DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA DE LA GUAYABA DULCE (*Psidium guajava* L.) EVALUADA MEDIANTE MARCADORES MICROSATÉLITES EN TRES MUNICIPIOS DE CÓRDOBA-COLOMBIA

MAURICIO BEGAMBRE HERNÁNDEZ

UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS

MAESTRÍA EN BIOTECNOLOGÍA

MONTERÍA

2022

DIVERSIDAD Y ESTRUCTURA GENÉTICA DE LA GUAYABA DULCE (*Psidium guajava* L.) EVALUADA MEDIANTE MARCADORES MICROSATÉLITES EN TRES MUNICIPIOS DE CÓRDOBA-COLOMBIA

MAURICIO BEGAMBRE HERNÁNDEZ

TRABAJO DE GRADO PARA OPTAR EL TÍTULO DE MAGÍSTER EN BIOTECNOLOGÍA

DIRECTOR:

ENRIQUE PARDO PÉREZ Ph.D.

UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS

MAESTRÍA EN BIOTECNOLOGÍA

MONTERÍA

2022

Este trabajo deberá citarse de la siguiente manera:

Begambre, H. M. (2022). Diversidad y estructura genética de la guayaba dulce (*Psidium guajava* L.) evaluada mediante marcadores microsatélites en tres municipios de Córdoba-Colombia. Trabajo de grado (Maestría). Universidad de Córdoba.

El jurado del trabajo no será responsable de las ideas emitidas por los autores (Artículo 46, acuerdo 006 del 29 de mayo de 1997 del Consejo Superior).

Nota de aceptación:

_____

_____

_____

_____

_____

Presidente del Jurado

_____

Janer Miguel Polo Santos, MSc.

Jurado

_____

Luis Alfonso Rodríguez Páez, MSc.

Jurado

Montería, 2022

DEDICATORIA

A Dios por la vida y los caminos dispuestos para mi regocijo.

A mis padres José Begambre y Carmen Hernández por la confianza, tolerancia, respeto y pertenencia que han tenido para con mi desarrollo personal y estudios.

AGRADECIMIENTOS

A Enrique Pardo Pérez Ph.D. por el apoyo incondicional en todo el proceso de realización del presente proyecto.

A Karen Hernández Martínez, José Coronado González y María Humanez Rivero, por el trabajo colaborativo realizado en campo y en el laboratorio.

A la Universidad de Córdoba por el financiamiento de los reactivos y materiales del proyecto.

A los Jurados Luis Alfonso Rodríguez Páez y Janer Miguel Polo Santos por sus aportes al mejoramiento de la tesis.

A las familias de los municipios de Sahagún, Tierralta y Cereté que colaboraron con el permiso de colecta de las muestras biológicas y que hicieron más grato los muestreos.

A todos y todas las personas que contribuyeron a la formación y acompañamiento en esta etapa de mi vida.

TABLA DE CONTENIDO

Pág.

