresar las muestras a la cámara o al sitio de plantación (colecciones vivas) para ser conservadas y fundamentalmente debe cubrir lo siguiente:

- Ubicación geográfica del sitio de recolección.
- Características medioambientales del sitio donde se tomó la muestra.
- Fechas, tanto de recolección como de entrada a la cámara o sitio de conservación.
- Identificación de la persona o institución que recolectó o donó el material.
- Cualquier otra información que ayude a identificar debidamente la colección.
- b. Aquella que está encaminada a caracterizar a la población de la cual procede la muestra o entrada, a base de observar a los individuos que componen ésta. La información aquí recopilada se basa fundamentalmente en los caracteres, tanto anatómicos como morfológicos y fisiológicos mediante los cuales se llega a identificar o caracterizar a los individuos en una forma que nos permita encontrar las semejanzas y diferencias entre las colecciones o entradas dentro de una especie.
- c. La preliminar agronómica, la misma que se basa en caracteres, tanto fenológicos (germinación, floración, maduración, etc.), como en el potencial de rendimiento y la reacción a la presencia de plagas y enfermedades, es decir, al comportamiento agronómico en general frente a los diferentes ambientes.

2. Metodología de evaluación

NIETO, et al., (1984) citado por SANCHEZ, V (2002) manifiesta que los métodos que se deben seguir para realizar la evaluación de una colección de germoplasma varían de acuerdo con la especie y al sitio de evaluación. Cuando la caracterización o evaluación se realiza en el campo se debe asegurar la suficiente cantidad de individuos por entrada, con la finalidad de poder tomar al azar un número adecuado de ellos y lograr que representen a la población al momento de ser evaluados, considerando que al realizar una recolección del material germoplásmico se practica un tipo de muestreo adecuado para que la muestra tomada represente la variabilidad genética de la población, durante la evaluación. También indican que tenemos que lograr que los datos tomados sean el reflejo de las características de la población, por lo que se aconseja que el mínimo número de individuos a ser avaluados por colección o entrada sea de 10, es decir, que cualquier característica medida o evaluada deba ser el promedio de 10 datos.

C. CARACTERIZACIÓN MOLECULAR

La caracterización molecular constituye una herramienta complementaria a las evaluaciones agro-morfológicas, está constituido por un grupo de técnicas que permiten detectar diferencias a nivel de las secuencias de ADN. Para su estudio genético se utiliza marcadores moleculares (fragmento específico de ADN) que evitan que el efecto del ambiente enmascare la variabilidad, lo cual se conoce como neutralidad de los caracteres moleculares (YANEZ, et al., 2003).

1. Marcadores moleculares

Un marcador es un fragmento específico de ADN que puede ser identificado en el genoma. Los marcadores moleculares están localizados en lugares específicos del genoma y se usan para marcar la posición de un gen en concreto o la herencia de una característica particular (MORILLO, et al., 2011).

Los marcadores moleculares permiten identificar poblaciones con una diversidad genética reducida y generalmente más vulnerables a un posible cambio ambiental, así también distinguir subpoblaciones genéticamente diferenciadas del resto para dirigir los esfuerzos de conservación hacia ellas. Del mismo modo, permiten descubrir genealogías génicas y conocer el grado de parentesco entre individuos a fin de programar cruzamientos que prevengan niveles de consanguinidad altos que puedan llevar a la depresión biológica y su posible extinción (SUNNUCKS, P. 2000).

El mismo SUNNUCKS (2000), indica que la popularidad en el uso de distintos marcadores ha variado con el tiempo. La aplicación por primera vez de las técnicas de electroforesis de enzimas (separación en un campo eléctrico de proteínas) a mediados de los años 60 supuso un gran avance en la detección de variabilidad genética; aunque paulatinamente se han sustituido por otros marcadores moleculares que detectan polimorfismos a nivel de ADN, como los RFLPs (Restriction Fragment-Length Polymorphisms). Sin embargo, con el desarrollo y generalización de la PCR (Polymerase Chain Reaction) tomaron ventaja una serie de marcadores que de otra forma no podrían haber progresado, como es el caso de los microsatélites y minisatélites. Así pues, la publicación en 1989 de tres trabajos sobre el aislamiento y caracterización de microsatélites supuso el inicio del empleo,

de una forma cada vez más generalizada de este marcador, y que ha terminado revolucionando los campos de la biología molecular, la genética cuantitativa y la genética de poblaciones.

2. Microsatélites

La utilización de microsatélites como marcador "molecular" en estudios de conservación de la biodiversidad ha aumentado considerablemente. Son particularmente útiles para resolver diversas cuestiones relacionadas con la conservación de la diversidad genómica, como la detección de posibles cuellos de botella, medida del flujo génico e hibridación entre poblaciones, determinación de paternidades, asignación de individuos a su población de origen y determinación de la estructura poblacional (GONZALES, G. 2003).

Los microsatélites, son marcadores repetitivos constituidos por secuencias cortas de 1 a 6 pares de bases nucleotídicas que se repiten en tándem un elevado número de veces, presentan herencia mendeliana simple, son codominantes (pudiéndose diferenciar los individuos homocigóticos de los heterocigóticos), y con un número muy alto de alelos en un mismo locus (altamente polimórficos). Su genotipado resulta fácil y automatizable, con la posibilidad de realizar amplificaciones múltiples en una misma reacción de PCR, con resultados fáciles de analizar, fiables y repetitivos. Además son abundantes en los genomas nucleares de todos los eucariotas, algunos procariotas, en los genomas de cloroplastos de las plantas e incluso hay evidencias de su presencia en algunos genomas mitocondriales de vertebrados (JEHLE, et al., 1996).

a. Obtención, clonación y aislamiento de microsatélites

RASSMANN et al., (1991), indican que existen numerosos métodos disponibles para el aislamiento de microsatélites y la elección de uno u otro depende de las limitaciones técnicas de que se dispongan, de los objetivos que se busquen para el trabajo y de las características de la especie a estudiar. Además señala que el método más sencillo consiste en la búsqueda e identificación de microsatélites mediante sondas en librerías genómicas o genotecas completas. Esta estrategia de aislamiento es más efectiva en grupos en los que la cantidad de secuencias de

microsatélites es alta o cuando se requiere un número bajo de microsatélites, como por ejemplo en estudios de asignación de parentesco. Pero el método más ampliamente utilizado es la construcción de genotecas enriquecidas, que se diferencia del primer método porque los fragmentos utilizados para construir la genoteca ya son ricos en microsatélites (Figura 1).

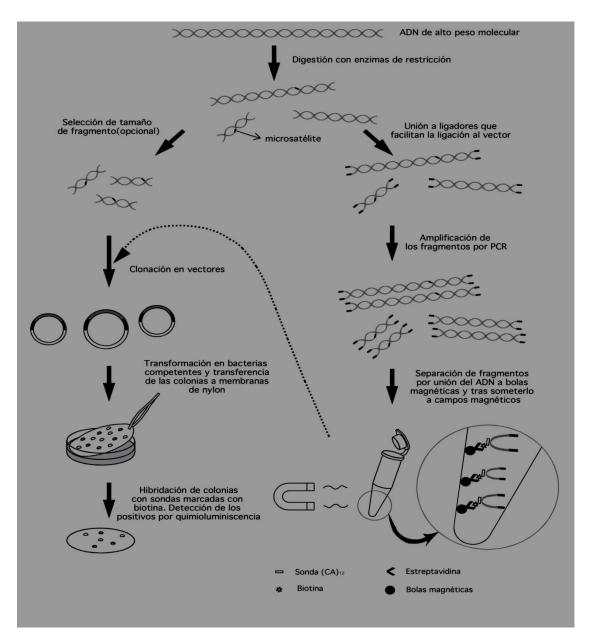


Fig. 1. Representación esquemática del método de aislamiento de microsatélites. Izquierda: método basado en librerías genómicas completas Derecha: método basado en librerías genómicas enriquecidas

b. Ventajas e inconvenientes de los microsatélites

Las ventajas que ofrecen los microsatélites se deben en parte a la posibilidad de la amplificación en cadena de la polimerasa (PCR), ya que el tejido que se utiliza no necesita ser de mucha calidad, e incluso ADN en estado avanzado de degradación es suficiente para ser analizado (GONZALES, G. 2003).

Los microsatélites son marcadores apropiados para el estudio de genética de poblaciones en especies en peligro de extinción porque se pueden amplificar a partir de muestras de pelo, heces, huesos, plumas, sangre, conservas de museos y colecciones privadas de años de antigüedad que no suponen el sacrificio de los individuos a estudiar (ELLEGREN, H. 2000).

Hoy día se empiezan a aplicar diversos métodos para el análisis estadístico de microsatélites, con máxima verosimilitud, coalescencia y estadística Bayesiana (WHITTAKER, et al., 2003).

En cuanto a los inconvenientes, uno de ellos es que en muchos casos resulta necesario aislar y caracterizar marcadores específicos para la especie objeto de estudio, lo que supone un elevado esfuerzo en términos de tiempo y recursos económicos. Esto puede resultar un inconveniente añadido para ciertos grupos de organismos en los cuales su aislamiento y obtención resulta muy difícil técnicamente, o bien porque los microsatélites aislados para un grupo sean inadecuados para grupos próximos. Sin embargo, en algunos casos los cebadores desarrollados para una especie se pueden utilizar en taxones cercanos sin tener que aislarlos específicamente para cada especie (PRIMMER, et al., 1996).

D. MEJORAMIENTO GENÉTICO

El objetivo del mejoramiento genético es el de introducir diversidad genética, teniendo como principal actividad el de escoger dentro de una población, a los individuos que ofrecen las mejores características logrando una evolución acelerada de dicha población seleccionada. Para ello es necesario que exista variación no solo fenotípica sino también genética (MARQUEZ, 1985 y BORLAUG, 1983 citados por CAICEDO, M. 2001).

ROBLES, R (1986) indica que el mejoramiento de plantas cultivadas tiene un fin primordial que es la creación de variedades de alta producción por unidad de superficie, en un determinado medio y con determinados procedimientos culturales. Concluyendo que el mejoramiento de especies cultivadas procura la obtención de materiales:

- Resistentes a plagas, enfermedades y acame de tallos.
- Precoces.
- De fácil adaptación.
- Y nutritivamente ricos en proteína, almidón, aceites, etc.

1. Formación de poblaciones

El Inventario Tecnológico del Programa de maíz del INIAP señala que las entradas promisorias se integran en las poblaciones para el mejoramiento que dispone el programa de maíz del INIAP, mediante cruzamientos dirigidos o incluyéndolas como familias (donantes) en los lotes de selección. Para lo cual se utiliza la metodología de mejoramiento de medios hermanos.

a. Metodología

- Sembrar 3000 a 5000 plantas (aislamiento).
- Seleccionar 300 mazorcas.
- Desgranar las mazorcas individualmente.
- Evaluar cada familia en ensayos de medios hermanos (MH) con repeticiones y en varias localidades.
- Recombinar las familias seleccionadas, para ello se puede usar mezcla balanceada (semilla remanente) de las familias seleccionadas para sembrar el lote de recombinación, lo que se puede apreciar en resumen en la Figura 2.

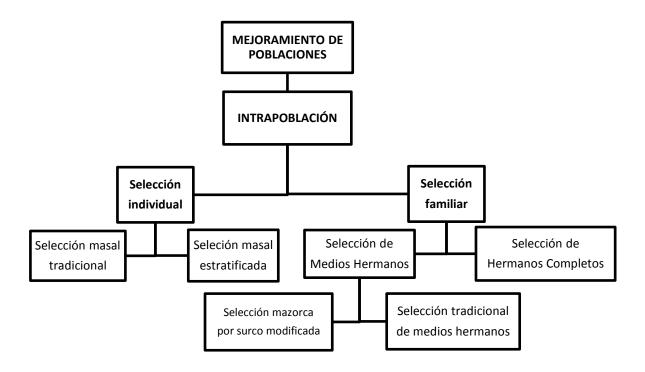


Fig. 2. Organigrama de Mejoramiento de Poblaciones de Maíz

2. Generación de poblaciones en base a materiales locales

Las poblaciones se generan en base a colectas de razas o complejos raciales del campo donadas por agricultores o por accesiones del banco de germoplasma. Durante el proceso de investigación transferencia y capacitación los agricultores de las diferentes regiones participan activamente, así también han sido coparticipes de las evaluaciones agronómicas y en la aceptación o preferencia de un determinado tipo de grano, paro lo cual se utiliza la metodología de investigación participativa y enfoque del género (YANEZ, et al., 2005).

E. REQUERIMIENTOS EDAFOCLIMÁTICOS DEL CULTIVO

1. Suelo

El maíz se adapta muy bien a todos los tipos de suelo, pero en suelos de textura franca, franco-arcilloso y franco-limoso, con pH de 6,5 a 7,5 es donde se aprecia el mejor desarrollo. Requieren además suelos profundos, ricos en materia orgánica con buen drenaje (INFOAGRO, 2012), para impedir el encharque y consecuente asfixia de las raíces (YANEZ, et al., 2005).

Según INIAP (2011), cuando se siembra en estos suelos, las semillas van a germinar con más facilidad; Las plantas serán fuertes y vigorosas y se obtienen mazorcas grandes y granos de calidad.

2. Clima

El maíz suave se cultiva entre los 2200 a 3100 m.s.n.m; En un clima templado-frio y sub-cálido. Requiere de una temperatura de 10 a 20 °C y de bastante luz solar para su crecimiento y desarrollo. Algo que es importante es que la temperatura óptima para la germinación de la semilla está entre los 15 a 20 °C (YANEZ, et al., 2005).

La FAO (2012), indica que el maíz requiere una temperatura que está entre 15 y 30 °C; menciona además, que el maíz puede soportar temperaturas mínimas de 8 °C y a partir de los 30 °C pueden aparecer problemas de mala absorción de nutrientes minerales y agua. Se menciona además que la temperatura ideal para el desarrollo de la mazorca está entre los 20 a 32 °C.

El Manual de Agricultura del 2001 menciona que el maíz requiere de un porcentaje de humedad que está entre 80 –90%, una pluviosidad que va desde los 700 a 1300 mm. También menciona un cuadro resumen de las temperaturas ideales para cada etapa fenológica que se presentan a continuación:

Tabla 2. Requerimiento térmico según el ciclo fenológico del maíz.

Proceso Fisiológico	Temperatura en °C		
i recess i iolologico	Mínima	Optima	Máxima
Germinación	10	20-25	40
Crecimiento	15	20-30	40
Floración	20	21-30	30

Fuente: (MANUAL AGROPECUARIO, 2001)

F. MANEJO DEL CULTIVO

1. Preparación del terreno

La preparación del suelo es fundamental para el éxito del cultivo y empieza con una labor de alza, la cual consiste en romper la compactación del suelo y enterrar los rastrojos de la cosecha anterior. Además con esta actividad se eliminan ciertas malas hierbas perjudiciales para el cultivo (BARTOLINI, R. 1990).

Se recomienda además realizar la preparación del suelo con mucho tiempo de anticipación antes de la siembra, con el propósito de que la materia orgánica presente en el suelo sufra un óptimo proceso de descomposición. Si existe la disponibilidad de maquinaria se puede realizar las labores de arada, rastrada y surcada (YANEZ, C. 2007).

2. Siembra

Para realizar la siembra es necesario tener semillas con un alto porcentaje de germinación, vigor y libre de enfermedades. La distancia entre surcos debe ser de 0,8 m, con 2 semillas cada 0,5m en las hileras, necesitando entre 25 a 30 kg de semilla/ha (INFOAGRO, 2012).

La semilla debe ser de calidad para garantizar una óptima producción. La densidad de siembra dependerá del clima y las variedades. En el caso de híbridos se utiliza de 15 a 20 kg/ha y se siembra a una distancia de 75 a100cm entre surco y de 20 a 25cm entre plantas. La profundidad de siembra está en función a la textura del suelo, llegando hasta 10 cm en suelos arenosos, 7 cm en suelos arcillosos y si los suelos son húmedos la profundidad de siembra será de 5 cm (MANUAL AGROPECUARIO, 2001).

CABRERIZO, C (2012), menciona que la siembra debe realizarse cuando la temperatura del suelo alcance un valor de 12 °C, la semilla será depositada a una profundidad de 5 cm, la siembra puede realizarse en sitios, llano o surcos. Además menciona que la separación entre líneas es de 0,8 a 1 m y la separación entre los sitios es de 20 a 25 cm.

3. Fertilización

Se recomienda realizar en la preparación del suelo un abonamiento donde se puede utilizar: compost, humus de lombriz, bocashi, gallinaza y estiércol de vaca bien descompuestos, siempre y cuando el abono orgánico sea de buena calidad y contenga al menos 1% o más de nitrógeno, en este caso debe aplicar 100 quintales/ha en suelos con alto contenido de nutrientes y 200 quintales/ha en suelos con bajo contenido nutrientes. También se puede aplicar 200 a 400 g de compost por sitio o golpe (INIAP, 2011).

Es necesario disponer previo a la siembra un análisis químico del suelo y seguir las recomendaciones que se sugieren. Caso contrario si la cosecha es para grano seco se recomienda aplicar: en suelos de fertilidad intermedia N y P₂O₅ en dosis de 80 y 40 kg/ha respectivamente, para lo cual se recomienda utilizar dos sacos de 18–46-0 más tres sacos de urea, o también se puede aplicar tres sacos de 10-30-10 más tres sacos de urea. Este fertilizante compuesto se deberá aplicar al momento de la siembra a chorro continuo, al fondo del surco, fraccionando el nitrógeno; 50% al momento de siembra y el restante después de 45 días, aplicando en banda lateral a 10 cm de las plantas e incorporando en el momento del aporque. Si la producción es

para choclo se recomienda aumentar la cantidad de urea a 4 sacos por hectárea (YANEZ, et al., 2005).

El INIAP (2011) en su Modulo IV (Manejo integrado del cultivo de maíz suave) recomienda usar en el momento de la siembra FERTIBACTER – MAÍZ (300g/30 kg de semilla) que es un Biofertilizante que contiene bacterias (microorganismos del suelo) del género Azospirillum, las cuales estimulan principalmente el ensanchamiento y alargamiento de las raíces, lo que aumenta significativamente la superficie de absorción de los nutrientes que se encuentran en el suelo. Esta bacteria también tiene la habilidad de tomar el nitrógeno atmosférico y transformarlo en un nutriente aprovechable por las raíces de las plantas de maíz, de esta manera se consigue una mayor producción.

Según el boletín divulgativo N° 406 del INIAP (2011) el uso excesivo de fertilizante produce acidez en los suelos, el mismo que puede ser corregido aplicando carbonato de calcio unos 30 días antes de la siembra. Existen suelos con deficiencias de micronutrientes como magnesio y azufre, que puede ser corregido con aplicaciones de Sulpomag en dosis recomendada por el análisis de suelo.

4. Control de malezas

Las malezas pueden ser controladas con el método cultural, que consiste en la rotación de cultivos, el arado y la utilización de semilla certificada, libre de semilla de mala hierba (GABELA, F y CARDENAS, M. 1989).

También se puede realizar el control de malezas con el método químico, donde se recomienda aplicar Atrazina en pre-emergencia y post-emergencia en dosis de 2 kg/ha (INFOAGRO, 2012).

Los herbicidas deben aplicarse en pre-emergencia de malezas y del cultivo sobre suelo húmedo, pero si existe una alta presencia de malezas se recomienda aplicar herbicidas selectivos como atrazina (Gesaprin, Atrapac), en dosis de 2 kg/ha. Pero si se quiere manejar el cultivo de la forma más amigable con el medio ambiente se recomienda realizar deshierbas oportunas (YANEZ, et al., 2005).

5. Raleo

El raleo o aclareo es una labor del cultivo que se realiza cuando la planta ha alcanzado un tamaño que oscila entre 25 a 30 cm, esta labor tiene como fin ir dejando una sola planta por golpe, eliminando las restantes. Esta actividad puede ir acompañado de otra labor como es la de romper las costras endurecidas del terreno para favorecer el desarrollo de raíces adventicias (INFOAGRO, 2012).

6. Rascadillo o deshierba

Esta actividad se realiza cuando la planta ha alcanzado un altura de 25 a 30 cm. Con ésta labor se afloja el suelo, se da aireación a las raíces y se eliminan las malas hierbas (INIAP, 2011).

7. Aporque

La operación de aporque consiste en arrimar, formar y aplicar una cantidad considerable de tierra al pie de las plantas. Las ventajas de esta labor son; eliminar malezas, ayudar a que las raíces aéreas alcancen a fijarse en el suelo, impedir el acame de las plantas por influencia del viento y facilitar el riego. Esta actividad debe realizarse a los 20 ó 30 días después de la deshierba o rascadillo, para el cual se utilizará el azadón, además durante esta labor se colocará en forma lateral el 50% del abono nitrogenado (urea) (YANEZ, et al., 2005).

8. Riego

No es conveniente que el cultivo pase periodos de falta de agua puesto que los estomas se cierran, se reduce la fotosíntesis y el rendimiento final es menor. Durante la floración la falta de agua es perjudicial, lo que puede llegar a representar una disminución del 30 % de la producción (MANUAL AGROPECUARIO, 2001).

El cultivo de maíz necesita una cantidad considerable de agua (5 mm/día), en la fase de emergencia requiere de poca humedad pero en la fase de crecimiento la

necesidad de agua se incrementa recomendando dotar de un riego 10 ó 15 días antes de que inicie la etapa de floración. La fase de floración es un periodo crítico pues el buen suministro de agua al cultivo, favorecerá la formación y llenado del grano. Mientras que en la etapa de engrosamiento y maduración de la mazorca la necesidad de agua disminuye (YANEZ, C. 2007).

9. Controles fitosanitarios

a. Plagas

Tabla 3. Principales Insectos plaga del cultivo de maíz de la sierra.

Nombre común	Nombre científico	Tratamiento	Dosis
Gusano del choclo	Heliothis zea	othis zea Aceite doméstico Bacillus thuringiensis	
Gusano cortador	Agrotis ípsilon	Endosulfán Agrotis ípsilon Acefato Cartap hidrochloride	
Gusano cogollero	Agrotis deprivata	Aceite doméstico Malathión Dimetoato	2 lt / ha 3.6 kg / ha 0.5 lt / ha
Pulgón del maíz	Rhophalosiphum maidis	Pirimicarb Clorpyrifos	300 g / ha 0.5lt / ha

Fuente: (MANUAL AGROPECUARIO, 2001)

Tabla 4. Principales nemátodos que afectan al cultivo de maíz de la sierra

Nombre común	Nombre científico	Tratamiento	Dosis
Nemátodo Lesionador	<i>Pratylenchus</i> sp.	Carbofuran Terbufos	10 -20 kg / ha en bandas 3 g / m2
Nemátodo espiral	Helicotylenchus sp.	Isazofos Benfuracarb	4 g / m2 2.5 lt / ha

Fuente: (INFOAGRO, 2012)

b. Enfermedades

Tabla 5. Principales enfermedades del cultivo del maíz de la sierra.