RESUMEN....13

ABSTRACT....14

1. INTRODUCCIÓN....15

2. MARCO REFERENCIAL....18

2.1. ANTECEDENTES....18

2.2. MARCO TEÓRICO....21

2.2.1. LA GUAYABA DULCE *Psidium guajava* L.....21

2.2.1.1. Taxonomía....21

2.2.1.2. Origen y distribución....22

2.2.1.3. Descripción botánica....22

2.2.1.4. Importancia económica y social....23

2.2.1.5. Diversidad genética de la guayaba dulce....24

2.2.2. DIVERSIDAD GENÉTICA....25

2.2.2.1. Parámetros de Medición de la Diversidad Genética....26

2.2.2.2. Factores que influencian la diversidad genética:....27

2.2.3. ESTRUCTURA POBLACIONAL....29

2.2.3.1. Parámetros de estructura poblacional de Wright....29

2.2.3.2. Flujo genético....30

2.2.3.3. Análisis de varianza molecular (AMOVA)....30

2.2.3.4. Inferencia bayesiana de la estructura genética poblacional....30

2.2.4. DISTANCIAS GENÉTICAS....31

2.2.4.1. Distancia genética de Nei....31

2.2.4.2. Dendrogramas 31
2.2.5. MARCADORES MOLECULARES TIPO MICROSATÉLITES 31
3. OBJETIVOS 33
3.1. OBJETIVO GENERAL 33
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS 33
4. MATERIALES Y MÉTODOS 34
4.1. ÁREA DE ESTUDIO Y TOMA DE MUESTRAS 34
4.2. FASE DE LABORATORIO 35
4.2.2. AMPLIFICACIÓN DE MICROSATÉLITES POR PCR 36
4.2.3. DETECCIÓN DE POLIMORFISMOS 37
4.3. ANÁLISIS DE DATOS 38
4.3.1. ANÁLISIS DE DIVERSIDAD GENÉTICA 38
4.3.2. ANÁLISIS DE ESTRUCTURA POBLACIONAL Y DISTANCIAS GENÉTICAS 38
5. RESULTADOS 39
5.1. AMPLIFICACIÓN DE LOS MARCADORES MICROSATÉLITES 39
5.2. DIVERSIDAD GENÉTICA 39
5.2.1. NÚMERO DE ALELOS (N_A) Y PATRONES ALÉLICOS 39
5.2.2. CONTENIDO DE INFORMACIÓN POLIMÓRFICA (*PIC*) 41
5.2.3. HETEROCIGOSIDAD OBSERVADA (H_O) Y HETEROCIGOSIDAD ESPERADA (H_E) 42
5.2.4. ÍNDICE DE FIJACIÓN (*F*) 42
5.2.5. EQUILIBRIO DE HARDY-WEINBERG (E_{HW}) 42
5.3. ESTRUCTURA POBLACIONAL 44
5.3.1. ESTADÍSTICOS *F DE WRIGHT* 44

5.3.2. FLUJO GENÉTICO 44
5.3.3. ANÁLISIS JERÁRQUICO DE VARIANZA MOLECULAR (*AMOVA*) 45
5.3.4. ANÁLISIS BAYESIANO DE LA ESTRUCTURA POBLACIONAL 46
5.4. DISTANCIAS GENÉTICAS.....47
5.4.1. DISTANCIA GENÉTICA DE NEI (1987) 47
5.4.2. ANÁLISIS DE COORDENADAS PRINCIPALES (*PCoA*).....48
6. DISCUSIÓN.....49
7. CONCLUSIÓN.....53
8. RECOMENDACIONES.....54
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....55
10. ANEXOS.....62

LISTA DE TABLAS

Pág.

Tabla 1. Primers de los marcadores microsatélites de *Psidium guajava* L. evaluados en las poblaciones del departamento de Córdoba (Risterucci *et al.* 2005) 36

Tabla 2. Especificaciones del protocolo de la PCR para la amplificación de los marcadores SSR. 37

Tabla 3. Frecuencias alélicas de los siete marcadores microsatélites evaluados en tres poblaciones de *Psidium guajava* L. de Córdoba. 40

Tabla 4. Patrones alélicos determinados en las poblaciones de *P. guajava* L. del departamento de Córdoba. 41

Tabla 5. Parámetros de diversidad genética determinados en las poblaciones de *Psidium guajava* L. 43

Tabla 6. Estimación de los parámetros de diferenciación poblacional y flujo genético de las poblaciones de guayabas evaluadas. 45

Tabla 7. Análisis de varianza molecular (*AMOVA*) en las poblaciones de *P. guajava* del departamento de Córdoba. 45

LISTA DE FIGURAS

Pág.

Figura 1 : Ubicación geográfica de los municipios: Tierralta, Cereté y Sahagún en el departamento de Córdoba, Colombia. 34

Figura 2: Contenido de información polimórfica (PIC) de cada marcador en cada población de P. guajava estudiada. 41

Figura 3: Análisis bayesiano de estructura genética de las poblaciones de P. guajava mediante Harvester Structure y Structure. **A.** Gráfico de DeltaK bajo el criterio de tres poblaciones. **B**. Gráfico de DeltaK computado bajo el criterio de una población. C.Estructura genética poblacional para K = 2. **D.** Estructura genética poblacional para k = 3.....46

Figura 4: Distancias genéticas entre las poblaciones de P. guajava del departamento de Córdoba. **A.** Matriz de distancias genéticas de Nei (1972); **B**. Dendrograma UPGMA elaborado a partir de la distancia genética de Nei. 47

Figura 5: Análisis de coordenadas principales (*PCoA*) basado en la matriz de distancias genéticas binarias de Huff *et al.* (1993), mostrando la distribución espacial de los individuos de las tres poblaciones de P. guajava de Córdoba. 48

LISTA DE ANEXOS

Pág.