Nombre común	Nombre científico	Tratamiento	Dosis
Mancha de la hoja	Drechslera turcica	Fosetil-aluminio Cyproconazol	2.5 g / lt 250 ml / ha
Mancha de la hoja.	Diplodia macrospora	Propineb Hexaconazole	kg / ha 400 ml / ha
Pudrición de la Mazorca	Fusarium sp.	Bitertanol Triadimefon	0.5 lt / ha 1,5 kg / ha
Mancha asfalto.	Phyllacora myidis	Benomyl Clorotalonil	250 g / ha 1.75 lt / ha
Roya	Puccinia polysora	Tridemorph. Carbendazin	0.5 lt / ha 0.5 kg / ha
Pudrición basal	Erwinia sp.	Oxicloruro de Cobre	200 g/ha 4.0 lt/ha
Raquitismo	Virus del mosaico	Erradicación de vectores	-

Fuente: (INFOAGRO, 2012)

10. Cosecha

La cosecha en choclo se realiza cuando el grano está en estado "lechoso"; para humitas en estado semipastoso o "cao" y para semilla se cosechará cuando ha alcanzado la madurez fisiológica que si identifica cuando en la base del grano se observa una capa negra (YANEZ, et al., 2005).

La cosecha se realiza de forma manual depositando la mazorca en recipientes o sacos, debe hacerse cuando el grano esté seco, debido a que un alto contenido de humedad en el grano dificulta su conservación ya que sufren deterioro y se vuelven susceptibles a pudriciones. Se debe tener cuidado con hongos que ocasionan el aparecimiento de micotoxinas (FAO, 2012).

11. Poscosecha

Dentro de la actividad de poscosecha La selección de las mazorcas es una actividad muy importante pues aquí se eliminan las mazorcas dañadas por plagas y las pequeñas, pues se busca obtener mazorcas que tengan el grano grueso y uniforme. Luego en la etapa de desgrane de las mazorcas es necesario además desechar todos los granos dañados y podridos, además aquí se separa el grano comercial del grano que será utilizado para semilla. Otra labor importante dentro de esta actividad es el secado del grano, sobre todo el que está destinado para semilla se debe evitar el colocar la semilla sobre planchas de cemento caliente pues el aumento de temperatura en el grano ocasionara la perdida de viabilidad de la semilla (YANEZ, et al., 2005).

12. Almacenamiento

La mazorca o el grano, sea para el consumo o semilla se debe almacenar en un lugar fresco y seco donde la temperatura oscile entre 10 a 12 °C y la humedad relativa sea menor a 60%. Además se debe consideran que el porcentaje de humedad del grano debe ser inferior al 12% (YANEZ, et al., 2005).

El gorgojo es la principal plaga que ocasiona severas pérdidas durante el almacenamiento del grano, por ello se recomienda utilizar Gastoxin o Gastion en dosis de 6 a 10 pastillas de 3 gramos, por cada 5 quintales de mazorca o grano. Además es muy importante tapar completamente con un plástico grueso el maíz o poner en un tanque de plástico y taparlo durante tres días debido a que las pastillas se gasifican, luego de este tratamiento se podrá almacenar en un lugar fresco y seco (MONAR, C y REA, A. 2003).

G. VALOR NUTRITIVO

Según la FAO, el consumo de maíz en el Ecuador para el 2007 fue de 4.43 Kg/año, el más bajo en toda América del sur, a pesar de ser una fuente muy importante de energía por el contenido de carbohidratos, además contiene el 8 a 10% de proteínas, de 3 a 4% de aceites y 2% de fibra.

El contenido de almidón y proteína varía de una variedad a otra. En el siguiente cuadro se detalla el contenido de los nutrientes por variedad (INIAP, 2011).

Tabla 6. Composición química del porcentaje de proteína y almidón del maíz.

RAZA	% Proteína (en base seca)	% Almidón (en base seca)
Blanco blandito (INIAP -102)	8,30	73,10
Guagal (INIAP-111)	8,12	72,10
Chaucho (INIAP-122)	9,14	74,63
Mishca (INIAP-124)	8,03	74,03
Cuzco ecuatoriano	8,81	73,62
Chulpi (INIAP-192)	10,23	64,27
Huandango	7,21	74,86
Canguil (INIAP-198)	10,72	62,88
Racimo de uva	8,83	
Sabanero	9,69	70,81
Chillo	11,29	65,78
Uchima	9,86	70,37
Clavito	11,63	63,74
Patillo	10,11	66,20
Morochón	8,84	73,57
Kcello	6,73	68,80

Fuente: Programa de Maíz. INIAP - EESC.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

A. CARACTERÍSTICAS DEL LUGAR

1. Localización

La presente investigación se la realizó en la Parroquia San José de Chazo, Cantón Guano, provincia de Chimborazo.

2. <u>Ubicación Geográfica</u>¹

Latitud: 1° 31' 32,1" S

Longitud: 78° 32' 53,9" W

Altitud: 2915 m.s.n.m

3. Condiciones climáticas del ensayo²

Temperatura media anual: 13 °C

Precipitación media anual: 475 mm

Humedad relativa: 50%

4. Características del suelo

a. Características físicas³

• Textura: Franco – arenoso

Estructura: Suelta

• Pendiente: Plana (< 2%)

• Drenaje: Bueno

Profundidad: 50 cm

¹ Datos registrados con la ayuda del GPS.

² Plan de ordenamiento territorial San José de Chazo

³ Laboratorio de suelos INIAP Santa Catalina

b. Características químicas⁴

- pH: 5,86 Ligeramente Acido
- Materia orgánica: 0.7% Bajo
- Contenido de N: 20 ppm(Bajo)
- Contenido de P: 83 ppm (Alto)
- Contenido de K: 0.21 meq/100ml(Medio)
- Contenido de S: 17 ppm (Medio)
- Contenido de Ca: 2.5 meg/100ml (Bajo)
- Contenido de Mg: 0.61 meq/100ml (Bajo)
- Capacidad de Intercambio Catiónico: Bajo

5. Clasificación ecológica

Según Holdridge (1992), la zona de vida corresponde a bosque seco – Montano Bajo (bs-MB).

B. MATERIALES Y EQUIPOS

1. Materiales de campo

- Fundas plásticas
- Fundas de papel
- Material recolectado (mazorcas de maíz)
- Etiquetas de identificación y marcadores
- Cinta métrica, piola y estacas
- Herramientas agrícolas (azadón, rastrillo)
- Lápiz y libreta de campo

⁴ Laboratorio de suelos INIAP Santa Catalina

2. Materiales de oficina

- Cinta métrica y regla
- Hojas de papel bond
- Lápiz y marcadores
- Fundas plásticas
- Fundas de papel

3. Equipos

- Tractor
- Bomba de mochila
- Balanza
- Calculadora
- Computadora e impresora
- Copiadora
- Cámara fotográfica
- Determinador de humedad

C. METODOLOGÍA

1. Recolección e identificación de material inicial

Se realizó la recolección de material inicial en diferentes áreas o puntos, dentro de los predios de la parroquia San José de Chazo (Anexo 3). Se consideró realizar 10 muestreos repartidas en diferentes sectores de la zona y cada muestra estuvo conformada por 10 mazorcas.

El material recolectado fue identificado y para ello se consideró diferentes características del lugar de recolección (Altitud, Latitud y longitud). También se recolectó información sobre el manejo que se le da al cultivo que es indispensable para establecer una información inicial del material nativo.

Para facilitar el registro de datos del material se realizó una identificación de cada una de las muestras como se presenta a continuación en el siguiente cuadro.

Cuadro 1. Identificación del material inicial.

MUESTRA	c					MAZ	ORCA				
WICESTRA	3	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Muestra 1	ID	M1.1	M1.2	M1.3	M1.4	M1.5	M1.6	M1.7	M1.8	M1.9	M1.10
Muestra 2	ID	M2.1	M2.2	M2.3	M2.4	M2.5	M2.6	M2.7	M2.8	M2.9	M2.10
Muestra 3	ID	M3.1	M3.2	M3.3	M3.4	M3.5	M3.6	M3.7	M3.8	M3.9	M3.10
Muestra 4	ID	M4.1	M4.2	M4.3	M4.4	M4.5	M4.6	M4.7	M4.8	M4.9	M4.10
Muestra 5	ID	M5.1	M5.2	M5.3	M5.4	M5.5	M5.6	M5.7	M5.8	M5.9	M5.10
Muestra 6	ID	M6.1	M6.2	M6.3	M6.4	M6.5	M6.6	M6.7	M6.8	M6.9	M6.10
Muestra 7	ID	M7.1	M7.2	M7.3	M7.4	M7.5	M7.6	M7.7	M7.8	M7.9	M7.10
Muestra 8	ID	M8.1	M8.2	M8.3	M8.4	M8.5	M8.6	M8.7	M8.8	M8.9	M8.10
Muestra 9	ID	M9.1	M4.2	M9.3	M9.4	M9.5	M9.6	M9.7	M9.8	M9.9	M9.10
Muestra 10	ID	M10.1	M10.2	M10.3	M10.4	M10.5	M10.6	M10.7	M10.8	M10.9	M10.10

Fuente: (GUACHO, E. 2012)

2. Especificaciones del campo experimental

a. Unidad experimental

La parcela experimental estuvo constituida por un surco de 5m de largo y 0,8m de ancho, la siembra se realizó a una distancia de 0,25 m entre plantas y se depositó 2 semillas por sitio.

b. Características del campo experimental

Numero de bloques: 4

Numero de surcos/bloque: 25

Longitud del surco: 5m

Distancia entre surcos: 0,8m

Parcela total: 4 m² Área total: 750m² Área neta: 500 m²

Número de plantas/parcela: 20 plantas

En cada unidad experimental se realizó la siembra de 40 semillas divididas en 20 sitios mismas que correspondían a una mazorca (Anexo 4), teniendo en total 100 unidades experimentales, debido a que la recolección de material inicial estuvo constituida por 10 muestras y cada muestra estuvo conformada por 10 mazorcas.

Además se sembró maíz de la variedad INIAP 102 en los bordes y rellenos, mismo que sirvieron como material de comparación con el material local, pues esta variedad presenta características agro-morfológicas ya establecidas.

3. Análisis funcional

a. Frecuencia

Para determinar la variabilidad de caracteres morfológicos cualitativos entre las 10 muestras y sub-muestras respectivas, se empleó la frecuencia que es un parámetro estadístico que nos indica el porcentaje que una determinada característica, se repite dentro de un conjunto de muestras analizadas.

b. Coeficiente de variación (C.V)

Para la determinación de la variabilidad morfológica de los caracteres cuantitativos de las muestras analizadas, se utilizaron parámetros estadísticos como: promedio, desviación estándar y coeficiente de variación. El promedio refleja el valor medio de un conjunto de datos, la desviación estándar se la define como la raíz cuadrada de

32

la varianza estadística del parámetro que indica el grado de dispersión entre los valores de las muestras analizadas y el coeficiente de variación es el valor más adecuado que nos permite comparar la variabilidad que existe entre un conjunto de datos (NOROÑA, J. 2008).

El coeficiente de variación se determinó, empleando la fórmula que se describe a continuación, que utiliza valores de desviación estándar y promedio y cuyo valor es expresado en porcentaje (%).

$$CV = \frac{S^2}{\bar{x}} * 100$$

Dónde:

CV = Coeficiente de variación.

 S^2 = Cuadrado de la varianza (Desviación estándar)

x = Promedio.

4. Indicadores de evaluación y datos registrados

a. Descriptores cualitativos en estudio

1) Color del tallo (CT)

Se identificó los colores del tallo ordenados por su frecuencia; este dato se determinó por observación directa en el momento de la floración, en 10 plantas al azar (IBGR, 1991).

- 1. Verde
- 2. Rojo sol
- 3. Rojo
- 4. Morado
- 5. Café

2) Pubescencia de la vaina foliar (PVF)

Se evaluó al momento de la floración, y se observó la pubescencia foliar que recubre la mazorca superior de 10 plantas al azar, asignando valores (IBPGR, 1991) de:

- 3. Escasa
- 5. Intermedia
- 7. Densa

3) Cantidad de follaje (CF)

Determinamos la superficie foliar, después del estado lechoso, esta observación se realizó en 10 plantas tomadas al azar, siguiendo la escala (IBPGR, 1991).

- 3. Escasa
- 5. Intermedia
- 7. Densa

4) Cobertura de la mazorca (CMZ)

Este dato se registró un mes antes de la cosecha, utilizando la escala de 1 a 5 propuesta por el CIMMYT en 1986.

Tabla 7. Escala para determinar cobertura de la mazorca

<u>Cobertura</u>	<u>Valor</u>
Excelente	1
Regular	2
Punta expuesta	3
Grano expuesto	4
Completamente inaceptable	5

Fuente: (CIMMYT. 1986)

5) Forma de la mazorca (FMZ)

Se realizó al momento de la cosecha, dentro de cada parcela y se anotó la forma a la que corresponda de acuerdo a la escala que se presenta en el Anexo 5 (IBPGR, 1991).

- 1. Cilíndrica
- 2. Cilíndrica cónica
- 3. Cónica
- 4. Alargada

6) Disposición de hileras de grano (DHG)

Se realizó al momento de la cosecha, usando la mazorca más alta y se identifica la principal tendencia (Anexo 6) (IBPGR, 1991).

- 1. Regular
- 2. Irregular
- 3. Recta
- 4. En espiral

7) Color de tuza (olote) (CLT)

La identificación respectiva de color de la tusa se realizó al momento del desgrane de las 10 mazorcas seleccionadas, según descriptores propuestos por el CIMMYT en 1986.

- 1. Blanco
- 2. Rojo
- 3. Café
- 4. Morado
- 5. Jaspeado
- 6. Otros

8) Tipo de grano (TGR)

Se determinó al momento de la cosecha tomando en cuenta la siguiente escala propuesta por el CIMMYT en 1986, donde:

Harinoso
 Reventador

2. Morocho 8. Dulce

3. Dentado 9. Opaco 2

4. Semidentado 10. Tunicado

Semicristalino
 Semicristalino

6. Cristalino 12. Otros

9) Color del grano (CGR)

Se realizó al momento de la cosecha dentro de cada parcela neta y al final se determinó los colores primarios (IBPGR, 1991), de acuerdo a la siguiente escala:

1. Blanco 7. Moteado

2. Amarillo 8. Capa blanca

3. Morado 9. Rojo

4. Jaspeado 10. Rosado

5. Café 11. Azul

6. Anaranjado 12. Azul oscuro

10) Forma de la superficie del grano (FSG)

Se observó la forma predominante de los granos de la parte central de la mazorca, de acuerdo a la escala propuesta por el CIMMYT en 1986.

- Contraído
- 2. Dentado
- 3. Plano
- 4. Redondo
- 5. Puntiagudo

6. Muy puntiagudo

b. Descriptores cuantitativos en estudio

1) Días a la emergencia (DE)

Se registró el número de días transcurridos desde la siembra hasta que el 50% de las semillas emergieron (IBPGR, 1991).

2) Días a la floración masculina (DFM)

Se registró el número de días transcurridos desde la siembra hasta que el 50% de las plantas de cada parcela presentaron liberación de polen (IBPGR, 1991).

3) Días a la floración femenina (DFF)

Se registró el número de días transcurridos desde la siembra hasta que el 50% de plantas de cada parcela presentaron los estigmas expuestos, con un tamaño de 2cm de largo (IBPGR, 1991).

4) Días a la cosecha: choclo y seco (DCCH /DCS)

Se registró el número de días transcurridos desde la siembra hasta que el 50% de las plantas presentaron mazorcas con granos en estado lechoso - pastoso para su cosecha en tierno. En cambio para registrar los días a la cosecha en seco se contabilizaron los días desde la siembra hasta la madurez fisiológica de las plantas donde la humedad de los granos oscilaba entre 30-35 % (IBPGR, 1991).

5) Altura de planta (AP)

Se evaluaron 10 plantas tomadas al azar de la parcela neta, y se realizó la medición desde la base de la planta hasta el punto donde la panoja empieza a ramificarse, este valor se registró en centímetros un mes antes de la cosecha (IBPGR, 1991).

6) Altura de la mazorca (AMZ)

La medición se realizó desde la base de la planta, hasta el nudo de inserción de la mazorca superior. Este valor se registró en centímetros un mes antes de la cosecha, en 10 plantas tomadas al azar de cada parcela (IBPGR, 1991).

7) Enfermedad foliar (EF)

Se registró a los 40 ó 50 días después de la floración femenina y se identificó la severidad de infección de acuerdo a la escala propuesta por el CIMMYT en 1986.

Tabla 8. Severidad de infección de enfermedades foliares.

Calificación	Valor
Infección débil	1
Infección ligera	2
Infección moderada	3
Infección severa	4
Infección muy severa	5

Fuente: (CIMMYT, 1986)

8) Número total de hojas por planta (NHP)

Se contabilizó el número existentes de hojas en una planta incluyendo las bajeras. Esta actividad se realizó en 10 plantas tomadas al azar y se registró el promedio (IBPGR, 1991).

9) Longitud y ancho de la hoja (LGH) (ANH)

Para determinar la longitud se realizó la medición de la hoja que sobresale de la mazorca más alta, desde la lígula hasta el ápice de la hoja. Esta actividad se

realizó en 10 plantas tomadas al azar y se registró el promedio en centímetros (IBPGR, 1991).

Para determinar el ancho se realizó la medición en las mismas hojas de las plantas utilizadas para determinar la longitud, en este caso la medición se lo hizo en el punto medio de la hoja. Se registró el promedio en centímetros (IBPGR, 1991).

10)Longitud de la panoja (LGP)

Se midió la distancia en centímetros, entre la primera ramificación y la última rama primaria en 10 plantas tomadas al azar, después del estado lechoso (IBPGR, 1991).

11)Longitud de la mazorca (LGM)

Se medió la mazorca desde la base, en su inserción con el pedúnculo, hasta su ápice (Anexo 7). Esta actividad se realizó al momento de la cosecha, en 10 mazorcas seleccionadas al azar y se registró el promedio en centímetros (IBPGR, 1991).

12) Diámetro de la mazorca (DMM)

Se medió con un calibrador en la parte central de la mazorca (Anexo 7). Esta actividad se realizó al momento de la cosecha en 10 mazorcas seleccionadas al azar y se registró el promedio en centímetros (IBPGR, 1991).

13)Peso de la mazorca (PM)

Se pesó la mazorca después de ser cosechada y deshojada. Esto se realizó en cada mazorca una por una (IBPGR, 1991).

14) Número de hileras de granos por mazorca (NHG)

Se contabilizó el número hileras de granos de 10 mazorcas, después de la cosecha y se registró el valor promedio (IBPGR, 1991).

15) Número de granos por hilera (NGH)

Se contabilizó el número de granos de tres hileras por mazorca, se registró el promedio. Esta evaluación se realizó en10 mazorcas seleccionadas al azar (IBPGR, 1991).

16)Peso de la tusa (PT)

Se pesó la tusa u olote, de cada una de las muestras. (IBPGR, 1991)

17) Diámetro de la tusa (olote) (DMT)

Se medió con un calibrador en la parte central de la tusa. Esta actividad se realizó en el momento del desgrane de 10 mazorcas seleccionadas al azar y se registró el promedio en centímetros (IBPGR, 1991).

18)Peso de 100 granos (PMG)

Esta variable se determinó después de la cosecha, desgranando 10 mazorcas y se registró el peso de 100 granos y el valor lo expresamos en gramos (IBPGR, 1991).

19) Porcentaje de humedad (%H₂O)

Para ello utilizó un determinador de humedad, esta actividad se realizó al instante de que la mazorca ha sido cosechada y desgranada (IBPGR, 1991).

20)Longitud del grano (LGGR)

Se medió la longitud de 10 granos consecutivos de una hilera en el punto medio de una mazorca y se registró el valor promedio en centímetros (IBPGR, 1991).

21) Ancho del grano (AGR)

Se midió el ancho de 10 granos consecutivos de una hilera en el punto medio de una mazorca y se registró el valor promedio en centímetros (IBPGR, 1991).

22) Grosor del grano (GGR)

Se midió con un calibrador el grosor de 10 granos consecutivos de una hilera en el punto medio de una mazorca y se registró el valor promedio en milímetros (IBPGR, 1991).

23) Daño de la mazorca (DMZ)

Se evaluó el grado de daño a la mazorca por pudrición, insectos, etc. Se sigue la escala de 1 a 5 propuesta por el CIMMYT en 1986 donde:

- 1. Muy bueno
- 2. Bueno
- 3. Regular
- 4. Mala
- 5. Muy mala

24) Rendimiento (t/ha) (R)

El rendimiento fue evaluado al momento de la cosecha en seco, donde se determinó valores de la humedad en campo y peso de mazorcas total por unidad experimental. Con los datos registrados se utilizó la formula descrita a continuación, que determina el rendimiento ajustado al 14 % de humedad.

$$R = \frac{(PC*D*MS)}{(AP*86)} * 1000$$

Dónde:

PC = Peso de campo en kg

D = % de desgrane expresado en forma decimal

MS = Materia seca (100 - % de humedad) en forma decimal

AP = Área de la parcela neta

5. Caracterización morfológica y molecular del material inicial

a. Caracterización morfológica

El material recolectado fue caracterizado, utilizando para ello los parámetros dispuestos por el CIMMYT, con la finalidad de tener datos sobre las características cualitativas y cuantitativas iniciales del material de entrada. En este caso la caracterización fue principalmente de la mazorca, tusa y grano.

b. Caracterización molecular

Además como complemento a la investigación, se realizó una caracterización molecular de todo el material recolectado utilizando la metodología empleada por el Departamento de Biotecnología del INIAP- Santa Catalina. Esta investigación fue realizada con la finalidad de verificar si entre cada una de las muestras recolectadas existe o no parentesco genético.

1.) Metodología

El análisis molecular se realizó utilizando el procedimiento de marcadores microsatélites (SSRs por su acrónimo en inglés "Simple sequence repeats"). Entendiéndose como microsatélites a un segmento corto de ADN (1 a 6 pares de bases nucleótidos) caracterizado por contener un numero variable de copias (entre 5 y 50). Estos marcadores poseen el más elevado contenido de información de polimorfismo, además son muy frecuentes y se encuentran distribuidos al azar, permitiendo la más completa cobertura de cualquier genoma (MORILLO, E. 2011).

El análisis realizado fue de 10 muestras, cada una con 10 sub-muestras respectivamente, teniéndose al final un total de 100 muestras. Estas fueron sometidas al procedimiento que se describe a continuación (Imágenes Anexo 8).

a.) Recolección y siembra

De la recolección realizada en la localidad San José de Chazo, se seleccionó 10 semillas al azar de cada sub-muestra, misma que fueron trasladadas al invernadero y sembradas en semilleros empleando turba como sustrato.

b.) Extracción de ADN

Con la obtención de las plántulas de maíz se procedió a la extracción de ADN empleando el método descrito por Ferreira y Grattapaglia, (1998) Anexo 8.

c.) Cuantificación y validación

Las muestras fueron cuantificadas en el espectrofotómetro EPOCH, se realizaron diluciones a 5 ng/µL para cada muestra y se procedió a la validación, determinando la concentración de ADN que existe en cada una de las muestras.

El proceso de validación de ADN se llevó a cabo mediante una amplificación sencilla con el marcador SSR PHI-121 empleando la metodología descrita por Morillo y Miño, (2011) Anexo 9. El producto PCR fue visualizado en geles de agarosa al 2% mediante una corrida electroforética con TAE 1X.

d.) Amplificación

Con los ADNs validados se llevó a cabo la amplificación con los doce marcadores microsatélites seleccionados empleando la metodología M13 tailing descrita por Morilllo y Miño, (2011) Anexo 9.

Tabla 9. Combinación de primers empleados en el análisis molecular de maíz.

Combinación	Primers SSR	Marcaje	Tamaño esperado (pb)	Ta* (ºC)
1	Phi 72	700 nm	162-186	56
_	Phi 31	70011111	206-244	56
	Phi 11		130 – 148	56
2	Phi 14	700 nm	169 – 192	56
3	Phi 53	700 nm	188 – 214	56
4	Phi 83	800 nm	144-156	56
-	Phi 33		259-287	56
5	Phi 15		102–126	56
	Phi 59	800 nm	166-181	56
6	Phi 34	800 nm	122-146	56
	Phi 50		80-86	56
7	Phi 41	800 nm	196-216	56

Fuente: (EESC – INIAP. 2013)

El producto PCR obtenido fue denaturado con Blue Stop (5uL) a una temperatura de 94°C por 5 minutos para ser cargados en el secuenciador LICOR-4300s.

Las imágenes generadas fueron genotípicas en el software Saga y las matrices creadas fueron exportadas a Excel (Anexo 10).

e.) <u>Interpretación de resultados</u>

Con los resultados obtenidos se procedió a realizar el análisis genético de las 100 muestras analizadas, para lo cual se utilizó el programa PowerMarker-2004.

D. MANEJO DEL ENSAYO

1. Preparación del terreno

Se realizó labores de arada, rastrada en forma mecanizada y la surcada se realizó con la ayuda de una yunta.

2. Siembra

La siembra se efectuó de forma manual, se realizó un abonamiento químico al fondo del surco, se tapó y posteriormente se efectuó la siembra, colocando 2 semillas por sitio cada 0,25m. La distancia entre surcos fue de 0,8m.

3. Raleo

El raleo se realizó a los 45 días después de la siembra, dejando 1 plantas por sitio. El objetivo fue dejar las plantas más fuertes y vigorosas.

4. Aporque

Se realizó un medio aporque (rascadillo) a los 45 días después de la siembra, donde además se realizó la fertilización complementaria de nitrógeno. Como se observó acame de las plantas por acción del viento, se realizó otro aporque complementario para ayudar el desarrollo de las raíces de anclaje.

5. Fertilización

Se realizó teniendo en cuenta el análisis físico-químico de suelo, donde se utilizó una mezcla química compuesta por urea (364 kg/ha), 18-46-0 (224 kg/ha) y sulpomag (121 kg/ha). Esta mezcla fue aplicada al momento de la siembra al fondo del surco y el complemento se aplicó al momento del medio aporque o rascadillo.

6. Control de malezas

Se realizó de forma manual al momento del medio aporque, pero también se realizó un control gradual de malezas según avanzaba el ciclo del cultivo.

7. Control fitosanitario

Se realizó un monitoreo constante, se observó que el umbral económico de daño no superaba el 10%. Por lo que se realizó tres controles fitosanitarios preventivos en las etapas de emergencia, floración y madurez fisiológica. Donde se utilizó insecticidas acompañado de abonos foliares.

8. Cosecha

La cosecha se realizó en forma manual, identificando primeramente que el grano haya llegado a madurez fisiológica. La recolección se realizó en cada unidad experimental, utilizando fundas plásticas previamente identificadas para su normal transporte.

9. Poscosecha y almacenamiento

Se realizó el secado del grano de forma ancestral, hasta cuando el grano presento 14% de humedad. Posteriormente se realizó el desgranado y se guardó la semilla en fundas de papel previamente identificadas.

V. <u>RESULTADOS</u>

A. MATERIAL INICIAL

Para obtener el material de partida, se realizó una colecta de semilla de 10 agricultores de deferentes sitios dentro de la jurisdicción de la parroquia San José de Chazo, en una área comprendida, en un rango altitudinal entre 2875 – 2974 msnm.

A los propietarios de la semilla se les aplicó una entrevista cuyos datos se presentan en el Cuadro 2. Ellos manifiestan que para conservar su semilla, realizan selección de material en cada ciclo de cultivo y la distancia de siembra es de 1 a 1,2m entre hilera y 1m entre planta, depositando 2, 3 o 4 semillas por sitio, el manejo lo realizan con fertilización mixta (química y orgánica), obteniendo su producción en 180 días como choclo y en 270 días como grano seco.

Cuadro 2. Datos de recolección en San José de Chazo.

		UBICA	CION GEO	GRAFICA	Distancia	Nº	Días a la	cosecha	
CODIGO	PROPIETARIO	ALTITUD (msnm)	LATITUD (UTM)	LONGITUD (UTM)	de siembra	Semillas por sitio	Choclo	Seco	Fertilización
A M1	Pablo Sandoval	2934	773034	9831827	1x1 m	2 o 3	180	270	Mixta
M2	Clara Sandoval	2932	772437	9830807	1x1 m	2 o 3	180	270	Mixta
М3	Fidel Lema	2974	772877	9832018	1x1 m	203	180	270	Mixta
M4	Natividad Yánez	2898	773337	9832020	1,2x1,2 m	3	150	240	Mixta
M5	Rómulo Chauca	2995	771794	9830568	1x1 m	2 o 3	180	270	Mixta
М6	Rómulo Chauca B.	2926	772105	9830330	1x1 m	2 o 3	180	270	Mixta
M7	Cristóbal Lema	2875	773416	9831980	1,20x1 m	3 o 4	180	300	Mixta
M8	Patricio Chauca	2938	772698	9831042	1x1 m	2 o 3	180	270	Mixta
М9	Servilia Carrasco	2925	772182	9830481	1x1 m	2 o 3	150	240	Mixta
M10	Paula Lema	2929	772130	9830467	1x1 m	2 o 3	180	300	Mixta

Fuente: (GUACHO, E. 2013)

Algo muy importante que destacar es que todos los agricultores entrevistados mencionaron que en la zona no existe la presencia del gorgojo del grano, que en otros lugares es un problema muy importante, por ello es fácil almacenar el grano en cualquier lugar siempre y cuando no sea ni muy húmedo ni muy seco.

1. Análisis Agromorfológico

a. Caracteres Cualitativos

Las características cualitativas evaluadas fueron a nivel de grano, tusa y mazorca, determinando que el 61% de las mazorcas recolectadas tienen forma cilíndrica - cónica y el 31% es cilíndrica, la disposición de las hileras de grano son regulares en un 75%, el color de tusa es blanco en un 91% pero existe tusas de un color rojo rosa en un 9%. Además todas las muestras recolectadas presentan grano del tipo harinoso y de color blanco. Finalmente en lo referente a la superficie del grano, indicamos que es redondo en 56% y puntiagudo un 41% (Cuadro 3).

Cuadro 3. Características cualitativas del material recolectado.

DECCE	IPTORES					MUES	STRAS	3				PROMEDIO
DESCR	IPTORES	M1	M2	М3	M4	М5	М6	М7	М8	М9	M10	PROMEDIO
	1. Cilíndrica	10	10	30	50	50	50	40	20	20	30	31
FORMA DE LA MAZORCA	2. Cilíndrica - cónica	90	90	70	50	40	50	30	70	50	70	61
(FMZ)	3. Cónica	0	0	0	0	0	0	30	0	20	0	5
	4. Alargada	0	0	0	0	10	0	0	10	10	0	3
DISPOSICIÓN DE	1. Regular	80	40	100	90	70	60	90	80	70	70	75
HILERAS DE GRANO	2. Irregular	20	40	0	0	0	0	0	0	20	10	9
(DHG)	4. En espiral	0	20	0	10	30	40	10	20	10	20	16
COLOR DE TUSA	1. Blanco	100	80	100	100	80	90	100	90	80	90	91
(CLT)	2. Rojo	0	20	0	0	20	10	0	10	20	10	9
TIPO DE GRANO (TGR)	1. Harinoso	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
COLOR DE GRANO (CGR)	1. Blanco	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
FORMA DE LA	3. Plano	0	0	0	0	0	0	30	0	0	0	3
SUPERFICIE DEL GRANO	4. Redondo	60	40	20	50	60	80	40	80	70	60	56
(FSG)	5. Puntiagudo	40	60	80	50	40	20	30	20	30	40	41

Fuente: (GUACHO, E. 2013)

b. Caracteres Cuantitativos

Al analizar los caracteres cuantitativos (Cuadro 4), se aprecia que solo hay una ligera variación en el material colectado, pues el coeficiente de variación que indica la variabilidad en un conjunto de datos, no supera el 23%.

En promedio las mazorcas tienen una longitud de 14,7cm y un diámetro de 6,2cm, el peso de mazorca es de 224,8g con 17,6% de humedad, la tusa tiene un peso de 34g y un diámetro de 3,9cm. Además presenta 11,8 hileras de grano por mazorca y 21,7 granos por hilera; finalmente los granos presentan 1,6 cm de largo, 1,3 cm de ancho y 6,1 mm de grosor.

Cuadro 4. Características cuantitativas del material recolectado.

MUESTRA	LGM (cm)	DMM (cm)	PM (g)	PT (g)	DMT (cm)	NHG	NGH	PMG (g)	LGGR (cm)	AGR (cm)	GGR (mm)	H ₂ O (%)
M1	14,5	6,2	225,7	35,1	3,7	12,2	21,4	37,2	1,6	1,3	5,9	18,5
M2	15,2	5,8	215,1	31,8	5,5	11,2	23,0	35,3	1,5	1,2	5,9	18,7
М3	12,7	6,2	182,8	24,6	3,7	13,4	19,9	34,0	1,6	1,1	5,5	11,8
M4	14,2	5,9	201,5	25,9	3,5	11,9	21,2	36,4	1,6	1,2	5,7	15,5
М5	14,8	6,2	244,5	40,0	3,7	11,8	21,1	41,0	1,7	1,3	6,2	21,4
М6	16,0	6,2	262,6	42,5	3,6	10,8	21,8	48,6	1,7	1,4	6,4	19,8
M7	13,5	6,4	209,4	26,8	3,8	13,0	21,6	35,2	1,7	1,2	5,4	13,3
M8	16,7	6,3	270,4	48,5	3,9	10,6	22,9	45,1	1,6	1,4	6,5	19,3
М9	14,8	6,2	215,4	29,9	3,6	11,6	22,7	35,7	1,6	1,2	6,3	19,4
M10	14,9	6,1	220,5	35,2	3,6	11,6	21,2	38,8	1,6	1,3	6,8	18,8
Promedio	14,7	6,2	224,8	34,0	3,9	11,8	21,7	38,7	1,6	1,3	6,1	17,6
DesvEst	1,1	0,2	27,2	7,8	0,6	0,9	1,0	4,8	0,1	0,1	0,4	3,1
CV	7,7	3,0	12,1	23,0	15,2	7,5	4,4	12,4	3,9	7,7	7,1	17,4

Fuente: (GUACHO, E. 2013)

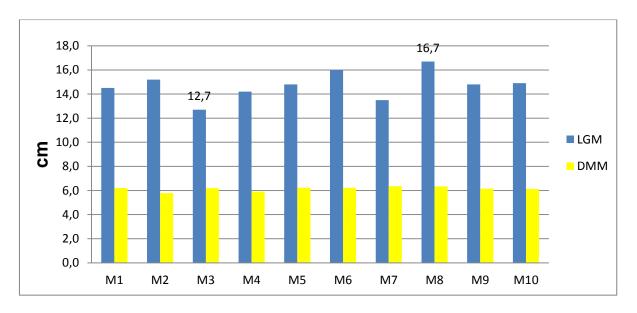


Fig. 3. Longitud y diámetro de mazorca de las muestras recolectadas

En cuanto a la longitud de la mazorca, se puede apreciar que la Muestra 8 presenta mayor longitud de mazorca (16,7 cm) mientras que la Muestra 3 tiene menor longitud (12,7 cm). Referente al diámetro de mazorca se aprecia que no existe diferencia significativa entre las muestras evaluadas, pues el CV es 3%.

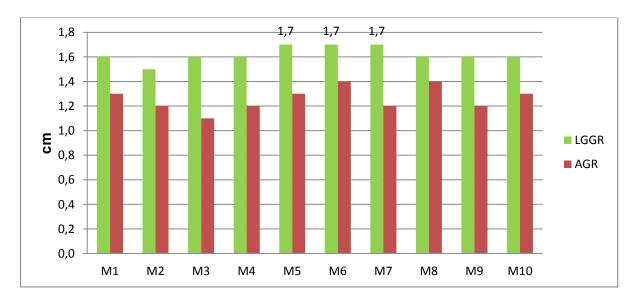


Fig. 4. Longitud y ancho de granos de las muestras recolectadas.

Respecto a la longitud y ancho de grano, las Muestras 5, 6, 7 presentan la misma longitud de grano (1,7 cm) y son superiores en relación a las demás, mientras que el ancho del grano no varía mucho entre las muestras pues el CV es de 7,7%.

2. Análisis Molecular

El primer resultado obtenido en el análisis molecular fue la concentración de ADN presente en cada una de las muestras como se presenta a continuación.

Cuadro 5. Concentración de ADN en las muestras analizadas (ng/µL).

Nº	CONCENTRACIÓN DE ADN (ng/μL)	Nº	CONCENTRACIÓN DE ADN (ng/µL)	Nº	CONCENTRACIÓN DE ADN (ng/µL)	Nº	CONCENTRACIÓN DE ADN (ng/µL)
M1.1	643	M3.6	1535	M6.1	635	M8,6	579
M1.2	2505	M3.7	1324	M6.2	744	M8,7	1346
M1.3	2742	M3.8	671	M6.3	1994	M8,8	700
M1.4	1163	M3.9	1047	M6.4	351	M8,9	449
M1.5	473	M3.10	3288	M6.5	298	M8,10	1249
M1.6	829	M4.1	1486	M6.6	1203	M9,1	661
M1.7	1037	M4.2	921	M6.7	1553	M9,2	630
M1.8	2510	M4.3	1238	M6.8	612	M9.3	724
M1.9	577	M4.4	1139	M6.9	342	M9.4	820
M1.10	1586	M4.5	1117	M6.10	205	M9.5	460
M2.1	430	M4.6	1554	M7.1	1698	M9.6	493
M2.2	706	M4.7	120	M7.2	477	M9.7	509
M2.3	513	M4.8	658	M7.3	582	M9.8	578
M2.4	966	M4.9	1140	M7.4	332	M9.9	887
M2.5	280	M4.10	1210	M7.5	2246	M9.10	1653
M2.6	527	M5.1	1217	M7.6	386	M10.1	221
M2.7	3164	M5.2	991	M7,7	408	M10.2	1359
M2.8	883	M5.3	1475	M7,8	579	M10.3	857
M2.9	2146	M5.4	591	M7,9	812	M10.4	582
M2.10	386	M5.5	1139	M7,10	521	M10.5	459
M3.1	2036	M5.6	2523	M8,1	695	M10.6	964
M3.2	1054	M5.7	781	M8,2	344	M10,7	518
M3.3	1919	M5.8	1034	M8,3	564	M10,8	1488
M3.4	1903	M5.9	1593	M8,4	927	M10,9	713
M3.5	840	M5.10	1980	M8,5	525	M10,10	1029

Fuente: (EESC-INIAP. 2013)

La concentración de ADN en las muestras analizadas oscilan entre 120 – 2246 ng/µL, indicando que las muestras presentan suficiente información genética para los procedimientos siguientes, dentro del análisis molecular.

Los posteriores procedimientos fueron responsabilidad del Departamento de Biotecnología de la EESC – INIAP, que efectuó el análisis, proporcionándonos al final del trabajo de laboratorio una matriz de datos (Anexo 10), con lo que se procedió a realizar la interpretación de los resultados obtenidos, utilizando para ello el programa PowerMarker – 2004 para análisis genético, con el que se obtuvo los siguientes resultados.

Cuadro 6. Análisis Molecular de 100 muestras de maíz con doce marcadores moleculares microsatélites (SSRs).

Marcador	Mayor frecuencia alélica	Observaciones	Nº Muestras	Genotipos	Alelos	Disponibilidad	Heterocigosidad	Diversidad genética
PHI 72	0,72	97	100	7	4	0,97	0,45	0,45
PHI 31	0,73	94	100	5	3	0,94	0,34	0,42
PHI 11	0,84	98	100	6	3	0,98	0,2	0,29
PHI 14	0,92	96	100	2	2	0,96	0,16	0,14
PHI 53	0,57	95	100	11	5	0,95	0,57	0,59
PHI 83	0,86	92	100	5	3	0,92	0,2	0,25
PHI 33	0,78	99	100	7	4	0,99	0,37	0,37
PHI 15	0,56	97	100	6	4	0,97	0,44	0,54
PHI 59	0,68	99	100	3	2	0,99	0,33	0,43
PHI 34	0,8	92	100	5	4	0,92	0,27	0,33
PHI 50	0,94	96	100	3	3	0,96	0,11	0,11
PHI 41	0,87	92	100	5	3	0,92	0,1	0,23
Promedio	0,77	95,58	100	5,42	3,33	0,96	0,3	0,35

Fuente: (GUACHO, E. 2013)

En el análisis molecular se utilizaron 12 marcadores, identificando que el PHI 53 (ATAC) es el más polimórfico pues presenta mayor número de genotipos (11) con 5 alelos pero con una frecuencia alélica de 0,57 siendo la más baja en relación a los otros marcadores. Esta baja frecuencia alélica era de esperarse, pues al tener varios alelos disminuye la probabilidad de observarlos en las muestras, mientras que el PHI 14 (GGC) es el menos polimórfico pues presenta 2 genotipos con 2 alelos y una frecuencia alélica de 0,92 que junto al PHI 50 (AAGC) presentan los valores más altos de frecuencia alélica.

En el caso de la diversidad genética el PHI 53 (ATAC) presenta el valor más alto (0,59), mientras que el PHI 14 (GGC) y PHI 50 (AAGC) presentan menor diversidad genética con 0,14 y 0,11 respectivamente. La diversidad genética está influenciada por la cantidad de alelos y genotipos presentes en los marcadores, es por eso que a mayor cantidad de alelos y genotipos mayor será la diversidad genética, es decir más diferentes genéticamente serán las muestras unas de otras.

También podemos indicar que el marcador PHI 53 (ATAC) es el más heterocigoto (0,57) en relación a los marcadores PHI 50 (AAGC) y PHI 41 (AGCC) que presentar menor heterocigosidad (0,11- 0,10), comprobando que esta característica genética tiene una estrecha relación con la diversidad genética.

Con el dato promedio de diversidad genética (0,35) podemos indicar que no existe diferencia significativa entre los marcadores utilizados y por lo tanto las 100 muestras analizadas a nivel molecular presentan semejanza genética muy alta.

Además para corroborar el análisis anterior se realizó el análisis genético de cada una de las muestras, con el objetivo de verificar si entre cada una de las muestras existía semejanza o diferencia genética. Analizando para ello la diversidad genética y heterocigosidad de cada muestra.

Cuadro 7. Caracteres genéticos analizados en cada muestra.

Muestras	Nº Muestras	Genotipos	Alelos	Heterocigosidad	Diversidad genética
M 1	10,00	2,92	2,67	0,33	0,32
M 2	10,00	3,17	2,58	0,33	0,38
М 3	10,00	2,83	2,42	0,29	0,30
M 4	10,00	2,92	2,58	0,24	0,33
M 5	10,00	2,42	2,17	0,36	0,32
М 6	10,00	2,75	2,42	0,32	0,33
M 7	10,00	3,33	2,75	0,24	0,37
M 8	10,00	2,75	2,42	0,21	0,28
М 9	10,00	2,33	2,08	0,25	0,24
M 10	10,00	3,08	2,58	0,38	0,35
Promedio	10,00	2,85	2,47	0,29	0,32

Fuente: (GUACHO E. 2013)

Para cada muestra se analizaron 10 submuestras, donde encontramos que la diversidad genética entre cada una de las muestras es baja pues no supera el 0,38 correspondiente a M2, teniendo como promedio general 0,32 que es relativamente bajo y esta conclusión es ratificado por el índice de heterocigosidad que es de 0,29 y también con la cantidad de genotipos y alelos presentes en el genoma del maíz, pues a menor cantidad de genotipos y alelos, menor índice de diversidad genética respectivamente.

Este análisis nos permite indicar en primera instancia que tanto las muestras, como las submuestras analizadas a nivel molecular presentan una semejanza genética bien alta. Este criterio inicial será ratificado con el cálculo de la distancia genética existente entre cada una de las muestras analizadas.

Cuadro 8. Distancia genética obtenida entre las diez muestras analizadas.

оти	M 1	M 10	M 2	М 3	M 4	M 5	М 6	М 7	М 8	М 9
M 1	0,00									
M 10	0,14	0,00								
M 2	0,05	0,09	0,00							
М 3	0,10	0,10	0,10	0,00						
M 4	0,10	0,09	0,05	0,10	0,00					
M 5	0,05	0,14	0,10	0,05	0,10	0,00				
M 6	0,12	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,00			
М 7	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,10	0,00		
M 8	0,07	0,07	0,02	0,07	0,02	0,07	0,05	0,05	0,00	
М 9	0,07	0,07	0,02	0,07	0,02	0,07	0,05	0,05	0,00	0,00

Fuente: (GUACHO, E. 2014)

La distancia genética obtenida a partir del método de agrupamiento de vecinos más conocida como Neighborjoining1985, utilizada por el programa PowerMarker, nos muestra que no existe diferencia genética considerable entre las muestras analizadas, pues según Nei, (1985) mientras más cerca a cero se encuentra la distancia genética más idénticos son los individuos unos de otros. Este análisis también se realizó entre todas las submuestras de cada muestra y de todas las muestras y submuestras en general (Anexo 11) reiterando una vez más la semejanza genética existente.

Como complemento del análisis molecular, se realizó el cálculo de similitud y distancia genética existente entre las muestras y submuestras utilizando el coeficiente de Pearson, que es un índice que se utiliza para medir el grado de relación de dos o más variables siempre y cuando sean cuantitativas.

Cuadro 9. Similitud entre las muestras calculada con el coeficiente de Pearson.

OUT	M1	M2	М3	M4	М5	М6	М7	М8	М9	M10
M1	1	0.843	0.839	0.731	0.843	0.738	0.845	0.839	0.893	0.731
M2		1	0.792	0.792	0.792	0.792	0.802	0.899	0.843	0.792
М3			1	0.890	0.792	0.792	0.892	0.890	0.947	0.890
M4				1	0.685	0.792	0.892	0.890	0.839	0.890
M5					1	0.792	0.802	0.792	0.843	0.685
M6						1	0.802	0.899	0.843	0.89
M7							1	0.892	0.845	0.892
M8								1	0.947	0.890
M9									1	0.839
M10										1

Fuente: (GUACHO, E. 2014)

La similitud obtenida entre las muestras, según el coeficiente de Pearson está entre 0,68 y 0,95 indicando que existe una considerable similitud genética entre las muestras recolectadas, pues dicho coeficiente manifiesta que mientras más cerca de 1 está el valor, la relación es positiva.

Cuadro 10. Distancia genética basada en el coeficiente de Pearson.

OTU	M1	M2	М3	M4	M5	М6	M7	M8	М9	M10
M1	0,0	15,7	16,1	26,9	15,7	26,2	15,5	16,1	10,7	26,9
M2		0,0	20,8	20,8	20,8	20,8	19,8	10,1	15,7	20,8
М3			0,0	11,0	20,8	20,8	10,8	11,0	5,3	11,0
M4				0,0	31,5	20,8	10,8	11,0	16,1	11,0
M5					0,0	20,8	19,8	20,8	15,7	31,5
М6						0,0	19,8	10,1	15,7	10,1
M7							0,0	10,8	15,5	10,8
M8								0,0	5,3	11,0
М9									0,0	16,1
M10										0,0

Fuente: (GUACHO, E. 2014)

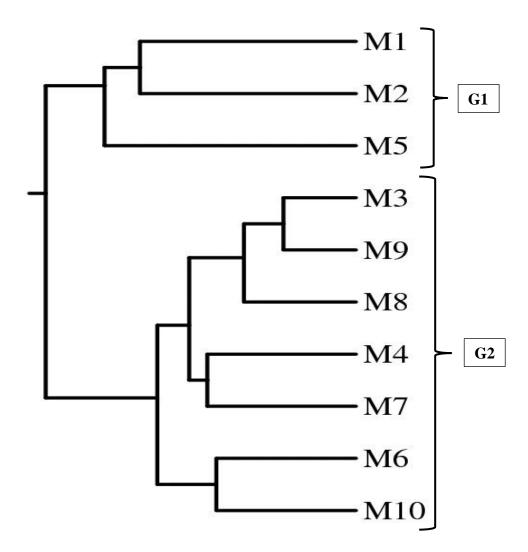


Fig. 5. Dendrograma filogenético de las muestras colectadas.

El agrupamiento genético obtenido a partir de las distancia calculada por el coeficiente de Pearson, muestran que existe correlación entre las muestras analizadas, debido a que mientras más cerca a cero este la distancia, las muestras son similares. Además el dentrograma indica que las muestras se agrupan en dos grupos: Grupo 1 (M1, M2, M5) y Grupo 2 (M3, M9, M8, M4, M7, M6, M10), pero siendo mínima la diferencia entre ellos como se puede apreciar en el Cuadro 10.

B. ENSAYO

1. Descriptores Cualitativos

El análisis de frecuencias aplicado a las colectas determina que el 100% de las muestras presenta cantidad de hojas intermedia, grano tipo blanco y harinoso.

En lo referente a otros descriptores, podemos indicar que el 65% presenta color de tallo café, el 86,2% presenta pubescencia intermedia de vaina foliar, la cobertura de la mazorca es excelente en un 77%, la mazorca presenta forma cónica en un 68,2%, el color de la tusa es blanco en un 93,4%, la disposición de las hileras de grano es regular en un 43,1 %, irregular en un 33,2% y espiral en un 23,7%. Así también se pudo observar que la superficie del grano es plano en un 33,9%, redondo el 49,4% y puntiagudo el 16,7%.

La frecuencia caracteres cualitativos como; tipo de grano (TGR), color de grano (CGR), color de tusa (CT), disposición de hileras de grano (DHG) y forma de la superficie del grano (FSG) no varía a los obtenidos en las colectas (Cuadro 4) pues casi son similares. Pero en lo referente a forma de la mazorca (FMZ), si existen variación, ya que las colectas presentaron 61 % de mazorcas cilindra-cónica y 5% cónicas, mientras que en el ensayo el 68,2 fue cónica y el 31,8% fue cilindra-cónica, y la razón es que en el genoma del maíz existen caracteres que son dominantes y recesivos en cada generación y su presencia va a ser diferente en cada ciclo de cultivo, pero siempre manifestándose con menor o mayor frecuencia.

Todas las muestras de maíz provenientes de San José de Chazo, difieren de la variedad INIAP-102 en el color de tallo, pues esta presenta coloración roja en un 40% característica que el maíz de la localidad San José no manifiesta. Así también esta variedad presenta en mayor frecuencia tusa de color roja (30%). Todas las características de la variedad INIAP-102 observadas en el ensayo, tienen relación con los datos reportados en el "CATALOGO DE RECURSOS GENETICOS DE MAÍCES DE ALTURA ECUATORIANOS", realizado por el programa de maíz del INIAP-EESC en el 2003.

Cuadro 11. Frecuencia de caracteres cualitativos en 10 muestras de maíz de la localidad San José de Chazo.

DESCRI	PTORES	MUESTRAS													
		М1	M2	М3	M4	M5	М6	M7	М8	М9	M10	INIAP 102	PROMEDIO		
COLOR DE TALLO	3. Rojo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	40	0		
COLOR DE TALLO (CT)	4. Morado	41	20	32	51	32	21	29	28	46	50	0	35		
, ,	5. Café	59	80	68	49	68	79	71	72	54	50	60	65		
PUBESCENCIA DE	3. Escasa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	40	0		
LA VAINA FOLIAR	5. Intermedia	73	80	83	66	100	96	94	87	100	83	60	86,2		
(PVF)	7. Densa	27	20	17	34	0	4	6	13	0	17	0	0 35 65 0		
CANTIDAD DE FOLLAJE (CF)	5. Intermedia	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100		
COBERTURA DE LA	1. Excelente	70	100	80	70	60	80	80	80	70	80	0	77		
MAZORCA (CMZ)	2. Regular	30	0	20	30	40	20	20	20	30	20	100	23		
FORMA DE LA	2. Cilíndrica - cónica	10,75	29,33	10,25	34,55	27,47	46,99	20	37,22	42	59,89	100	31,8		
MAZORCA (FMZ)	3. Cónica	89,25	70,67	89,75	65,45	72,53	53,01	80	62,78	58	40,11	0	68,2		
DISPOSICIÓN DE	1. Regular	41,92	39,44	41,25	52,39	49,05	43,08	38,14	30,58	41	54,33	20	43,1		
HILERAS DE GRANO	2. Irregular	37,49	33,44	35,75	16,11	25,83	30,58	33,14	39,58	45	35,55	30	33,2		
(DHG)	4. En espiral	20,69	27,12	24	31,5	25,12	26,34	28,72	29,84	14	10,12	50	23,7		
COLOR DE TUSA	1. Blanco	95,33	87	98	95	83,5	99	98	100	86	91,88	70	93,4		
(CLT)	2. Rojo	4,67	13	2	5	16,5	1	2	0	14	8,12	30	6,6		
TIPO DE GRANO (TGR)	1. Harinoso	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100		
COLOR DE GRANO (CGR)	1. Blanco	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100		
FORMA DE LA	3. Plano	19	17	30	33	38	8	47	42	63	42	50	33,9		
SUPERFICIE DEL	4. Redondo	71	56	39	59	46	75	29	51	29	39	20	49,4		
GRANO (FSG)	5. Puntiagudo	10	27	31	8	16	17	24	7	8	19	30	16,7		

Fuente: GUACHO, E. 2013

2. <u>Descriptores Cuantitativos</u>

El coeficiente de variación de cada uno de los descriptores investigados es relativamente bajo pues no superan el 21,1%. NARANJO (2007), menciona que mientras más bajo sea el coeficiente de variación de un conjunto de caracteres, más homogéneos serán los datos y por la tanto la variabilidad será menor. En consecuencia, las muestras analizadas presentan homogeneidad, pues la mayor parte de los descriptores cuantitativos, utilizados en la investigación presentan el coeficiente de variación relativamente bajo (Cuadro 12).

Los descriptores cuantitativos con más alto coeficiente de variación están representados en el: número de hileras de grano (21,1%), peso de la tusa (13,3%) y el rendimiento (13,1%). La razón para que estas variables presenten una alto coeficiente de variación en relación a los demás puede deberse al factor medio ambiental, pues son variables dependientes. De la misma forma, los descriptores días a la floración tanto masculina como femenina (1,1%; 1%) y días a la cosecha en choclo (0,7%) presentan los más bajos coeficientes de variación bajo, por lo que se deduce que las muestras son altamente homogéneas.

En relación a la información obtenida en las colectas (Cuadro 4), existe similitud con los datos obtenidos en el ensayo (Cuadro 12), la poca diferencia existente a nivel de mazorca, tusa y grano puede ser principalmente a la densidad de siembra empleada, pues la distancia empleada en el ensayo fue de 0,25m entre plantas y 0,8m entre hileras con una planta por sitio, diferente a la que utilizan los agricultores de la zona que es 1m x 1m.

El maíz de la localidad San José de Chazo presenta mayores atributos a nivel foliar, de mazorca y grano, en comparación con la variedad de maíz INIAP-102 (Cuadro 12), pues se observar que, en las condiciones tanto edáficas, como medio ambientales de la localidad, dicha variedad no presenta buena adaptación, en comparación a investigaciones realizadas por el INIAP en otras localidades.

Cuadro 12. Análisis funcional de los caracteres cuantitativos de 10 muestras de maíz de la localidad San José de Chazo.

MUESTRA	DE	DFM	DFF	DCCH	DCS	AP (cm)	AMZ (cm)	NHP	LGH (cm)	ANH (cm)	LGP (cm)	LGM (cm)	DMM (cm)	PM (g)	NHG	NGH	PT (g)	DMT (cm)	PMG (g)	H₂O (%)	LGGR (cm)	AGR (cm)	GGR (mm)	R (t/ha)
M1	16,4	120,1	128,1	194,8	252,6	209,3	91,6	13,2	75,7	10,6	35,9	13,5	6,1	205,9	11,6	19,6	29,9	3,6	80,2	15,0	1,6	1,3	6,4	3,9
M2	14,6	116,6	124,6	190,6	259,6	203,5	96,0	13,3	75,8	10,5	33,4	13,4	6,0	205,0	11,5	20,1	26,2	3,5	77,8	14,4	1,6	1,2	6,1	4,5
М3	15,8	117,3	125,3	191,3	261,0	220,0	95,2	13,1	82,8	11,0	34,4	12,1	6,1	175,7	19,9	24,6	25,3	3,6	76,4	14,2	1,6	1,3	6,1	5,0
M4	15,2	118,0	126,0	192,0	251,2	214,1	85,2	13,0	78,9	10,0	32,5	12,7	5,8	185,6	11,6	19,2	21,5	3,4	74,3	12,6	1,6	1,2	6,1	4,1
M5	15,8	119,4	127,4	193,4	258,2	213,7	87,4	13,2	75,6	10,0	33,2	12,8	6,0	205,6	11,7	18,6	26,1	3,6	78,8	14,3	1,7	1,3	6,2	4,8
M6	15,2	118,7	126,7	192,7	261,0	230,4	94,9	13,3	76,8	10,5	32,5	13,9	6,1	229,3	11,1	18,8	33,8	3,7	87,7	15,0	1,6	1,4	6,6	5,5
M7	14,6	118,7	126,7	192,7	252,6	213,5	85,9	13,1	76,6	9,9	30,4	11,8	6,3	198,3	12,6	17,5	25,2	3,7	77,0	14,2	1,7	1,2	6,1	4,5
M8	15,2	118,7	126,7	193,4	255,4	213,9	91,0	13,3	81,0	10,5	32,0	13,1	6,1	209,8	11,1	18,6	29,2	3,7	82,2	15,5	1,6	1,3	6,5	5,1
М9	15,2	120,8	128,8	194,8	252,6	221,2	88,2	13,3	77,9	9,8	33,1	13,0	6,0	214,9	11,9	19,9	26,2	3,5	77,2	16,2	1,7	1,2	6,2	6,0
M10	14,6	118,0	126,0	192,0	251,2	199,8	86,8	13,4	74,9	9,7	34,3	12,6	6,0	198,3	12,1	18,4	22,9	3,5	77,6	13,9	1,6	1,3	6,4	4,9
Promedio	15,3	118,6	126,6	192,8	255,5	213,9	90,2	13,2	77,6	10,2	33,2	12,9	6,0	202,8	12,5	19,5	26,6	3,6	78,9	14,5	1,6	1,3	6,3	4,8
DesvEst	0,6	1,3	1,3	1,4	4,0	8,8	4,1	0,1	2,6	0,4	1,5	0,7	0,1	14,9	2,6	2,0	3,5	0,1	3,7	1,0	0,0	0,0	0,2	0,6
CV	3,9	1,1	1,0	0,7	1,6	4,1	4,5	0,9	3,3	4,2	4,5	5,0	2,0	7,3	21,1	10,0	13,3	2,9	4,7	6,7	1,6	3,7	2,7	13,1
INIAP 102	20	120	125	180	261	219,5	125,7	13,4	76,3	9,4	40,1	11,7	4,1	98,9	9,8	16,4	13,5	2,7	68,1	14,9	1,5	1,1	6,2	1,9

Fuente: GUACHO, E. 2013

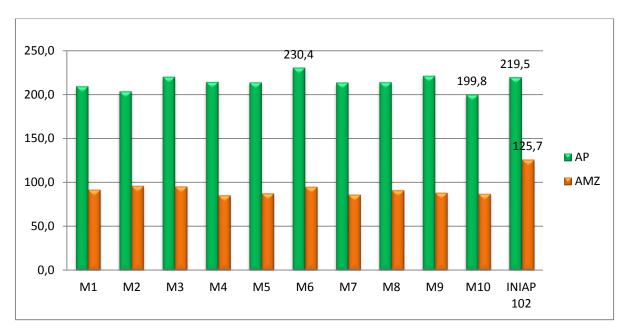


Fig. 6. Altura de planta y mazorca (cm)

La altura de planta está entre 199,8cm (M10) y 230,4cm (M6), mientras que la altura de la primera mazorca entre todas las muestras esta en 90,2cm como promedio, diferente a la variedad INIAP 102 que presenta altura de mazorca mayor (125,7) y altura de planta casi similar (219,5cm).

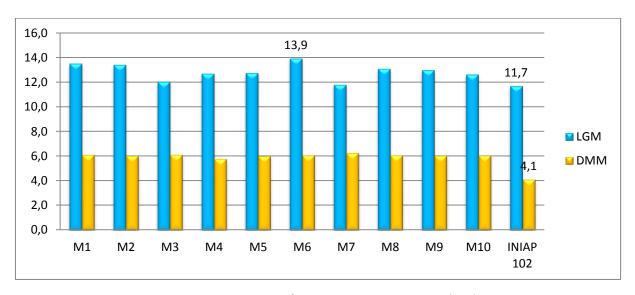


Fig. 7. Longitud y diámetro de la mazorca (cm)

La muestra M6 presenta mayor longitud de mazorca (13,9 cm) en relación a las demás muestras, incluso más que la variedad INIAP 102 (11,7cm), el diámetro promedio de todas las muestras es de 6 cm, mayor que la INIAP 102 (4,1cm).

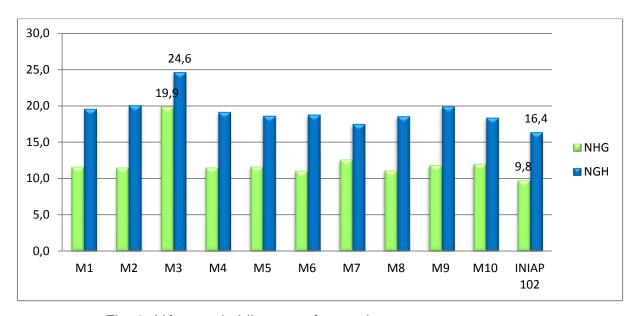


Fig. 8. Número de hileras y número de granos por mazorca

La muestra M3 presenta mayor cantidad de hileras de grano por mazorca (19,9) y mayor número de granos por hilera (24,6). Además la variedad INIAP 102 presenta menor número de granos por hilera (9,8) y menor número de hileras de grano por mazorca (16,4).

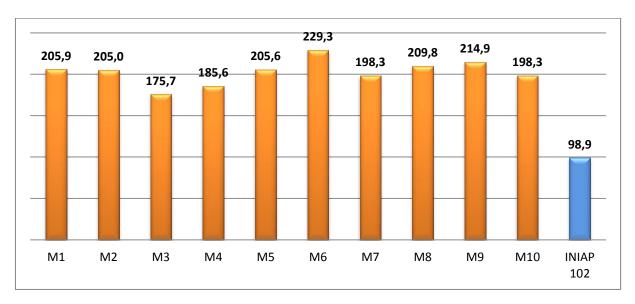


Fig. 9. Peso de la mazorca (g)

La muestra M6 presenta mayor peso de mazorcas (229,3 g) y tiene relación con la longitud y diámetro de la mazorca (Fig. 9), pues a mayor tamaño mayor peso. Mientras que la variedad INIAP 102 tiene un peso de mazorca de 98,9 g que es muy bajo en relación al peso de mazorcas que encontramos en otras muestras.

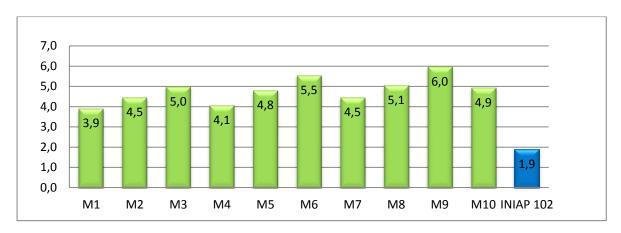


Fig. 10. Rendimiento (t/ha)

El rendimiento obtenido en el ensayo está entre 3,9 t/ha (M1) y 6 t/ha (M9), la diferencia del rendimiento entre las muestras radica principalmente en la longitud, diámetro y peso de las mazorcas, así como también de las dimensiones del grano. Pero lo que cabe destacar es que todas las muestras analizadas superan el rendimiento de la variedad INIAP 102 (1,9 t/ha), que en esta localidad no alcanza el rendimiento obtenido en otras zonas, donde es considerada una variedad líder.

Cuadro 13. Enfermedad foliar y daño de la mazorca.

DESCRIPTOR	M1	M2	М3	M4	M5	М6	М7	М8	М9	M10	INIAP 102	Promedio	
EF1	1. Débil	94	99	100	100	100	100	100	100	100	100	0	99,3
(Helminthosporium maidis)	2. Ligera	6	1	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0,7
EF2	1. Débil	72	71	60	50	58	50	61	59	42	45	0	56,8
(Puccinia sorghi)	2. Ligera	28	29	40	50	42	50	39	41	58	55	100	43,2
	1. Muy bueno	81,7	91	85,2	88,5	88,5	80	88,7	90,5	97	94,8	40	88,6
DMZ	2. Bueno	9	3	7,2	6,3	4	20	4	5	2	3	40	6,4
	3. Regular	8,2	2	5	5,1	5,5	0	6,3	2,2	1	2,1	10	3,8
	4. Mala	1	4	2,5	0	2	0	1	2,25	0	0	10	1,3

Fuente; (GUACHO, E. 2013)

La severidad de la infección ocasionada por *Helminthosporium maidis y Puccinia* sorghi fue débil (99,3%; 56,8%), en todas las muestras evaluadas, mientras que en la variedad INIAP-102 la infección fue ligera (100%). El estado de la mazorca es muy bueno (88,6%), en todas las muestras evaluadas.

VI. <u>CONCLUCIONES</u>

- Los agricultores de la localidad San José de Chazo, realizan selección de semilla de forma tradicional, guardando los granos de la parte media de la mazorca, esta actividad la realizan en cada ciclo del maíz. Además utilizan fertilización mixta (orgánica + química) que aplican en las actividades de siembra y primer aporque.
- El análisis molecular realizado con 12 marcadores moleculares, en las 10 muestras con 10 submuestras respectivamente, indican que todo el material recolectado es genéticamente homogéneo, pues el valor de la diversidad genética entre todas las muestras es de apenas 0,32. Además analizando la frecuencia y distancia genética de todas las muestras unas con otras, indican que existe alta similitud entre ellas.
- El maíz de la localidad San José de Chazo, presenta un periodo de emergencia de 15 días, el tiempo a la cosecha como choclo y como grano seco es de 193 y 256 días respectivamente. La floración masculina ocurre a los 119 días y la floración femenina a los 127 días después de la siembra.
- A nivel foliar este material local de maíz, presenta tallo de color café (65%) y morado (35%), la pubescencia de la vaina foliar es intermedia, la cantidad de follaje es intermedia, la cobertura de la mazorca es excelente. La planta alcanza una altura de 214 cm, la mazorca se ubica a 90,2 cm del suelo, presenta 13 hojas, la longitud de la hoja de la mazorca es de 78 cm de largo, por 10 cm de ancho y la panoja tiene una longitud de 33 cm.
- La mazorca de este material local, tiene forma cilíndrica-cónica (31,8%) y cónica (68,2), la disposición de las hileras de grano es regular (43,1%), irregular (33,2%) y espiral (23,7%), con tusa de color blanco. La longitud de la mazorca es de 13 cm, con diámetro de 6cm y un peso de 202,8 g, además tiene 12 hileras de grano con 20 granos por hilera.

- Los granos son blancos y harinosos, la superficie puede ser plana (33,9%), redondo (49,4%) y puntiaguda (16,7%), las dimensiones del grano son 1,6 cm de largo, 1,3 cm de ancho y 6,3 mm de grosor. El rendimiento es de 4,8 t/ha, que es superior al rendimiento de la variedad INIAP 102 (1,9 t/ha).
- Entre todas las muestras analizadas existe una alta similitud agro-morfológica, la frecuencia de caracteres cualitativos a nivel foliar, mazorca y grano es casi similar en todas las muestras, de igual forma los caracteres cuantitativos evaluados para cada muestra son casi similares, pues el coeficiente de variación (CV) calculado no supera el 21,1 %. Con el análisis agro-morfológico, apoyado en la evaluación molecular del material colectado, muestran que el maíz de la localidad San José de Chazo corresponde a un solo material genético, que con el pasar de los tiempos ha venido mejorando sus características morfológicas, volviéndose más resistente a las adversidades del medio ambiente y dando excelentes tasas de producción.

VII. <u>RECOMENDACIONES</u>

- El maíz de la localidad San José de Chazo, se adapta a diferentes zonas de producción por lo que sería necesario realizar evaluaciones de rendimiento en diferentes lugares, combinado con distancias de siembra, para de esta manera brindar tecnologías a los agricultores e incrementar sus rendimientos.
- Se debería realizar mejoramiento genético del material obtenido en la investigación, conservándolo en bancos de germoplasma para su posterior uso en el futuro, favoreciendo de esta forma la seguridad alimentaria de las generaciones futuras.
- La localidad de San José de Chazo, es adecuada para la producción de semilla, pues presenta características de humedad y temperatura óptimas, además cabe destacar que en la zona no existe la presencia de gorgojo por lo que es un lugar excelente para el almacenamiento masivo de semilla.

VIII. RESUMEN

La presente investigación propone: identificar las características agro-morfológicas del maíz de la localidad San José de Chazo, cantón Guano, provincia de Chimborazo; para su posterior registro y lanzamiento como variedad registrada. El trabajo inició con la recolección de 10 muestras (10 mazorcas por muestra) en diferentes puntos de la localidad, posteriormente se realizó la caracterización inicial morfológica de mazorca, tusa y grano; de esta colecta inicial se obtuvo 100 líneas con las que se realizó un análisis molecular y evaluación a nivel de campo. Los resultados obtenidos indican que el maíz de Chazo a nivel foliar tiene una altura de 214 cm, la cantidad de follaje es intermedia, el tallo es color café (65%) y morado (35%); la mazorca se ubica a 90,2 cm del suelo, con cobertura excelente, su forma es cónica (68,2 %) y cilindra-cónica (31,8 %), con una longitud de 13 cm; la tusa es de color blanco, con granos blancos y harinosos. En comparación con la variedad INIAP-102, este maíz presenta mejores características morfológicas y mayor rendimiento (Chazo 4,8 t/ha; 1,9 t/ha INIAP-102). El análisis funcional realizado, indica que entre las muestras evaluadas existe alta similitud a nivel morfológico y molecular, determinando que esta colección de maíz corresponde a un solo material genético, que progresivamente ha mejorado sus características agro-morfológicas, convirtiéndose en un cultivo de importancia en la alimentación de la presente y futura generación.



IX. **SUMMARY**

The present investigation proposes: to identify the agriculturemorphological characteristics of the corn of the town San José de Chazo, canton Guano, province of Chimborazo; for their later registration and launching as registered variety. The work began with the gathering of 10 samples (10 corncob for sample) in different points of the town, later on it was carried out the morphological initial characterization of corncob, cornhusk and grain; this initial collection was obtained 100 lines that was carried out a molecular analysis and evaluation at field level. The obtained results indicate that the corn of Chazo at level to foliate has a height of 214 cm, the quantity of foliage is intermediate, the shaft is brown color (65%) and lived (35%); the corncob is located to 90,2 cm of the floor, with excellent covering, its form is conical (68,2%) and cylinder-conical (31,8%), with a length of 13 cm; the cornhusk is white color, with white and floury grains. In comparison with the variety INIAP-102, this corn presents better characteristics morphological and bigger yield (Chazo 4,8 t/ha: 1.9 t/ha INIAP-102). The realized functional analysis, indicates that among the valued samples high similarity exists at morphological and molecular level, determining that this collection of corn corresponds to a single genetic material that progressively has improved its agriculturemorphological characteristics, becoming a cultivation of importance in the feeding of the present and future generation.

X. BIBLIOGRAFÍA

- ALVAREZ, J. 2007. Revista sembrando. "El desarrollo del país en buenas manos". BNF. 22-23pp.
- 2. BARTOLINI, R. 1990. "El Maíz". Segunda Edición. Editorial Mundi Prensa. Madrid-España. 15-20pp.
- CABALLERO, D. YANEZ, C. 2006. Producción, manejo y uso sostenible de cultivares tradicionales de maíz de la Sierra Ecuatoriana.
- 4. CABRERIZO, C. 2012. "El maíz en la alimentación Humana". Disponible en: www.infoagro.com. Consultado el 17/08/2012.
- 5. CAICEDO, M. 2001. "Determinación de la ganancia genética obtenida a través del mejoramiento, en las poblaciones del maíz (zeamays L.) morocho blanco y amarillo duro". Tesis Ingeniero agrónomo. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Recursos Naturales. Escuela de Ingeniería Agronómica. 23-29pp.
- 6. CIMMYT. 1986. "Manejo de ensayos e informe de datos para el programa de ensayos internacionales de maíz del CIMMYT". México. 13-19 pp.
- 7. CIMMYT. 1997. "El programa de maíz del CIMMYT". Manual de usuario para fieldbook 5.5/7.1 y Alfa. México D.F.
- 8. CIMMYT. 1998. "Guía de Caracterización del Material Filogenético del Germoplasma Activo". México. 225 p.
- 9. CIMMYT. 2012. "Ensayos Internacionales de Maíz". México. Disponible en: www.cimmytmaiz.org.mex_azt.com. Consultado el 20/08/2012.
- 10. ELLEGREN, H., 2000. "Microsatellite mutations in the germline": implications for evolutionary inference. Trends in Genetics, 16: 551-558 pp. Disponible en: www.graellsia.revistas.csic.es

- 11.FAO. 2012. "Mejoramiento de Maíz con objetivos especiales". Disponible en: www.fao.rog/DOCREP/003/X7650S/x7650s21.com. Consultado el 20/08/2012.
- 12. GABELA, F. CARDENAS, M. 1989. "Control de malezas en el maíz de la sierra".
 INIAP. Estación Experimental "Santa Catalina". Boletín Divulgativo N°
 105. 1-10 pp.
- 13. GONZALES, G. 2003. "MICROSATÉLITES: Sus aplicaciones en la conservación de la biodiversidad". Disponible en: www.graellsia.revistas.csic.es
- 14. Grupo semillas. 2012. "El Maíz en el Ecuador". Disponible en: www.ecuadorxporta.org/htm/index.htm. Consultado el 17/08/2012.
- 15. IBPGR. 1991. Descriptors for Maize. International Maize and Wheat improvement Center, México City/ International Board for Plant Genetic Resources, Rome. 9-25 pp.
- 16. INFOAGRO. 2012. "El cultivo del maíz". Disponible en: www.infoagro.com/herbaceos/cereales/maiz.asp. Consultado el 17/08/2012.
- 17. INEC, MAGAP. 2012. "Censo Nacional Agropecuario". Disponible en: www.magap.gov.ec. Consultado el 17/08/2012.
- 18. INIAP. 2000. Proyecto PROMSA "Manejo de los Recursos Genéticos de Maíz en la Sierra del Ecuador". Programa de Maíz. EESC. Quito-Ecuador. 1-3pp.
- 19. INIAP. 2011. Módulo IV "Manejo integrado del cultivo de maíz suave" Programa de Maíz. EESC. Quito-Ecuador.
- 20. INIAP. 2011. Boletín divulgativo N°406 "Guía para la producción de maíz en la sierra sur del Ecuador". Programa de Maíz. EESC. Quito-Ecuador. 1-3pp.

- 21. INIAP. 2011. Boletín técnico N°150 "Manejo de nutrientes por sitio especifico en el cultivo de maíz bajo labranza de conservación para la provincia de Bolívar. Programa de Maíz. EESC. Quito-Ecuador. 1-3pp.
- 22. INTA. 2012. "Fenología del maíz". Disponible en: http://riap.inta.gov.ar. Consultado el 23/11/2012.
- 23. JEHLE, R. & ARNTZEN, J. W., 2002. Review: "Microsatellitemarkers in amphibian conservation genetics". Herpetological Journal, 12: 1-9pp. Disponible en: www.graellsia.revistas.csic.es
- 24. MANUAL AGROPECUARIO. 2001. "Cultivo de maíz". 3ra Edición. Editorial Idea Books. Barcelona-España. 471-476 pp.
- 25. MAROTO, J. 1998. "Horticultura herbácea especial". 4ta Edición. Ediciones Mundi Prensa. Madrid-España. 589-593 pp.
- 26. MORILLO, E y MIÑO, G. 2011. "MARCADORES MOLECULARES EN

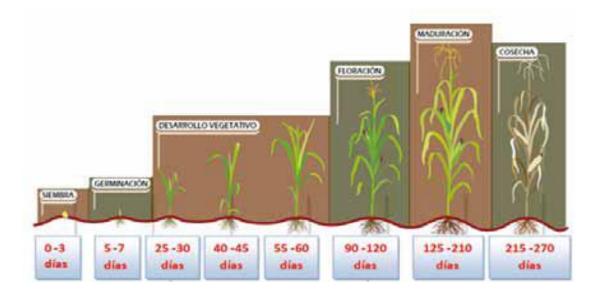
 BIOTECNOLOGÍA AGRICOLA: Manual de técnicas y procedimientos en

 INIAP. Quito Ecuador. 25-35pp
- 27. PARSONS, R. 1990. "Mejoramiento genético de las cosechas". Traducido del inglés por N. Sánchez. Editorial Limusa. México, 184-190.
- 28. PRIMMER, C. R., MOLLER, A. P. & ELLEGREN, H., 1996. "A wide-range survey of cross-species microsatellite amplification in birds". Molecular Ecology, 5: 365-378pp. Disponible en: www.graellsia.revistas.csic.es
- 29. RASSMANN, K., SCHLÖTERER, C. & TAUTZ, D., 1991. "Isolation of simple sequence loci for use in polymerase chain reaction-based DNA fingerprinting. Electrophoresis, 12: 113-118 pp. Disponible en: www.graellsia.revistas.csic.es
- 30. ROBLES, R. 1986. "Genética Elemental y Fitomejoramiento Practico". Editorial Limusa. México. 43-52 pp.

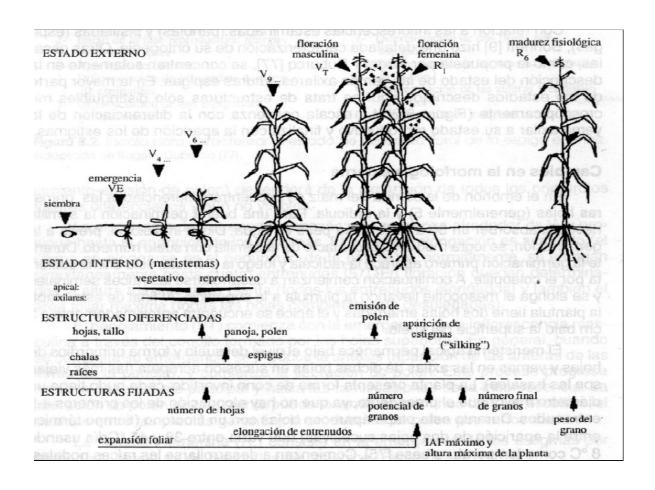
- 31. SÁNCHEZ, V. 2002. "caracterización agromorfológica y molecular de 18 accesiones de maíz blanco de altura". Quito-Ecuador.
- 32. SUNNUCKS, P., 2000. "Efficient genetic markers for population biology". Trends
 In Ecology and Evolution. 99-203pp. Disponible en
 www.graellsia.revistas.csic.es
- 33. TIMOTY, D.; HATHENWAY, W.; GRANT, U.; TORREGROZA, M.; SARRIA, D y VELA, D. 1966. "Razas de Maíz en Ecuador", ICA. Boletín técnico N° 12. Colombia. 8-10; 23-131 pp.
- 34. YANEZ, C.; ZAMBRANO, J.; CAICEDO, M.; SANCHEZ, H.; HEREDIA, J. 2003. "Catálogo de Recursos Genéticos de Maíces de Altura Ecuatorianos". INIAP-EESC. Programa de Maíz. Quito-Ecuador. 22-27; 113-127 pp.
- 35. YANEZ, C.; ZAMBRANO, J.; CAICEDO, M.; HEREDIA, J. 2005. "Inventario Tecnológico del Programa del Maíz". INIAP-EESC. Quito-Ecuador. 2-25 pp.
- 36. YANEZ, C.; ZAMBRANO, J.; CAICEDO, M.; HEREDIA, J. 2013. "Guía de producción de maíz para pequeños agricultores y agricultoras". Quito-Ecuador. INIAP, Programa de maíz, 28p, (Guía No 96).
- 37. YANEZ, C. 2007. "Manual de producción de maíz para pequeños agricultores y agricultoras". FAO, INAMHI, MAG. Proyecto de emergencia para la rehabilitación Agroproductiva de la Sierra del Ecuador. FAO/TCP/ECU/3101 (E). Quito-Ecuador. 23 p.
- 38.WHITTAKER, J. C., HARBORD, R. M., BOXALL, N., MACKAY, I., DAWSON, G.
 & SIBLY, R. M., 2003. Likelihood-based estimation of microsatellite mutation rates. Genetics, 164: 781-787pp. Disponible en: www.graellsia.revistas.csic.es

XI. ANEXOS

ANEXO 1. CICLO VEGETATIVO DEL MAÍZ

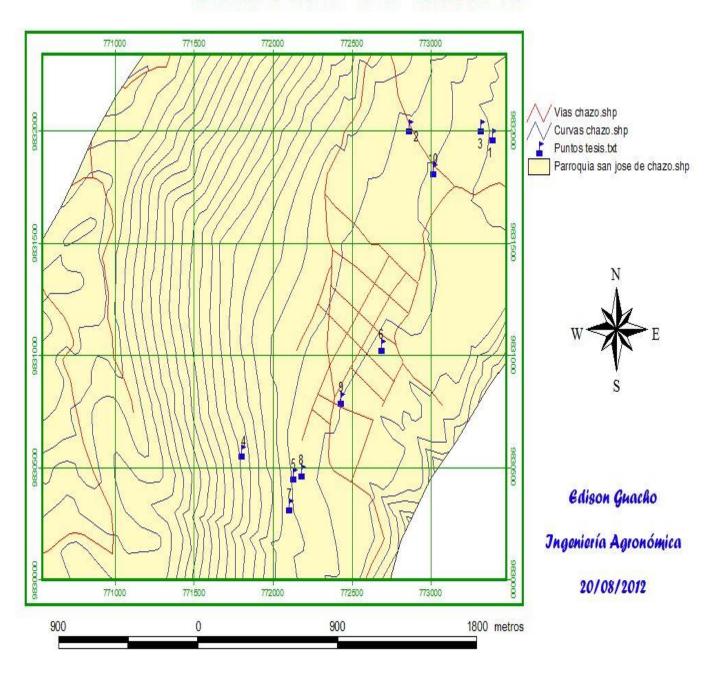


ANEXO 2. ESTADO FENOLÓGICO Y REPRODUCTIVO DEL MAÍZ



ANEXO 3. MAPA DE RECOLECCIÓN DE MATERIAL

San José de Chazo

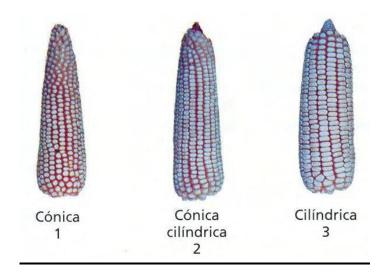


ANEXO 4. DISEÑO DE LA PARCELO

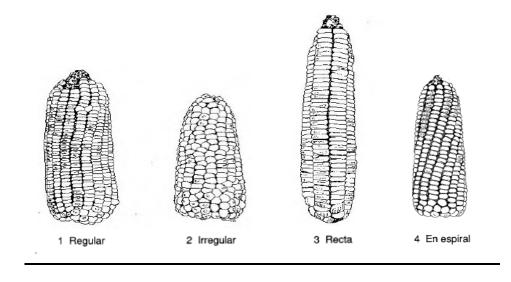
//	Bloque 1	//	Bloque 2	//	Bloque 3	//	Bloque 4	//	
			Testig	o INIA	AP 102				^
//	M1.1	//	M5.10	//	M6.1	//	M10.10	//	D
//	M1.2	//	M5.9	//	M6.2	//	M10.9	//	Distancia de siembra
//	M1.3	//	M5.8	//	M6.3	//	M10.8	//	• 0,8 entre hilera
//	M1.4	//	M5.7	//	M6.4	//	M10.7	//	0,25 entre planta 35 europa (blanca)
//	M1.5	//	M5.6	//	M6.5	//	M10.6	//	25 surcos/bloque20 sitios/surco
//	M1.6	//	M5.5	//	M6.6	//	M10.5	//	• 2 semillas/sitio
//	M1.7	//	M5.4	//	M6.7	//	M10.4	//	 40 semillas/surco
//	M1.8	//	M5,3	//	M6.8	//	M10.3	//	
С	M1.9	С	M5.2	С	M6.9	С	M10.2	С	0,8m
Α	M1.10	Α	M5.1	Α	M6.10	Α	M10.1	Α	8,0
М	M2.1	М	M4.10	М	M7.1	М	M9.10	М	
1	M2.2	- 1	M4.9	Τ.	M7.2	1	M9.9	1	
N	M2.3	N	M4.8	N	M7.3	N	M9.8	N	X 0,25m X
0	M2.4	0	M4.7	0	M7.4	0	M9.7	0	
//	M2.5	//	M4.6	//	M7.5	//	M9.6	//	30m
//	M2.6	//	M4.5	//	M7.6	//	M9.5	//	COM
//	M2.7	//	M4.4	//	M7.7	//	M9.4	//	
//	M2.8	//	M4.3	//	M7.8	//	M9.3	//	
//	M2.9	//	M4.2	//	M7.9	//	M9.2	//	
//	M2.10	//	M4.1	//	M7.10	//	M9.1	//	
//	M3.1	//	M3.10	//	M8.1	//	M8.10	//	
//	M3.2	//	M3.9	//	M8.2	//	M8.9	//	
//	M3.3	//	M3.8	//	M8.3	//	M8.8	//	
//	M3.4	//	M3.7	//	M8.4	//	M8.7	//	
//	M3.5	//	M3.6	//	M8.5	//	M8.6	//	
			Testig	o INIA	AP 102				↓
1m	5m	1m	5m	1m	5m	1m	5m	1m	•
$\overline{\longleftarrow}$								→	•
			2	5m					
					_				

Por: Edison Guacho

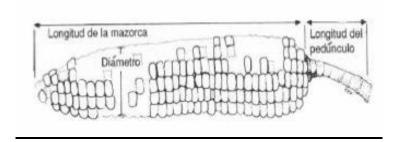
ANEXO 5. FORMA DE LA MAZORCA



ANEXO 6. DISPOSICIÓN DE LAS HILERAS DE GRANO



ANEXO 7. LONGITUD Y DIÁMETRO DE MAZORCA



ANEXO 8. IMÁGENES DEL PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS MOLECULAR



Plántulas de maíz



Protocolo de extracción de ADN. a) Recolección de las muestras en hielo. b) distribución del buffer de extracción en las muestras. c) Maceración de la muestra. d) Incubación de las muestras en baño maría. e) centrifugación y f) Tubo con ADN diluido.



Muestras validadas. Gel de agarosa al 2%, teñido con bromuro de etidio.



Secuenciador LI-COR 4300s. Departamento Nacional de Biotecnología

ANEXO 9. MÉTODO DE EXTRACCIÓN DE ADN CON CTAB

(Ferreira y Grattapaglia. 1998)

Tampón de extracción 2X CTAB

Para 100 ml:

Componentes	Cantidad (100 ml)	Concentración final
CTAB	2 g	2%
Tris HCl 1M pH 8	10 ml	100 mM
NaCl	8.12 g	1,4 M
EDTA 0.5 M	4 ml	20 mM
PVP	1 g	1%
Agua destilada estéril	Hasta aforar a 100 ml	
2-mercaptoetanol*	200 ml	

^{*} adicionar antes del uso

Procedimiento:

- 1. Añadir 700 μl de buffer a 0.05 g de tejido seco de cada material.
- 2. Incubar a 65° C por 1 hora agitando cada 30 minutos.
- 3. Centrifugar a velocidad tope por 15 minutos.
- 4. Tomar el sobrenadante y añadir 600 μl de CIA (24:1). Homogeneizar.
- 5. Centrifugar a 13000 r.p.m. por 5 minutos.
- 6. Repetir el paso 4 y 5.
- 7. Adicionar 400 μl de isopropanol (2/3 volumen de sobrenadante).
- 8. Centrifugar por 4 minutos a 13000 r.p.m. Si el pellet no es visible colocar el tubo a -20° C durante 30 minutos y centrifugar nuevamente.
- 9. Retirar el isopropanol y lavar dos veces con 1 ml de etanol 70% la pastilla de ADN formada.
- 10. Secar en la micro-estufa por 30 minutos a 37° C.
- 11. Resuspender el ADN en 100 μl de TE a temperatura ambiente por toda la noche.

Mix PCR y programa de amplificación para validación de ADN.

(Morillo, E. y Miño, G., 2011)

	CI	CF	VOL. 1 rx (uL)
AGUA UP			2,18
BUFFER PCR (X)	5	1	1,50
MgCl2 (mM)	25	2	0,60
dNTP's (mM)	5	0,253	0,38
Primer (uM) F	10	0,5	0,38
Primer (uM) R	10	0,5	0,38
Taq (U/uL)	5	0,067	0,10
MUESTRA (ng/uL)	5	1,33	2,00
VOL. TOTAL	. (uL)		7,5

		°T	TIEMPO	
1	L	94	5 MIN	
2	<u>)</u>	94	45 SEG	
3	3	56	1 MIN	30 CICLOS
4	1	72	2 MIN	
5	5	72	7 MIN	
6	5	10	5 MIN	

Mix PCRs y programa de amplificación para la metodología M13 tailing.

(Morillo, E. y Miño, G., 2011)

DUPLEX PCR	CI	CF	VOL. 1 rx (uL)
AGUA UP			0,19
BUFFER PCR (X)	5	1	1,00
MgCI2 (mM)	25	2,5	0,50
dNTP's (mM)	5	0,2	0,20
M13 700/800	1	0,16	0,80
Primer (uM) F -M13	1	0,01	0,05
Primer (uM) R	10	0,16	0,08
Primer (uM) F-M13	1	0,01	0,05
Primer (uM) R	10	0,16	0,08
Taq(U/uL)	5	0,05	0,05
MUESTRA (ng/uL)	5	2	2,00
VOL. TOTAL	(uL)		5

MONOPLEX PCR	CI	CF	VOL. 1 rx (uL)
AGUA UP			0,32
BUFFER PCR (X)	5	1	1,00
MgCI2 (mM)	25	2,5	0,50
dNTP's (mM)	5	0,2	0,20
M13 700/800	1	0,16	0,80
Primer (uM) F -M13	1	0,01	0,05
Primer (uM) R	10	0,16	0,08
Taq (U/uL)	5	0,05	0,05
MUESTRA (ng/uL)	5	2	2,00
VOL. TOTAL	(uL)		5

	T°C	Tiempo	
1	94 °C	2 min	
2	95 °C	4 min	
3	95 °C	1 min	
4	56 °C	2 min	25 ciclos
5	72 °C	2 min	
6	72 °C	10 min	
7	4 °C	10 min	

ANEXO 10. GENOTIPAJE DE 100 MUESTRAS DE MAÍZ CON 12 MARCADORES MICROSATÉLITES (Tamaño de marcadores).

Muestras	PHI (AA		PHI (N		PH (AC		PHI (GC			I 53 AC)	PH (AG	I 83 (CT)		II 33 AG)		II 15 AAC)		II 59 CC)		HI 34 CT)		II 50 AGC)		I 41 GCC)
M1.1	148	148	185	185	109	109	161	161	192	192	132	132	247	247	84	100	144	144	140	140	82	82	200	200
M1.2	148	152	185	185	109	109	161	161	168	168	132	132	247	247	84	100	144	144	122	140	82	82	200	200
M1.3	148	148	185	185	109	109	161	161	168	168	132	132	247	247	100	100	144	144	140	140	78	82	?	?
M1.4	148	148	185	191	109	109	161	161	192	172	132	132	247	247	84	84	144	153	140	140	82	82	196	196
M1.5	148	148	185	185	109	109	158	161	192	168	132	136	247	247	84	100	144	144	140	140	82	82	200	200
M1.6	148	152	185	185	109	109	161	161	192	168	132	136	247	253	100	100	144	153	122	140	82	82	200	200
M1.7	148	152	185	185	109	109	158	161	192	192	132	132	247	247	100	100	144	144	122	134	82	82	200	200
M1.8	148	152	185	185	109	115	161	161	168	168	132	132	247	247	84	100	144	144	122	140	82	82	200	204
M1.9	140	148	185	188	109	115	161	161	188	192	132	132	247	247	84	100	144	144	?	?	?	?	196	204
M1.10	148	148	185	188	109	109	161	161	192	176	124	132	247	247	84	100	144	144	122	140	78	82	?	?
M2.1	148	152	188	188	109	109	161	161	192	168	132	132	247	262	84	84	144	144	137	140	82	82	200	200
M2.2	148	148	185	185	109	109	161	161	168	172	132	132	247	247	100	100	144	153	140	140	82	82	200	200
M2.3	148	148	185	185	109	109	161	161	192	168	132	132	247	247	100	100	153	153	122	140	78	82	200	200
M2.4	148	152	185	185	109	109	158	161	172	172	124	132	247	247	100	100	144	153	122	140	82	82	200	200
M2.5	152	152	185	185	109	109	161	161	192	192	132	132	253	262	84	100	144	144	140	140	82	82	200	200
M2.6	140	148	185	185	109	115	158	161	168	168	132	136	247	247	84	100	144	144	122	140	78	82	196	200
M2.7	140	148	185	185	109	109	161	161	168	168	132	136	247	247	84	100	144	153	140	140	82	82	200	200
M2.8	148	152	185	185	109	109	161	161	192	168	132	136	253	262	84	84	144	144	140	140	82	82	200	200
M2.9	148	152	188	188	109	109	161	161	168	168	132	132	247	253	84	84	144	153	122	134	82	82	196	196
M2.10	148	148	185	185	109	109	161	161	168	176	132	132	247	253	84	84	144	144	122	140	78	82	200	200
M3.1	148	148	185	188	109	109	161	161	168	168	132	136	247	247	84	84	144	144	140	140	82	82	200	200
M3.2	144	148	188	188	109	109	161	161	192	168	132	132	247	247	84	100	144	153	140	140	82	82	200	200
M3.3	148	148	185	185	109	109	158	161	192	192	132	132	247	247	84	100	144	153	122	140	82	82	196	200
M3.4	144	148	?	?	109	109	161	161	192	176	132	132	247	247	84	100	153	153	122	140	82	82	200	200
M3.5	?	?	185	185	109	109	?	?	?	?	132	132	?	?	84	84	144	144	?	?	?	?	196	196

										l														
M3.6	144	148	185	191	109	118	161	161	188	176	132	132	247	247	84	84	144	153	122	140	82	82	196	196
M3.7	148	148	185	188	109	109	161	161	168	176	124	132	247	247	84	84	144	153	140	140	82	86	200	200
M3.8	148	148	?	?	?	?	?	?	192	168	?	?	247	247	84	100	144	153	140	140	82	82	?	?
M3.9	148	148	185	185	?	?	161	161	192	172	132	132	247	247	84	96	144	144	140	140	82	82	?	?
M3.10	148	148	188	188	109	109	161	161	192	168	132	132	247	247	84	84	144	144	140	140	82	82	200	200
M4.1	140	148	185	185	109	109	161	161	168	168	?	?	256	256	84	84	153	153	140	140	82	82	196	200
M4.2	148	148	185	191	109	109	161	161	192	168	132	132	247	256	84	84	153	153	122	122	82	82	200	200
M4.3	144	148	185	185	109	109	161	161	168	176	132	132	247	247	100	100	144	153	?	?	82	82	200	200
M4.4	144	148	185	185	109	109	161	161	188	168	132	132	247	247	100	100	144	144	140	140	82	82	200	200
M4.5	144	148	185	185	109	118	161	161	192	168	132	132	256	262	100	100	153	153	140	140	82	82	200	200
M4.6	148	148	185	191	109	109	158	161	168	168	132	132	247	253	84	84	144	144	122	122	82	82	200	200
M4.7	144	148	185	188	109	109	161	161	168	168	124	132	247	247	96	96	144	153	140	140	82	82	200	200
M4.8	144	148	185	185	109	109	161	161	192	168	132	136	247	253	84	84	144	144	140	140	82	82	200	200
M4.9	148	148	185	185	109	109	161	161	188	168	132	132	247	253	84	84	153	153	140	140	82	82	200	200
M4.10	148	148	188	188	109	109	161	161	192	192	132	132	247	247	84	84	144	144	140	140	82	82	196	200
M5.1	148	152	188	188	109	118	161	161	168	168	132	132	247	247	84	100	144	144	140	140	82	82	200	200
M5.2	148	152	185	188	109	109	158	161	188	168	136	136	247	256	?	?	?	?	122	134	82	82	200	200
M5.3	148	148	185	185	109	109	158	161	192	168	132	132	247	247	84	100	144	144	140	140	82	82	200	200
M5.4	148	148	185	188	109	109	161	161	?	?	132	132	247	247	84	100	144	144	122	140	82	82	200	200
M5.5	148	152	185	185	109	109	161	161	168	168	?	?	247	256	84	100	144	144	140	140	78	82	200	200
M5.6	148	152	185	188	109	109	158	161	?	?	132	132	247	256	84	100	144	153	122	140	82	82	200	200
M5.7	148	148	185	185	109	109	161	161	192	192	132	132	247	247	84	100	153	153	122	140	82	82	200	200
M5.8	148	148	185	185	109	109	161	161	192	168	124	132	247	247	84	100	144	144	140	140	82	82	200	200
M5.9	148	152	185	188	109	109	161	161	192	168	132	132	247	247	84	100	144	144	?	?	82	82	200	200
M5.10	148	148	185	188	109	118	161	161	192	168	132	132	247	256	84	84	144	144	140	140	78	82	200	200
M6.1	148	148	185	188	118	118	158	161	168	168	132	132	247	256	84	100	144	153	122	122	82	82	200	200
M6.2	148	152	185	188	109	109	161	161	168	168	132	132	247	256	100	100	153	153	140	140	78	82	200	200
M6.3	148	148	185	188	109	109	161	161	168	176	132	132	247	247	84	100	144	144	140	140	82	82	200	200

					1	1				1			1							1			1	
M6.4	140	148	185	188	109	109	161	161	188	168	132	132	247	256	84	84	144	144	140	140	82	82	200	200
M6.5	148	148	185	188	109	109	161	161	192	168	132	132	247	256	84	84	153	153	140	140	82	82	200	200
M6.6	148	152	185	185	109	109	161	161	168	168	132	132	247	247	84	100	153	153	140	140	82	82	200	200
M6.7	148	152	185	185	109	118	161	161	192	168	132	132	247	247	100	100	144	144	122	140	82	82	200	200
M6.8	148	152	185	185	109	118	161	161	192	168	132	132	247	256	84	84	144	144	140	140	82	82	200	200
M6.9	148	148	185	185	109	118	161	161	168	168	136	136	247	262	84	100	144	144	140	140	82	82	?	?
M6.10	148	148	185	188	109	118	161	161	192	168	132	132	247	253	84	100	144	153	140	140	82	82	196	196
M7.1	148	148	185	185	115	118	158	161	168	168	?	?	247	247	84	84	144	144	?	?	82	82	196	200
M7.2	148	148	185	185	109	109	161	161	168	168	132	132	247	256	84	84	144	144	137	140	82	82	200	200
M7.3	148	152	185	188	109	109	161	161	168	168	132	132	247	247	84	100	144	153	140	140	82	82	200	200
M7.4	148	152	185	185	115	118	161	161	168	176	136	136	247	247	100	100	153	153	140	140	82	82	196	196
M7.5	148	148	185	188	109	109	161	161	168	172	132	132	247	247	84	84	144	144	140	140	82	82	196	200
M7.6	148	152	185	188	109	109	161	161	192	172	132	132	247	247	84	84	144	144	140	140	82	82	196	196
M7.7	148	148	185	185	109	109	161	161	168	168	124	132	247	247	84	84	153	153	122	122	78	82	200	200
M7.8	148	148	185	185	118	118	161	161	172	172	132	132	247	256	100	100	144	153	140	140	82	82	200	200
M7.9	144	152	185	185	115	115	?	?	?	?	124	124	247	253	84	96	144	144	140	140	?	?	200	200
M7.10	140	148	185	188	109	109	161	161	192	168	132	132	247	247	100	100	144	144	?	?	82	82	200	200
M8.1	148	148	?	?	109	109	161	161	168	168	132	132	247	247	100	100	144	153	140	140	82	82	200	200
M8.2	?	?	?	?	109	109	158	161	192	176	132	132	247	247	84	100	144	153	140	140	82	82	?	?
M8.3	152	152	191	191	109	115	161	161	192	168	132	132	247	247	100	100	144	144	140	140	82	82	200	200
M8.4	148	148	185	191	109	109	161	161	192	168	132	132	247	247	92	100	144	144	137	140	82	82	200	200
M8.5	148	148	191	191	109	118	161	161	168	168	132	132	247	247	84	100	144	144	140	140	82	82	200	200
M8.6	148	148	185	185	109	109	161	161	168	168	124	132	247	253	84	84	144	144	140	140	82	82	?	?
M8.7	?	?	185	185	109	109	161	161	168	168	132	132	247	256	84	84	144	153	140	140	82	82	200	200
M8.8	148	148	185	185	109	109	?	?	168	172	132	132	247	262	84	96	153	153	?	?	?	?	200	200
M8.9	152	152	185	185	109	118	161	161	192	168	?	?	247	247	100	100	144	144	140	140	82	82	200	200
M8.10	148	148	185	185	109	109	161	161	168	176	132	132	247	262	84	96	153	153	140	140	82	82	200	200
M9.1	140	148	185	191	109	109	161	161	192	168	132	136	247	256	100	100	144	144	137	140	82	82	200	200

M9.2	148	148	185	185	109	109	161	161	192	168	132	132	247	247	84	84	144	144	?	?	82	82	200	200
M9.3	148	148	?	?	109	109	161	161	168	168	132	132	247	247	84	84	144	144	140	140	82	82	200	200
M9.4	140	152	185	185	109	109	158	161	168	168	132	132	247	247	100	100	144	153	140	140	82	82	?	?
M9.5	148	148	185	191	109	118	158	161	192	192	?	?	247	247	84	100	144	153	140	140	82	82	200	200
M9.6	140	148	185	185	109	109	161	161	192	168	?	?	247	247	84	84	144	153	140	140	82	82	200	200
M9.7	144	148	185	191	109	109	161	161	168	168	132	132	247	247	100	100	144	153	140	140	82	82	200	200
M9.8	148	148	185	185	109	118	161	161	168	168	132	132	247	247	84	100	144	144	140	140	78	82	200	200
M9.9	148	148	185	185	109	109	161	161	168	168	132	132	247	247	84	100	153	153	140	140	82	82	200	200
M9.10	140	148	185	185	109	109	161	161	192	168	132	132	247	247	84	100	144	153	140	140	82	82	200	200
M10.1	148	148	185	191	109	109	161	161	168	168	132	132	247	262	84	100	144	153	140	140	82	82	200	204
M10.2	152	152	185	191	109	109	161	161	192	168	132	132	247	262	84	84	144	144	140	140	82	82	200	200
M10.3	144	152	185	188	109	109	161	161	?	?	?	?	247	247	84	96	144	153	140	140	82	82	200	200
M10.4	148	148	185	188	109	118	161	161	168	168	132	132	256	262	84	96	144	144	140	140	82	82	200	200
M10.5	144	148	?	?	109	109	161	161	188	168	132	132	247	256	84	84	144	144	122	140	82	82	200	200
M10.6	148	148	185	185	115	115	161	161	188	168	132	132	247	256	84	96	144	153	140	140	82	82	200	200
M10.7	140	148	185	185	109	109	161	161	188	168	124	132	247	247	84	96	144	153	122	140	82	82	200	200
M10.8	148	148	185	185	109	109	158	161	192	176	124	132	247	247	84	84	144	153	122	140	82	82	200	200
M10.9	148	148	185	185	118	118	161	161	168	168	124	132	247	256	?	?	144	153	140	140	82	82	200	200
M10.10	148	152	188	188	109	115	161	161	192	168	132	132	247	256	?	?	144	153	140	140	82	82	200	200

Fuente: (EESC – INIAP. 2013)

ANEXO 11. DISTANCIA GENÉTICA ENTRE MUESTRAS Y SUBMUESTRAS.

Distancia genética de la Muestra 1.

						M	1											М	1				
(DTU	M1.1	M1.10	M1.2	M1.3	M1.4	M1.5	M1.6	M1.7	M1.8	M1.9	(UTC	M1.1	M1.10	M1.2	M1.3	M1.4	M1.5	M1.6	M1.7	M1.8	M1.9
	M1.1	0											M6.1	0,35	0,34	0,23	0,34	0,45	0,29	0,30	0,31	0,25	0,42
	M1.10	0,13	0										M6.10	0,21	0,21	0,25	0,19	0,16	0,23	0,23	0,36	0,27	0,22
	M1.2	0,13	0,2	0									M6.2	0,29	0,31	0,21	0,17	0,39	0,28	0,19	0,35	0,25	0,44
	M1.3	0,14	0,2	0,11	0								M6.3	0,11	0,13	0,10	0,11	0,26	0,11	0,21	0,26	0,15	0,26
	M1.4	0,18	0,22	0,29	0,26	0						•••	M6.4	0,18	0,25	0,16	0,22	0,28	0,19	0,31	0,36	0,21	0,24
M1	M1.5	0,07	0,2	0,12	0,13	0,25	0					М6	M6.5	0,18	0,27	0,23	0,29	0,22	0,21	0,25	0,37	0,28	0,37
	M1.6	0,17	0,25	0,12	0,19	0,33	0,15	0					M6.6	0,19	0,31	0,11	0,17	0,26	0,18	0,15	0,30	0,16	0,41
	M1.7	0,16	0,23	0,17	0,26	0,37	0,18	0,16	0				M6.7	0,12	0,21	0,07	0,13	0,33	0,15	0,10	0,11	0,11	0,31
	M1.8	0,18	0,22	0,05	0,13	0,31	0,17	0,17	0,22	0			M6.8	0,12	0,26	0,12	0,22	0,25	0,15	0,22	0,26	0,16	0,34
	M1.9	0,22	0,15	0,31	0,24	0,25	0,3	0,38	0,3	0,23	0		M6.9	0,24	0,31	0,20	0,20	0,31	0,13	0,23	0,41	0,22	0,38
	M2.1	0,21	0,25	0,2	0,31	0,31	0,23	0,3	0,32	0,25	0,32		M7.1	0,29	0,35	0,22	0,29	0,32	0,19	0,38	0,36	0,19	0,35
	M2.10	0,18	0,15	0,12	0,17	0,29	0,19	0,22	0,31	0,17	0,35		M7.10	0,11	0,17	0,13	0,12	0,33	0,13	0,15	0,13	0,18	0,21
	M2.2	0,13	0,13	0,12	0,08	0,23	0,19	0,14	0,31	0,17	0,35		M7.2	0,11	0,17	0,13	0,12	0,33	0,15	0,13	0,13	0,16	0,35
	M2.3	0,13	0,23	0,12	0,08	0,23	0,14	0,14	0,24	0,17	0,33		M7.3	0,16	0,27	0,11	0,17	0,26	0,15	0,26	0,32	0,16	0,33
	M2.4	0,18	0,22	0,18	0,14	0,31	0,21	0,12	0,22	0,23	0,37		M7.4	0,16	0,22	0,07	0,13	0,26	0,15	0,15	0,26	0,12	0,31
M2	M2.5	0,23	0,25	0,18	0,25	0,31	0,22	0,17	0,17	0,23	0,43	M7	M7.5	0,47	0,45	0,41	0,35	0,41	0,39	0,31	0,35	0,36	0,49
	M2.6	0,17	0,31	0,22	0,33	0,33	0,24	0,19	0,24	0,26	0,39		M7.6	0,18	0,20	0,13	0,17	0,13	0,16	0,30	0,33	0,19	0,24
	M2.7	0,25	0,24	0,16	0,16	0,33	0,15	0,24	0,29	0,16	0,24		M7.7	0,18	0,18	0,24	0,26	0,09	0,25	0,33	0,32	0,25	0,19
	M2.8	0,18	0,27	0,11	0,13	0,20	0,16	0,14	0,31	0,10	0,32		M7.8	0,32	0,20	0,21	0,30	0,33	0,31	0,27	0,37	0,23	0,45
	M2.9	0,43	0,32	0,18	0,38	0,3	0,42	0,34	0,41	0,23	0,33		M7.9	0,42	0,46	0,40	0,54	0,57	0,42	0,45	0,53	0,35	0,55
	M3.1	0,43	0,32	0,12	0,38	0,3	0,42	0,34	0,41	0,31	0,32		M8.10	0,42	0,40	0,40	0,06	0,37	0,42	0,43	0,33	0,33	0,35
	M3.10	0,13	0,18	0,12	0,17	0,23	0,16	0,29	0,32	0,23	0,32		M8.10	0,14	0,23	0,22	0,26	0,26	0,13	0,13	0,41	0,10	0,47
	M3.2		0,18	0,18	0,24	0,26	0,18	0,29	0,32	0,25	0,27		M8.2	0,10		0,22	0,24		0,12	0,20	0,41	0,24	0,20
	M3.3	0,16	0,21	0,2	0,22	0,26	0,18	0,22	0,31	0,23	0,29		M8.3	0,10	0,16	0,21	0,24	0,12	0,12	0,22	0,21	0,24	0,20
	M3.4	0,17	0,10	0,18	0,32	0,13	0,12	-	0,14	0,28	0,23		M8.4	0,24	0,30	0,16	0,13	0,36	0,14		0,20	0,21	0,38
МЗ	M3.5	0,17	0,19	0,23	0,32	0,24	0,24	0,2	0,26	0,26	0,37	M8	M8.5	0,11	0,24	0,16	0,13	0,26	0,14	0,19	0,21	0,21	0,31
	M3.6	0,22	0,18	0,22	0,2		0,36	0,43	0,33	0,32	0,29		M8.6	0,19	0,29	-		0,20		0,24	0,38		0,38
	M3.7	0,31	0,23	0,31	0,34	0,16	0,30	0,39	0,43	0,32	0,29		M8.7	0,17	0,22	0,13	0,17	0,24	0,15	0,24	0,35	0,16	0,31
	M3.8	0,08	0,17	0,17	0,17	0,11	0,04	0,17	0,31	0,17	0,22		M8.8	0,31	0,42	0,26	0,32	0,30	0,29	0,32	0,40	0,33	0,52
	M3.9	0,08	0,22	0,17	0,17	0,09	0,16	0,17	0,31	0,17	0,22		M8.9	0,31	0,42	0,13	0,32	0,40	0,29	0,32	0,40	0,33	0,32
	M4.10	0,35	0,45	0,31	0,36	0,29	0,31	0,33	0,55	0,35	0,49		M9.1	0,17	0,29	0,13	0,19	0,33	0,17	0,17	0,25	0,10	0,32
	M4.10	0,33	0,43	0,31	0,30	0,16	0,31	0,34	0,33	0,33	0,49		M9.10	0,17	0,29	0,11	0,13	0,33	0,10	0,17	0,23	0,23	0,32
	M4.2	0,13	0,31	0,23	0,38	0,26	0,29	0,25	0,31	0,28	0,42		M9.2	0,05	0,17	0,08	0,16	0,19	0,08	0,20	0,17	0,13	0,27
	M4.3	0,20	0,31	0,23	0,38	0,33	0,18	0,23	0,19	0,18	0,42		M9.3	0,03	0,17	0,08	0,13	0,19	0,08	0,25	0,17	0,13	0,32
	M4.4	0,13	0,25	0,13	0,08	0,32	0,14	0,18	0,13	0,16	0,29		M9.4	0,12	0,37	0,15	0,17	0,33	0,20	0,18	0,25	0,18	0,33
M4	M4.5	0,13	0,41	0,31	0,29	0,39	0,29	0,10	0,36	0,35	0,51	М9	M9.5	0,11	0,23	0,15	0,17	0,20	0,11	0,10	0,22	0,30	0,35
	M4.6	0,26	0,3	0,15	0,29	0,32	0,21	0,25	0,26	0,2	0,4		M9.6	0,11	0,23	0,15	0,22	0,19	0,11	0,19	0,31	0,21	0,30
	M4.7	0,26	0,29	0,22	0,22	0,34	0,25	0,26	0,39	0,27	0,44		M9.7	0,18	0,30	0,14	0,11	0,27	0,17	0,16	0,28	0,19	0,39
	M4.8	0,12	0,25	0,16	0,22	0,25	0,1	0,17	0,31	0,21	0,35		M9.8	0,13	0,20	0,10	0,05	0,29	0,12	0,22	0,29	0,14	0,31
	M4.9	0,22	0,34	0,21	0,26	0,24	0,22	0,22	0,41	0,25	0,4		M9.9	0,17	0,29	0,13	0,14	0,24	0,16	0,17	0,32	0,18	0,39
	M5.1	0,22	0,25	0,13	0,2	0,35	0,21	0,25	0,32	0,17	0,33		M10.1	0,18	0,27	0,15	0,13	0,22	0,17	0,21	0,34	0,15	0,32
	M5.10	0,15	0,18	0,2	0,2	0,26	0,17	0,3	0,34	0,24	0,29		M10.10	0,22	0,28	0,22	0,28	0,31	0,25	0,22	0,31	0,22	0,32
	M5.2	0,42	0,41	0,27	0,42	0,54	0,27	0,24	0,26	0,33	0,48		M10.2	0,18	0,31	0,15	0,29	0,26	0,21	0,25	0,29	0,20	0,39
	M5.3	0,05	0,18	0,1	0,11	0,22	0,02	0,17	0,16	0,15	0,27	M10	M10.3	0,21	0,26	0,19	0,32	0,28	0,24	0,24	0,34	0,25	0,39
	M5.4	0,05	0,06	0,05	0,12	0,22	0,11	0,16	0,15	0,11	0,18		M10.4	0,26	0,33	0,22	0,26	0,36	0,25	0,34	0,43	0,26	0,43
M5	M5.5	0,17	0,22	0,08	0,09	0,34	0,13	0,18	0,13	0,13	0,38		M10.5	0,20	0,35	0,13	0,25	0,29	0,21	0,28	0,33	0,18	0,32
	M5.6	0,16	0,18	0,11	0,23	0,27	0,16	0,15	0,15	0,16	0,30		M10.6	0,26	0,39	0,15	0,29	0,32	0,26	0,32	0,43	0,10	0,35
	M5.7	0,10	0,10	0,11	0,26	0,21	0,18	0,15	0,13	0,10	0,32		M10.7	0,20	0,39	0,25	0,25	0,32	0,20	0,32	0,43	0,21	0,33
	M5.8	0,11	0,13	0,19	0,26	0,21	0,18	0,15	0,21	0,24	0,32		M10.8	0,22	0,24	0,16	0,25	0,29	0,22	0,23	0,32	0,21	0,32
	M5.9	0,03	0,13	0,1	0,11	0,26	0,07	0,18	0,21	0,13	0,27		M10.9	0,13	0,13	0,21	0,31	0,22	0,16	0,24	0,22	0,25	0,50
	เขเป.ช	0,00	0,14	0,00	υ, ιυ	0,20	0,11	0,13	0,11	0,11	0,23		IVI I U.S	0,20	0,33	0,22	0,22	0,30	0,24	0,20	0,41	0,20	0,30

Distancia genética de la Muestra 2.

(M:	2					(DTU						M2				
<u> </u>	DTU	M2.1	M2.10	M2.2	M2.3	M2.4	M2.5	M2.6	M2.7	M2.8	M2.9			M2.1	M2.10	M2.2	M2.3	M2.4	M2.5	M2.6	M2.7	M2.8	M2.9
]	M2.1	0,00											M7.1	0,35	0,25	0,32	0,42	0,39	0,49	0,14	0,25	0,32	0,35
	M2.10	0,26	0,00										M7.10	0,19	0,24	0,13	0,17	0,24	0,26	0,21	0,13	0,28	0,33
	M2.2	0,31	0,22	0,00									M7.2	0,17	0,13	0,18	0,28	0,33	0,30	0,24	0,15	0,18	0,34
	M2.3	0,36	0,23	0,11	0,00								M7.3	0,15	0,20	0,10	0,17	0,21	0,24	0,24	0,09	0,21	0,24
	M2.4	0,39	0,31	0,12	0,21	0,00							M7.4	0,59	0,51	0,34	0,36	0,41	0,55	0,34	0,31	0,48	0,49
M2	M2.5	0,22	0,28	0,30	0,35	0,31	0,00					М7	M7.5	0,16	0,16	0,16	0,31	0,28	0,32	0,22	0,17	0,22	0,23
	M2.6	0,36	0,20	0,24	0,25	0,29	0,40	0,00					M7.6	0,20	0,29	0,28	0,39	0,31	0,26	0,32	0,31	0,26	0,24
	M2.7	0,27	0,20	0,10	0,17	0,24	0,30	0,15	0,00				M7.7	0,37	0,18	0,26	0,16	0,29	0,49	0,27	0,22	0,36	0,31
	M2.8	0,17	0,18	0,28	0,35	0,36	0,10	0,30	0,20	0,00			M7.8	0,45	0,36	0,13	0,26	0,21	0,38	0,39	0,26	0,41	0,57
	M2.9	0,26	0,31	0,41	0,41	0,45	0,45	0,36	0,36	0,36	0,00		M7.9	0,51	0,40	0,51	0,62	0,41	0,37	0,41	0,45	0,37	0,68
	M3.1	0,15	0,15	0,18	0,29	0,33	0,32	0,20	0,10	0,16	0,29		M8.10	0,22	0,22	0,03	0,11	0,20	0,33	0,24	0,08	0,29	0,33
	M3.10	0,07	0,20	0,23	0,30	0,37	0,30	0,30	0,21	0,22	0,26		M8.10	0,28	0,20	0,17	0,20	0,31	0,33	0,34	0,16	0,24	0,39
	M3.2	0,14	0,27	0,17	0,21	0,31	0,30	0,32	0,17	0,28	0,28		M8.2	0,22	0,25	0,18	0,22	0,21	0,21	0,27	0,18	0,30	0,32
	M3.3	0,30	0,23	0,18	0,15	0,18	0,26	0,32	0,17	0,28	0,33		M8.3	0,26	0,39	0,16	0,32	0,31	0,24	0,34	0,10	0,32	0,46
	M3.4	0,28	0,24	0,10			0,33	-	0,22	0,35	0,35		M8.4	0,22	0,24	0,14	0,20	0,27	0,28			0,32	0,43
М3	M3.5	0,28	0,24	0,20	0,13	0,24	0,33	0,36	0,22	0,33	0,33	M8	M8.5	0,23	0,24	0,14	0,20	0,27	0,26	0,28	0,19	0,28	0,43
	M3.6	0,33	0,17	0,35	0,30	0,43	0,46	0,20	0,33	0,22	0,30		M8.6	0,23	0,23	0,18	0,29	0,34	0,36	0,27	0,15	0,29	0,37
	M3.7	0,21	0,16	0,20	0,26	0,29	0,37	0,30	0,16	0,26	0,31		M8.7	0,22	0,15	0,14	0,22	0,29	0,24	0,24	0,08	0,17	0,32
	M3.8	0,21	0,10	0,11	0,17	0,27	0,37	0,21	0,08	0,27	0,31		M8.8	0,34	0,15	0,18	0,20	0,27	0,44	0,36	0,22	0,32	0,32
	M3.9	0,27	0,22	0,18	0,31	0,28	0,28	0,30	0,24	0,24	0,42		M8.9	0,29	0,33	0,19	0,26	0,22	0,17	0,30	0,20	0,24	0,50
	M4.10	0.40	0,31	0,10	0,31	0,42	0,42	0,31	0,17	0,28	0,37		M9.1	0,27	0,31	0,19	0,25	0,31	0,29	0,24	0,15	0,26	0,49
	M4.10	0,12	0,26	0,30	0,35	0,40	0,30	0,34	0,29	0,26	0,26		M9.10	0,22	0,19	0,09	0,12	0,22	0,22	0,20	0,05	0,20	0,36
	M4.2	0,32	0,24	0,28	0,18	0,34	0,41	0,35	0,25	0,32	0,31		M9.2	0,14	0,10	0,16	0,21	0,29	0,24	0,21	0,13	0,14	0,29
	M4.3	0,33	0,20	0,07	0,13	0,19	0,33	0,26	0,13	0,33	0,37		M9.3	0,11	0,11	0,14	0,26	0,31	0,30	0,21	0,11	0,17	0,26
	M4.4	0,30	0,22	0,09	0,20	0,22	0,27	0,24	0,14	0,27	0,45		M9.4	0,36	0,34	0,14	0,22	0,19	0,29	0,21	0,13	0,33	0,37
M4	M4.5	0,38	0,39	0,20	0,18	0,33	0,28	0,42	0,25	0,30	0,53	М9	M9.5	0,30	0,30	0,20	0,21	0,22	0,29	0,30	0,20	0,28	0,50
	M4.6	0,28	0,12	0,29	0,31	0,31	0,36	0,22	0,25	0,25	0,26		M9.6	0,22	0,18	0,16	0,20	0,28	0,26	0,21	0,05	0,16	0,37
	M4.7	0,27	0,28	0,18	0,25	0,28	0,41	0,34	0,19	0,32	0,36		M9.7	0,31	0,25	0,07	0,15	0,22	0,32	0,26	0,11	0,31	0,40
	M4.8	0,22	0,14	0,22	0,29	0,35	0,20	0,24	0,14	0,08	0,36		M9.8	0,25	0,12	0,12	0,18	0,28	0,30	0,16	0,12	0,23	0,40
	M4.9	0,30	0,17	0,17	0,20	0,31	0,32	0,33	0,15	0,22	0,32		M9.9	0,29	0,21	0,07	0,10	0,23	0,33	0,25	0,07	0,26	0,35
	M5.1	0,12	0,25	0,21	0,31	0,31	0,30	0,29	0,20	0,26	0,26		M10.1	0,23	0,21	0,12	0,20	0,28	0,28	0,26	0,12	0,21	0,34
	M5.10	0,16	0,16	0,25	0,26	0,39	0,29	0,26	0,22	0,21	0,35		M10.10	0,13	0,31	0,22	0,25	0,31	0,29	0,35	0,24	0,26	0,28
	M5.2	0,36	0,37	0,37	0,35	0,31	0,49	0,31	0,30	0,34	0,34		M10.2	0,13	0,24	0,28	0,35	0,34	0,11	0,33	0,23	0,11	0,36
	M5.3	0,21	0,16	0,11	0,18	0,21	0,22	0,17	0,12	0,18	0,40		M10.3	0,20	0,28	0,23	0,32	0,24	0,24	0,36	0,18	0,24	0,34
	M5.4	0,15	0,11	0,11	0,17	0,16	0,24	0,19	0,13	0,22	0,27		M10.4	0,19	0,23	0,26	0,37	0,42	0,30	0,34	0,25	0,19	0,37
M5	M5.5	0,24	0,15	0,16	0,22	0,25	0,24	0,18	0,13	0,17	0,40	M10	M10.5	0,18	0,14	0,24	0,31	0,33	0,33	0,26	0,21	0,24	0,28
	M5.6	0,20	0,21	0,16	0,19	0,11	0,22	0,23	0,18	0,25	0,26		M10.6	0,35	0,26	0,23	0,31	0,37	0,40	0,29	0,22	0,31	0,45
	M5.7	0,31	0,24	0,16	0,07	0,21	0,27	0,31	0,18	0,29	0,39		M10.7	0,31	0,19	0,20	0,22	0,23	0,36	0,23	0,13	0,28	0,35
	M5.8	0,21	0,16	0,11	0,18	0,21	0,22	0,21	0,11	0,17	0,40		M10.8	0,29	0,16	0,24	0,22	0,19	0,31	0,27	0,22	0,26	0,39
	M5.9	0,08	0,18	0,15	0,20	0,22	0,17	0,23	0,15	0,17	0,22		M10.9	0,36	0,27	0,17	0,25	0,29	0,42	0,32	0,19	0,31	0,46
	M6.1	0,35	0,30	0,29	0,28	0,31	0,49	0,28	0,29	0,42	0,33												
	M6.10	0,27	0,27	0,22	0,25	0,36	0,31	0,29	0,23	0,27	0,21												
	M6.2	0,31	0,31	0,15	0,12	0,25	0,35	0,32	0,19	0,35	0,36												
	M6.3	0,16	0,12	0,11	0,22	0,25	0,27	0,22	0,12	0,22	0,31												
	M6.4	0,17	0,18	0,22	0,33	0,35	0,30	0,24	0,15	0,22	0,32												
М6	M6.5	0,20	0,24	0,20	0,18	0,34	0,32	0,35	0,17	0,24	0,31												
	M6.6	0,26	0,23	0,10	0,12	0,21	0,27	0,27	0,09	0,24	0,32												
	M6.7	0,26	0,22	0,14	0,16	0,18	0,21	0,23	0,19	0,24	0,39												
	M6.8	0,17	0,18	0,22	0,29	0,31	0,18	0,28	0,19	0,13	0,36												
	M6.9	0,31	0,27	0,22	0,34	0,37	0,34	0,21	0,13	0,18	0,42												

Distancia genética de la Muestra 3.

		l					•												2				
(DTU	N/0 :	140 :-	1/0 -	140 -	M:		10.	140 =	140 -	10.	(OTU	140 :	M2 :-	NO -	M0 -	M		Mo -	140 =	10-	M2 -
		M3.1	M3.10	M3.2	M3.3	M3.4	M3.5	M3.6	M3.7	M3.8	M3.9		l : :	M3.1	M3.10	M3.2	M3.3	M3.4	M3.5	M3.6	M3.7	M3.8	M3.9
	M3.1	0,00											M8.10	0,14	0,14	0,08	0,20	0,20	0,46	0,35	0,17	0,08	0,25
	M3.10	0,07	0,00	0.77									M8.10	0,21	0,26	0,24	0,25	0,17	0,38	0,30	0,15	0,23	0,23
	M3.2	0,15	0,07	0,00									M8.2	0,24	0,15	0,09	0,07	0,10	0,15	0,19	0,19	0,08	0,20
	M3.3	0,25	0,23	0,21	0,00	0.00							M8.3	0,32	0,27	0,24	0,34	0,31	0,55	0,45	0,39	0,23	0,35
МЗ	M3.4	0,29	0,22	0,10	0,13	0,00	0.00					М8	M8.4	0,20	0,19	0,20	0,21	0,25	0,38	0,36	0,26	0,16	0,21
	M3.5	0,26	0,33	0,43	0,15	0,46	0,00	0.00					M8.5	0,16	0,16	0,18	0,29	0,26	0,43	0,29	0,23	0,08	0,25
	M3.6	0,33	0,35	0,32	0,23	0,22	0,15	0,00	0,00				M8.6	0,10	0,17	0,25	0,25	0,35	0,06	0,28	0,13	0,17	0,19
	M3.7	0,11	0,14	0,16	0,25	0,21	0,31	0,29	- 1	0.00			M8.7	0,11	0,17	0,17	0,22	0,22	0,22	0,29	0,13	0,15	0,21
	M3.8 M3.9	0,13	0,08	0,04	0,08	0,20	0,29	0,27	0,16	0,00	0,00		M8.8 M8.9	0,27	0,34	0,32	0,26	0,26	0,38	0,42	0,22	0,32	0,26
	M4.10	0,19	0,16	0,33	0,17	0,29	0,07	0,25	0,25	0,10	0,40		M9.1	0,20	0,30	0,25	0,26	0,34	0,40	0,44	0,33	0,23	0,30
	M4.10	0,16	0,05	0,12	0,31	0,34	0,20	0,30	0,23	0,13	0,40		M9.10	0,22	0,20	0,23	0,12	0,14	0,43	0,43	0,33	0,04	0,30
	M4.2	0,16	0,03	0,12	0,18	0,22	0,22	0,29	0,21	0,13	0,16		M9.2	0,13	0,16	0,13	0,12	0,14	0,26	0,31	0,16	0,04	0,10
	M4.3	0,28	0,27	0,26	0,20	0,13	0,38	0,29	0,20	0,27	0,34		M9.3	0,08	0,09	0,17	0,13	0,21	0,17	0,29	0,13	0,10	0,09
	M4.4	0,18	0,23	0,10	0,20	0,11	0,33	0,20	0,25	0,10	0,23		M9.4	0,03	0,03	0,11	0,24	0,32	0,26	0,29	0,11	0,13	0,14
M4	M4.5	0,37	0,38	0,17	0,28	0,22	0,55	0,41	0,35	0,27	0,38	М9	M9.5	0,24	0,22	0,20	0,11	0,18	0,43	0,29	0,24	0,04	0,19
	M4.6	0,20	0,24	0,31	0,23	0,31	0,22	0,31	0,27	0,31	0,32		M9.6	0,11	0,14	0,16	0,16	0,19	0,43	0,23	0,13	0,04	0,15
	M4.7	0,17	0,21	0,16	0,31	0,26	0,48	0,36	0,16	0,23	0,25		M9.7	0,20	0,24	0,13	0,23	0,17	0,43	0,30	0,22	0,13	0,29
	M4.8	0,10	0,16	0,18	0,22	0,24	0,22	0,31	0,21	0,17	0,17		M9.8	0,12	0,18	0,21	0,23	0,29	0,26	0,31	0,19	0,13	0,18
	M4.9	0,18	0,23	0,22	0,23	0,20	0,33	0,27	0,16	0,20	0,26		M9.9	0,16	0,22	0,16	0,18	0,14	0,38	0,31	0,15	0,08	0,25
	M5.1	0,12	0,10	0,11	0,31	0,28	0,43	0,36	0,20	0,13	0,28		M10.1	0,16	0,21	0,18	0,22	0,22	0,31	0,29	0,19	0,08	0,24
	M5.10	0,12	0,10	0,17	0,24	0,30	0,26	0,33	0,18	0,17	0,17		M10.10	0,19	0,11	0,10	0,28	0,22	0,52	0,42	0,21	0,10	0,26
	M5.2	0,25	0,37	0,39	0,37	0,40	0,57	0,49	0,37	0,42	0,52		M10.2	0,20	0,19	0,24	0,28	0,31	0,22	0,35	0,26	0,27	0,24
	M5.3	0,12	0,13	0,16	0,10	0,22	0,22	0,34	0,19	0,04	0,13		M10.3	0,16	0,19	0,13	0,27	0,18	0,38	0,29	0,16	0,25	0,20
	M5.4	0,08	0,08	0,11	0,11	0,13	0,26	0,24	0,13	0,10	0,12		M10.4	0,16	0,18	0,25	0,35	0,40	0,31	0,39	0,23	0,30	0,23
M5	M5.5	0,13	0,22	0,24	0,28	0,34	0,26	0,41	0,21	0,21	0,26	M10	M10.5	0,13	0,13	0,15	0,25	0,24	0,20	0,22	0,21	0,28	0,24
	M5.6	0,19	0,19	0,15	0,11	0,14	0,31	0,29	0,19	0,15	0,25		M10.6	0,23	0,28	0,30	0,31	0,33	0,43	0,33	0,25	0,18	0,16
	M5.7	0,26	0,24	0,18	0,07	0,05	0,38	0,29	0,23	0,13	0,21		M10.7	0,19	0,25	0,26	0,22	0,24	0,31	0,26	0,16	0,23	0,22
	M5.8	0,11	0,13	0,16	0,15	0,22	0,26	0,34	0,14	0,04	0,13		M10.8	0,22	0,22	0,25	0,10	0,13	0,26	0,25	0,14	0,16	0,20
	M5.9	0,11	0,08	0,10	0,16	0,20	0,26	0,35	0,18	0,10	0,18		M10.9	0,22	0,29	0,29	0,31	0,35	0,52	0,34	0,20	0,10	0,21
	M6.1	0,29	0,31	0,29	0,26	0,31	0,48	0,35	0,31	0,23	0,37												
	M6.10	0,23	0,21	0,18	0,17	0,27	0,20	0,22	0,25	0,04	0,19												
	M6.2	0,26	0,29	0,19	0,30	0,24	0,55	0,46	0,25	0,25	0,42												
	M6.3	0,07	0,09	0,11	0,21	0,19	0,26	0,29	0,10	0,11	0,18												
M6	M6.4	0,10	0,11	0,18	0,28	0,31	0,22	0,31	0,16	0,24	0,22												
	M6.5	0,16	0,13	0,12	0,20	0,15	0,38	0,33	0,14	0,13	0,24												
	M6.6	0,18	0,24	0,17	0,21	0,16	0,38	0,33	0,17	0,13	0,28												
	M6.7	0,23	0,24	0,22	0,17	0,24	0,38	0,34	0,30	0,17	0,21												
	M6.8	0,15	0,16	0,22	0,22	0,29	0,22	0,31	0,21	0,17	0,14												
	M6.9	0,13	0,29	0,31	0,31	0,42	0,32	0,34	0,28	0,13	0,28												
	M7.1	0,19	0,29	0,38	0,26	0,46	0,26	0,30	0,28	0,15	0,20												
	M7.10	0,17	0,14	0,13	0,19	0,23	0,38	0,42	0,24	0,15	0,23												
	M7.2	0,10	0,16	0,23	0,25	0,31	0,17	0,33	0,17	0,21	0,19												
	M7.3	0,10	0,12	0,09	0,21	0,19	0,31	0,32	0,12	0,08	0,24												
М7	M7.4	0,43	0,57	0,47	0,40	0,42	0,67	0,36	0,43	0,20	0,43												
	M7.5	0,07	0,09	0,16	0,21	0,29	0,10	0,25	0,14	0,16	0,11												
	M7.6	0,22	0,17	0,24	0,20	0,33	0,05	0,24	0,26	0,20	0,09												
	M7.7	0,26	0,32	0,31	0,25	0,22	0,38	0,34	0,20	0,31	0,39												
	M7.8	0,35	0,38	0,32	0,29	0,31	0,55	0,37	0,35	0,23	0,19												
	M7.9	0,43	0,51	0,51	0,52	0,57	0,55	0,55	0,38	0,42	0,33												

						M4												M4					
(DTU	M4.10	M4.10	M4.2	M4.3	M4.4	M4.5	M4.6	M4.7	M4.8	M4.9	'	UTC	M4.10	M4.10	M4.2	M4.3	M4.4	M4.5	M4.6	M4.7	M4.8	M4.
	M4.10	0,00											M9.1	0,31	0,31	0,30	0,20	0,18	0,26	0,31	0,31	0,22	0,3
	M4.10	0,39	0,00										M9.10	0,20	0,21	0,21	0,12	0,13	0,20	0,25	0,20	0,14	0,1
	M4.2	0,22	0,32	0,00									M9.2	0,29	0,14	0,14	0,19	0,16	0,33	0,11	0,22	0,08	0,1
	M4.3	0,34	0,35	0,24	0,00								M9.3	0,26	0,12	0,24	0,19	0,14	0,35	0,14	0,17	0,11	0,1
	M4.4	0,37	0,30	0,36	0,07	0,00							M9.4	0,31	0,42	0,41	0,16	0,17	0,29	0,35	0,26	0,31	0,2
M4	M4.5	0,24	0,43	0,28	0,19	0,23	0,00					М9	M9.5	0,37	0,22	0,25	0,25	0,25	0,25	0,29	0,31	0,21	0,2
	M4.6	0,38	0,32	0,17	0,25	0,29	0,46	0,00					M9.6	0,17	0,20	0,20	0,20	0,21	0,28	0,25	0,19	0,10	0,1
	M4.7	0,31	0,29	0,33	0,17	0,18	0,29	0,33	0,00				M9.7	0,31	0,32	0,26	0,05	0,07	0,18	0,26	0,15	0,21	0,2
	M4.8	0,28	0,21	0,28	0,22	0,17	0,30	0,21	0,22	0,00			M9.8	0,31	0,26	0,31	0,16	0,12	0,26	0,23	0,23	0,17	0,2
	M4.9	0,17	0,30	0,19	0,22	0,22	0,26	0,24	0,23	0,17	0,00		M9.9	0,17	0,30	0,18	0,11	0,16	0,18	0,26	0,18	0,21	0,0
	M5.1	0,40	0,18	0,37	0,24	0,20	0,34	0,29	0,22	0,25	0,29		M10.1	0,24	0,28	0,22	0,16	0,17	0,21	0,22	0,22	0,21	0,16
	M5.10	0,28	0,15	0,26	0,30	0,25	0,28	0,26	0,25	0,16	0,24		M10.10	0,30	0,16	0,26	0,26	0,26	0,25	0,36	0,18	0,26	0,26
	M5.2	0,33	0,45	0,29	0,32	0,34	0,44	0,29	0,34	0,34	0,34		M10.2	0,35	0,24	0,29	0,31	0,26	0,34	0,26	0,31	0,17	0,2
	M5.3	0,31	0,18	0,26	0,15	0,11	0,26	0,18	0,23	0,12	0,20		M10.3	0,32	0,22	0,34	0,20	0,21	0,34	0,37	0,08	0,17	0,22
	M5.4	0,35	0,11	0,22	0,12	0,11	0,31	0,15	0,20	0,16	0,20		M10.4	0,25	0,26	0,32	0,31	0,26	0,24	0,28	0,21	0,23	0,26
М5	M5.5	0,24	0,31	0,31	0,20	0,15	0,29	0,27	0,24	0,17	0,24	M10	M10.5	0,27	0,20	0,19	0,21	0,14	0,33	0,15	0,22	0,14	0,19
	M5.6	0,26	0,21	0,18	0,17	0,21	0,25	0,20	0,24	0,25	0,21		M10.6	0,25	0,35	0,28	0,28	0,24	0,30	0,33	0,23	0,26	0,17
	M5.7	0,29	0,24	0,12	0,17	0,24	0,21	0,29	0,29	0,23	0,16		M10.7	0,22	0,31	0,21	0,21	0,20	0,35	0,22	0,14	0,22	0,15
	M5.8	0,29	0,18	0,26	0,15	0,11	0,26	0,23	0,18	0,11	0,20		M10.8	0,31	0,23	0,19	0,22	0,29	0,35	0,21	0,26	0,21	0,2
	M5.9	0,37	0,13	0,22	0,17	0,14	0,31	0,18	0,22	0,15	0,24		M10.9	0,22	0,38	0,29	0,22	0,22	0,18	0,33	0,17	0,26	0,22
	M6.1	0,37	0,40	0,22	0,25	0,34	0,30	0,22	0,35	0,38	0,33		l					-					<u> </u>
	M6.10	0,28	0,17	0,32	0,27	0,27	0,26	0,33	0,29	0,23	0,22												
	M6.2	0,24	0,37	0,28	0,18	0,22	0,18	0,41	0,22	0,35	0,22												
	M6.3	0,31	0,16	0,30	0,11	0,11	0,31	0,22	0,18	0,16	0,20												
	M6.4	0,20	0,18	0,27	0,26	0,17	0,34	0,24	0,22	0,17	0,17												
М6	M6.5	0,13	0,18	0,13	0,24	0,28	0,20	0,30	0,21	0,20	0,11												
	M6.6	0,19	0,32	0,21	0,13	0,17	0,20	0,29	0,20	0,22	0,10												
	M6.7	0,42	0,29	0,29	0,14	0,13	0,23	0,25	0,27	0,22	0,31												
	M6.8	0,24	0,21	0,24	0,26	0,22	0,25	0,25	0,27	0,13	0,22												
	M6.9	0,29	0,35	0,42	0,28	0,22	0,31	0,33	0,31	0,18	0,31												
	M7.1	0,36	0,33	0,35	0,35	0,32	0,47	0,19	0,35	0,25	0,32												
	M7.10	0,39	0,20	0,28	0,14	0,12	0,28	0,24	0,22	0,22	0,31												
	M7.2	0,20	0,24	0,22	0,20	0,18	0,31	0,17	0,23	0,14	0,17												
	M7.3	0,24	0,21	0,25	0,13	0,14	0,25	0,25	0,15	0,19	0,15												
	M7.4	0,37	0,55	0,53	0,34	0,42	0,38	0,62	0,45	0,47	0,42												
М7	M7.5	0,26	0,11	0,30	0,24	0,20	0,39	0,22	0,21	0,16	0,20												
	M7.6	0,37	0,10	0,38	0,37	0,32	0,47	0,36	0,34	0,24	0,32												
	M7.7	0,26	0,41	0,12	0,22	0,35	0,37	0,21	0,26	0,31	0,18												
	M7.8	0,38	0,41	0,38	0,24	0,24	0,20	0,45	0,35	0,36	0,32												
	M7.9	0,57	0,54	0,68	0,51	0,42	0,61	0,51	0,33	0,31	0,48												
	M8.10	0,29	0,24	0,26	0,06	0,08	0,20	0,26	0,14	0,22	0,17												
	M8.10	0,20	0,32	0,22	0,17	0,26	0,22	0,31	0,17	0,24	0,11												
	M8.2	0,36	0,13	0,30	0,14	0,21	0,30	0,32	0,29	0,22	0,24												
	M8.3	0,53	0,32	0,41	0,28	0,23	0,38	0,37	0,35	0,32	0,42												
	M8.4	0,41	0,24	0,27	0,15	0,14	0,29	0,24	0,25	0,21	0,28												
M8	H	-,	-,	-,	-,.0	-,	-,	-,	-,	-,	-,	ł											

0,26

0,29

0,23

0,13

0,32

0,24 0,37

0,26

0,14

0,10

0,14

0,21

0,17

0,26

0,41

Fuente: (GUACHO, E. 2013)

0,29

0,18

0,44

0,22

0,26

0,21

0,18 0,32

0,17

0,22 0,22

0,29

0,16 0,27

M8.5

M8.6

M8.7

M8.8

M8.9

0,38

0,09

0,27

0,44

0,24

0,43

0,35

M5.8 M5.9 0,18

0,15

0,22 0,12

0,21

0,22 0,22

0,24 0,29

0,16 0,22

0,14 0,21

0,17

0,13

0,14

0,16

0,28

Distancia genética de la Muestra 5.

OTU

M10.1

M10.10

M10.2

M10.3

M10.4

M10.5

M10.6

M10.8

M10.9

M5.1

0,21

0,13

0,19

0,17

0,18

0,31

0,29

0,34

0,22

M5.10

0,23

0,15

0,25

0,22

0,26

0,24

0,16

M5.2

0,42

0,34

0,26

0,37

0,25

0,39

0,29

0,34

0,42

M5.3

0,15

0,22

0,24

0,22

0,24

0,21

0,14

0,22

M5.4 M5.5

0,22

0,18

0,22

0,20

0,17

0,24

0,22

0,28

0,19

0,15 0,18

0,18

0,21

0,19

0,24

0,15

0,13

0,25

M5.6 M5.7

0,25

0,24

0,12

0,20 0,21

0,12

0,19

0,22

0,14

0,24

0,20

0,13

0,25 0,29

						M	5					Γ
	OTU	M5.1	M5.10	M5.2	M5.3	M5.4	M5.5	M5.6	M5.7	M5.8	M5.9	
	M5.1	0,00										
	M5.10	0,15	0,00									1
	M5.2	0,35	0,37	0,00								1
	M5.3	0,18	0,15	0,34	0,00							1
	M5.4	0,11	0,13	0,26	0,08	0,00						1.
M5	M5.5	0,17	0,13	0,24	0,13	0,15	0,00					1
	M5.6	0,16	0,19	0,17	0,13	0,11	0,15	0,00				1
	M5.7	0,32	0,25	0,37	0,16	0,12	0,29	0,13	0,00			1
	M5.8	0,18	0,15	0,37	0,05	0,08	0,11	0,19	0,16	0,00		1
	M5.9	0,08	0,13	0,23	0,08	0,03	0,12	0,09	0,17	0,08	0,00	١
	M6.1	0,23	0,23	0,29	0,26	0,20	0,31	0,14	0,29	0,31	0,22	T
	M6.10	0,21	0,20	0,49	0,21	0,20	0,30	0,24	0,23	0,21	0,20	1
	M6.2	0,21	0,24	0,29	0,25	0,22	0,14	0,13	0,23	0,25	0,20	1
	M6.3	0,10	0,14	0,34	0,09	0,03	0,13	0,13	0,22	0,09	0,07	1
	M6.4	0,16	0,11	0,28	0,16	0,11	0,15	0,15	0,29	0,16	0,14	1
М6	M6.5	0,23	0,13	0,31	0,18	0,17	0,22	0,13	0,12	0,18	0,17	١
	M6.6	0,19	0,25	0,32	0,16	0,17	0,14	0,13	0,13	0,16	0,14	١
	M6.7	0,16	0,21	0,32	0,12	0,11	0,16	0,16	0,18	0,12	0,08	١
	M6.8	0,16	0,07	0,34	0,12	0,16	0,11	0,16	0,23	0,12	0,11	١
	M6.9	0,24	0,24	0,33	0,20	0,22	0,14	0,33	0,35	0,17	0,25	١
	M7.1	0,27	0,23	0,31	0,19	0,24	0,28	0,31	0,39	0,22	0,28	ł
	M7.10	0,15	0,20	0,29	0,11	0,06	0,20	0,17	0,20	0,11	0,07	١
	M7.2	0,21	0,12	0,32	0,12	0,13	0,11	0,18	0,26	0,12	0,13	
	M7.3	0,07	0,17	0,29	0,12	0,08	0,11	0,08	0,18	0,12	0,05	
	M7.4	0,42	0,51	0,44	0,45	0,47	0,38	0,43	0,41	0,42	0,46	ł
M7	M7.5	0,15	0,14	0,37	0,14	0,08	0,19	0,19	0,26	0,14	0,13	ł
	M7.6	0,24	0,22	0,46	0,22	0,17	0,29	0,22	0,29	0,22	0,16	
	M7.7	0,37	0,29	0,31	0,29	0,22	0,26	0,24	0,18	0,24	0,25	ł
	M7.8	0,29	0,26	0,49	0,26	0,22	0,29	0,22	0,26	0,26	0,31	ł
	M7.9	0,48	0,45	0,61	0,42	0,49	0,31	0,49	0,57	0,34	0,45	ł
	M8.10	0,11	0,22	0,35	0,11	0,09	0,15	0,15	0,17	0,11	0,12	ł
	M8.10	0,31	0,26	0,39	0,22	0,22	0,26	0,22	0,17	0,22	0,26	ł
	M8.2	0,21	0,25	0,47	0,09	0,11	0,27	0,07	0,13	0,15	0,14	ł
	M8.3	0,20	0,34	0,47	0,24	0,26	0,25	0,28	0,35	0,24	0,17	ł
	M8.4	0,22	0,22	0,39	0,11	0,14	0,23	0,24	0,22	0,11	0,12	ł
M8	M8.5	0,22	0,18	0,39	0,11	0,14	0,21	0,25	0,30	0,11	0,12	
	M8.6	0,22	0,18	0,43	0,13	0,15	0,14	0,26	0,29	0,08	0,17	
	M8.7	0,22	0,13	0,32	0,13	0,15	0,09	0,12	0,29	0,08	0,15	
	M8.8	0,20	0,13	0,32	0,13	0,13	0,32	0,12	0,20	0,13	0,13	4
	M8.9	0,17	0,26	0,33	0,17	0,22	0,16	0,23	0,29	0,14	0,32	ł
	M9.1		0,25	0,33	0,17	0,20	0,18	0,24	0,27	0,14	0,12	ł
	M9.10	0,27	0,23	0,31	0,17	0,20	0,15	0,24	0,10	0,16	0,17	ł
	M9.2	0,20	0,17	0,39	0,07	0,11	0,15	0,18	0,10	0,07	0,10	ł
	M9.3	0,20	0,11	0,35	0,03	0,06	0,13	0,18	0,14	0,03	0,08	ł
	M9.4	0,08	0,11	0,38	0,08	0,06	0,12	0,18	0,24	0,08	0,09	ł
М9	M9.5			0,38						0,22		ł
	M9.6	0,26	0,21	0,38	0,11	0,17	0,28	0,17	0,13	0,13	0,20	ł
	M9.7	0,24	0,16	0,32	0,11	0,15	0,18	0,20	0,13	0,08	0,14	ł
	M9.8	0,20	0,27	0,39	0,15	0,15	0,18	0,20	0,21	0,15	0,17	ł
	M9.9					0,11						1
	IVIÐ.Ð	0,22	0,23	0,35	0,13	0,14	0,17	0,16	0,11	0,13	0,17	j

Distancia genética de la Muestra 6 y 7.

						Me	6											М	7				$\overline{}$
C	DTU	M6.1	M6.10	M6.2	M6.3	M6.4	M6.5	M6.6	M6.7	M6.8	M6.9	(DTU	M7.1	M7.10	M7.2	M7.3	M7.4	M7.5	M7.6	M7.7	M7.8	M7.9
	M6.1	0,00											M7.1	0.00									
	M6.10	0,28	0,00										M7.10	0,35	0,00								
	M6.2	0,29	0,27	0,00									M7.2	0,19	0,20	0,00							
	M6.3	0,26	0,20	0,21	0,00								M7.3	0,28	0,13	0,15	0,00						
	M6.4	0,29	0,26	0,26	0,11	0,00							M7.4	0,32	0,48	0,51	0,35	0,00					
М6	M6.5	0,26	0,20	0,16	0,17	0,15	0,00					М7	M7.5	0,19	0,19	0,12	0,12	0,45	0,00				
	M6.6	0,29	0,23	0,10	0,16	0,22	0,12	0,00					M7.6	0,32	0,27	0,26	0,22	0,44	0,09	0,00			
	M6.7	0,22	0,23	0,23	0,16	0,26	0,29	0,18	0,00				M7.7	0,29	0,31	0,24	0,23	0,49	0,29	0,43	0,00		
	M6.8	0,25	0,22	0,26	0,16	0,13	0,16	0,18	0,13	0,00			M7.8	0,35	0,29	0,30	0,26	0,35	0,29	0,37	0,43	0,00	
	M6.9	0,33	0,22	0,36	0,20	0,27	0,33	0,26	0,22	0,22	0,00		M7.9	0,31	0,57	0,45	0,43	0,57	0,46	0,49	0,54	0,53	0,00
	M7.1	0,18	0,26	0,48	0,25	0,28	0,35	0,32	0,27	0,20	0,15		M8.10	0,32	0,09	0,17	0,05	0,35	0,17	0,33	0,26	0,21	0,57
	M7.10	0,25	0,22	0,22	0,10	0,16	0,24	0,22	0,10	0,22	0,28		M8.10	0,35	0,31	0,20	0,16	0,38	0,22	0,35	0,21	0,32	0,50
	M7.2	0,26	0,27	0,26	0,12	0,10	0,16	0,18	0,22	0,10	0,22		M8.2	0,37	0,17	0,27	0,14	0,38	0,21	0,15	0,38	0,32	0,51
	M7.3	0,24	0,18	0,10	0,07	0,14	0,12	0,05	0,15	0,15	0,22		M8.3	0,44	0,21	0,35	0,21	0,44	0,34	0,34	0,51	0,38	0,43
	M7.4	0,45	0,29	0,35	0,41	0,55	0,45	0,30	0,36	0,44	0,24		M8.4	0,32	0,10	0,16	0,18	0,47	0,22	0,30	0,35	0,29	0,54
M7	M7.5	0,31	0,16	0,29	0,09	0,11	0,17	0,21	0,25	0,16	0,22	M8	M8.5	0,24	0,20	0,18	0,16	0,45	0,18	0,32	0,35	0,26	0,53
	M7.6	0,46	0,16	0,38	0,22	0,23	0,26	0,30	0,28	0,20	0,31		M8.6	0,18	0,25	0,10	0,16	0,44	0,11	0,20	0,24	0,37	0,32
	M7.7	0,25	0,36	0,26	0,29	0,31	0,21	0,18	0,31	0,31	0,38		M8.7	0,24	0,22	0,05	0,08	0,44	0,13	0,26	0,20	0,27	0,39
	M7.8	0,24	0,28	0,26	0,26	0,32	0,30	0,26	0,21	0,24	0,31		M8.8	0,40	0,38	0,23	0,22	0,57	0,24	0,41	0,13	0,34	0,56
	M7.9	0,62	0,57	0,59	0,45	0,45	0,57	0,48	0,45	0,37	0,50		M8.9	0,34	0,16	0,29	0,16	0,30	0,31	0,31	0,44	0,26	0,32
	M8.10	0,26	0,20	0,11	0,08	0,20	0,17	0,08	0,13	0,22	0,22		M9.1	0,38	0,10	0,18	0,23	0,43	0,29	0,36	0,41	0,29	0,57
	M8.10	0,35	0,28	0,22	0,17	0,24	0,13	0,11	0,31	0,24	0,28		M9.10	0,28	0,08	0,15	0,09	0,38	0,16	0,24	0,23	0,24	0,45
	M8.2	0,37	0,15	0,27	0,12	0,24	0,19	0,18	0,22	0,22	0,35		M9.2	0,19	0,14	0,05	0,13	0,53	0,10	0,19	0,17	0,33	0,45
	M8.3	0,46	0,36	0,29	0,26	0,34	0,38	0,26	0,17	0,26	0,40		M9.3	0,18	0,16	0,05	0,08	0,51	0,05	0,21	0,24	0,33	0,45
	M8.4	0,35	0,26	0,27	0,15	0,24	0,26	0,22	0,14	0,21	0,27		M9.4	0,37	0,17	0,29	0,13	0,31	0,29	0,31	0,38	0,33	0,51
M8	M8.5	0,26	0,24	0,29	0,13	0,21	0,26	0,22	0,18	0,18	0,21	М9	M9.5	0,27	0,23	0,28	0,22	0,36	0,27	0,30	0,34	0,22	0,42
	M8.6	0,36	0,16	0,33	0,13	0,15	0,22	0,20	0,25	0,15	0,19		M9.6	0,25	0,16	0,13	0,13	0,39	0,15	0,24	0,20	0,33	0,36
	M8.7	0,26	0,24	0,17	0,13	0,08	0,08	0,08	0,22	0,08	0,24		M9.7	0,35	0,14	0,21	0,11	0,36	0,22	0,36	0,29	0,24	0,49
	M8.8	0,32	0,38	0,26	0,29	0,32	0,18	0,15	0,38	0,32	0,39		M9.8	0,17	0,16	0,12	0,12	0,39	0,15	0,29	0,24	0,21	0,42
	M8.9	0,37	0,29	0,25	0,22	0,31	0,35	0,20	0,05	0,14	0,19		M9.9	0,29	0,20	0,16	0,07	0,32	0,18	0,32	0,16	0,24	0,53
	M9.1	0,35	0,31	0,26	0,21	0,22	0,28	0,27	0,18	0,22	0,23		M10.1	0,30	0,21	0,16	0,11	0,40	0,18	0,31	0,25	0,28	0,54
	M9.10	0,29	0,18	0,19	0,11	0,14	0,12	0,09	0,14	0,14	0,22		M10.10	0,36	0,17	0,22	0,11	0,42	0,21	0,24	0,37	0,30	0,45
	M9.2	0,25	0,22	0,31	0,10	0,13	0,14	0,17	0,14	0,08	0,22		M10.2	0,35	0,25	0,20	0,16	0,53	0,22	0,22	0,37	0,42	0,38
	M9.3	0,29	0,22	0,26	0,05	0,08	0,14	0,14	0,20	0,11	0,19		M10.3	0,38	0,25	0,25	0,10	0,41	0,19	0,21	0,32	0,36	0,23
	M9.4	0,35	0,25	0,18	0,22	0,27	0,31	0,13	0,18	0,27	0,31		M10.4	0,27	0,26	0,14	0,20	0,53	0,18	0,32	0,37	0,28	0,48
М9	M9.5	0,28	0,22	0,32	0,22	0,30	0,21	0,22	0,19	0,19	0,22	M10	M10.5	0,27	0,23	0,10	0,18	0,60	0,15	0,28	0,25	0,35	0,45
	M9.6	0,34	0,22	0,27	0,15	0,13	0,11	0,13	0,22	0,13	0,18		M10.6	0,21	0,33	0,18	0,22	0,39	0,25	0,37	0,31	0,25	0,31
	M9.7	0,31	0,25	0,16	0,14	0,24	0,22	0,11	0,16	0,25	0,25		M10.7	0,28	0,22	0,19	0,18	0,47	0,21	0,33	0,15	0,35	0,35
	M9.8	0,23	0,21	0,21	0,10	0,17	0,23	0,16	0,12	0,12	0,14		M10.8	0,26	0,27	0,22	0,23	0,47	0,23	0,27	0,18	0,35	0,38
	M9.9	0,26	0,21	0,12	0,13	0,21	0,10	0,02	0,21	0,21	0,24		M10.9	0,16	0,28	0,17	0,20	0,31	0,25	0,41	0,26	0,12	0,39
	M10.1	0,30	0,22	0,21	0,14	0,21	0,18	0,12	0,22	0,21	0,17		L									<u> </u>	لتنب
	M10.10	0,29	0,24	0,13	0,18	0,17	0,11	0,20	0,22	0,16	0,39												
	M10.2	0,43	0,32	0,32	0,22	0,21	0,25	0,21	0,21	0,11	0,29												
	M10.3	0,41	0,31	0,24	0,18	0,19	0,19	0,16	0,27	0,20	0,30												
	M10.4	0,24	0,26	0,28	0,17	0,14	0,20	0,28	0,26	0,14	0,21												
M10	M10.5	0,25	0,31	0,31	0,15	0,07	0,19	0,24	0,24	0,14	0,30												
	M10.6	0,28	0,32	0,29	0,24	0,18	0,20	0,22	0,31	0,20	0,33												
	M10.7	0,30	0,31	0,30	0,21	0,15	0,21	0,18	0,24	0,23	0,30												
	M10.8	0,29	0,30	0,36	0,19	0,25	0,19	0,23	0,25	0,21	0,34												
	M10.9	0,17	0,24	0,22	0,22	0,22	0,20	0,20	0,19	0,13	0,21												
										_ : :		ı											

Distancia genética de la Muestra 8 y 9.

O.T.I.						M	3											M	9				
ОТИ		M8.10	M8.10	M8.2	M8.3	M8.4	M8.5	M8.6	M8.7	M8.8	M8.9	(OTU	M9.1	M9.10	M9.2	M9.3	M9.4	M9.5	M9.6	M9.7	M9.8	M9.9
	M8.10	0,00											M9.1	0,00									
	M8.10	0,17	0,00										M9.10	0,15	0,00								
	M8.2	0,18	0,21	0,00									M9.2	0,20	0,08	0,00							
	M8.3	0,17	0,42	0,19	0,00								M9.3	0,22	0,11	0,03	0,00						
	M8.4	0,11	0,28	0,21	0,18	0,00						٠	M9.4	0,23	0,13	0,29	0,26	0,00					
M8	M8.5	0,08	0,28	0,21	0,17	0,14	0,00					М9	M9.5	0,21	0,13	0,18	0,22	0,29	0,00				
	M8.6	0,19	0,22	0,27	0,38	0,22	0,20	0,00					M9.6	0,20	0,03	0,06	0,09	0,21	0,16	0,00			
	M8.7	0,13	0,13	0,21	0,29	0,22	0,20	0,11	0,00				M9.7	0,16	0,11	0,20	0,14	0,14	0,20	0,19	0,00		
	M8.8	0,23	0,06	0,35	0,57	0,34	0,38	0,30	0,17	0,00			M9.8	0,22	0,12	0,11	0,08	0,22	0,20	0,16	0,15	0,00	
	M8.9	0,19	0,37	0,21	0,14	0,20	0,24	0,29	0,22	0,51	0,00		M9.9	0,25	0,07	0,14	0,12	0,17	0,20	0,11	0,10	0,13	0,00
	M9.1	0,16	0,35	0,25	0,21	0,10	0,20	0,29	0,22	0,43	0,20		M10.1	0,21	0,12	0,16	0,11	0,20	0,20	0,16	0,10	0,15	0,10
	M9.10	0,08	0,16	0,09	0,24	0,14	0,18	0,16	0,08	0,21	0,17		M10.10	0,24	0,19	0,22	0,15	0,27	0,27	0,21	0,22	0,27	0,22
	M9.2	0,16	0,19	0,17	0,30	0,12	0,17	0,09	0,09	0,23	0,23		M10.2	0,26	0,18	0,14	0,14	0,25	0,25	0,17	0,24	0,23	0,26
	M9.3	0,12	0,17	0,21	0,24	0,14	0,05	0,06	0,06	0,23	0,26		M10.3	0,34	0,18	0,21	0,18	0,23	0,26	0,16	0,20	0,27	0,21
M9	M9.4	0,13	0,29	0,14	0,22	0,25	0,29	0,29	0,16	0,36	0,15	M10	M10.4	0,29	0,25	0,20	0,14	0,38	0,33	0,25	0,28	0,17	0,26
IVIS	M9.5	0,19	0,27	0,07	0,27	0,18	0,17	0,28	0,25	0,33	0,22	WITU	M10.5	0,25	0,20	0,11	0,11	0,35	0,31	0,19	0,20	0,19	0,22
	M9.6	0,16	0,15	0,14	0,33	0,20	0,22	0,12	0,06	0,21	0,24		M10.6	0,33	0,22	0,22	0,20	0,35	0,31	0,22	0,26	0,22	0,20
	M9.7	0,03	0,21	0,18	0,18	0,12	0,12	0,22	0,14	0,27	0,20		M10.7	0,28	0,13	0,15	0,16	0,24	0,27	0,10	0,22	0,21	0,16
	M9.8	0,11	0,22	0,24	0,28	0,16	0,11	0,13	0,13	0,26	0,17		M10.8	0,33	0,16	0,13	0,20	0,33	0,13	0,13	0,29	0,25	0,21
	M9.9	0,05	0,09	0,18	0,32	0,20	0,19	0,17	0,08	0,12	0,26		M10.9	0,27	0,20	0,22	0,19	0,29	0,22	0,19	0,20	0,13	0,17
	M10.1	0,08	0,14	0,18	0,25	0,16	0,12	0,15	0,13	0,19	0,28												
	M10.10	0,12	0,26	0,17	0,17	0,22	0,24	0,30	0,16	0,36	0,24												
	M10.2	0,26	0,26	0,19	0,16	0,22	0,21	0,22	0,13	0,34	0,17												
	M10.3	0,22	0,19	0,11	0,29	0,31	0,31	0,24	0,10	0,27	0,22												
M10	M10.4	0,24	0,20	0,38	0,40	0,28	0,21	0,20	0,15	0,26	0,33												
WITU	M10.5	0,22	0,26	0,27	0,31	0,24	0,16	0,17	0,09	0,32	0,34												
	M10.6	0,24	0,19	0,34	0,36	0,31	0,28	0,24	0,14	0,25	0,37												
	M10.7	0,20	0,16	0,26	0,39	0,26	0,27	0,16	0,13	0,19	0,31												
	M10.8	0,26	0,19	0,10	0,41	0,26	0,31	0,20	0,20	0,24	0,33												
	M10.9	0,16	0,22	0,36	0,38	0,25	0,20	0,18	0,13	0,30	0,22												

Fuente: (GUACHO, E. 2013)

Distancia genética de la Muestra 10.

	OTU					M 1	10				
(OTU	M10.1	M10.10	M10.2	M10.3	M10.4	M10.5	M10.6	M10.7	M10.8	M10.9
	M10.1	0,00									
	M10.10	0,24	0,00								
	M10.2	0,18	0,22	0,00							
	M10.3	0,26	0,15	0,17	0,00						
M10	M10.4	0,20	0,20	0,24	0,26	0,00					
WITO	M10.5	0,21	0,19	0,21	0,19	0,18	0,00				
	M10.6	0,24	0,19	0,32	0,26	0,20	0,20	0,00			
	M10.7	0,21	0,29	0,27	0,16	0,25	0,15	0,18	0,00		
	M10.8	0,25	0,30	0,27	0,22	0,34	0,22	0,29	0,16	0,00	
	M10.9	0,22	0,26	0,33	0,29	0,15	0,25	0,14	0,20	0,26	0,00