Anexo 1. Ejemplares muestreados a lo largo de los tres municipios evaluados: Tierralta, Cerete y Sahagún. 62

Anexo 2. Trabajo en el laboratorio 63

Anexo 3. Geles de agarosa (**A**) empleados en determinar la presencia de ADN luego de la extracción y gel de poliacrilamida (**B**) resultado de la revisión de los amplicones. 64

Anexo 4. Tamaño en pares de bases de los productos amplificados para la población de guayabas de Tierralta. 65

Anexo 5. Tamaño en pares de bases de los productos amplificados para la población de guayabas de Sahagún. 66

Anexo 6. Tamaño en pares de bases de los productos amplificados para la población de guayabas de Cereté. 67

Anexo 7. Formato de salida del análisis de diversidad y estructura poblacional de Wright de la extensión para Excel GenAIEx..... 68

Anexo 8. Lista de alelos privados presentes en las tres poblaciones 69

Anexo 9. Resultados para el test de equilibrio de Hardy – Weinberg. 70

Anexo 10. Formato de salida y resultados PIC obtenidos mediante el programa Cervus 3.0.7. para las poblaciones evaluadas. 71

RESUMEN

La guayaba dulce (*Psidium guajava* L.) es un frutal de la familia Myrthaceae de amplia distribución en zonas tropicales y subtropicales, es de gran interés comercial por sus frutos de agradable sabor y alto valor nutricional. Por su importancia económica y su condición autóctono en el departamento de Córdoba-Colombia, se caracterizaron mediante marcadores moleculares tipo microsatélites (SSR) tres poblaciones de *P. guajava* correspondientes a los municipios de Sahagún, Tierralta y Cereté. De los doce marcadores evaluados siete resultaron polimórficos y presentaron un total de 44 alelos distribuidos en tres poblaciones. El Contenido de Información Polimórfica (PIC) fue variable en los territorios encontrándose los marcadores *mPgCIR07* y *mPgCIR20* como altamente informativos. La heterocigosidad observada fue de 0,179, 0,081 y 0,555 para Sahagún, Tierralta y Cereté respectivamente. El coeficiente de diferenciación entre las poblaciones presenta una media de F_{ST} = 0,271 y un porcentaje de variación interpoblacional de 7 %, estos resultados se reflejaron en el agrupamiento bayesiano con DeltaK = 3 como el número de grupos genéticos más probable y en la distribución diferencial de las tres poblaciones en el análisis de coordenadas principales (*PCoA*). Cereté se caracterizó por una elevada diversidad genética fruto de la alta actividad agrícola familiar y productividad de esta especie en los suelos del presente municipio, mientras que las poblaciones de guayaba de los municipios de Tierralta y Sahagún presentaron una alta endogamia y se halló una elevada diferenciación genética interpoblacional atribuido probablemente al escaso interés en su producción.

Palabras claves: *Psidium guajava*, diversidad genética, marcadores microsatélites, Córdoba – Colombia.

ABSTRACT

Sweet guava (*Psidium guajava* L.) is a fruit tree of the Myrthaceae family with a wide distribution in tropical and subtropical areas, it is of great commercial interest due to its fruits with a pleasant flavor and high nutritional value. Due to its economic importance and its autochthonous condition in the department of Córdoba-Colombia, three populations of *P. guajava* corresponding to the municipalities of Sahagún, Tierralta and Cereté were characterized by microsatellite-type molecular markers (*SSR*). Of the twelve markers evaluated, seven were polymorphic and presented a total of 44 alleles distributed in three populations. The Polymorphic Information Content (*PIC*) was variable in the territories, finding the markers *mPgCIR07* and *mPgCIR20* as highly informative. The heterozygosity observed was 0.179, 0.081 and 0.555 for Sahagún, Tierralta and Cereté, respectively. The coefficient of differentiation between populations has an average of F_{ST} = 0.271 and a percentage of interpopulation variation of 7%, , these results were reflected in the Bayesian clustering with DeltaK = 3 as the most probable number of genetic groups and in the differential distribution of the three populations in the principal coordinate analysis (*PCoA*). Cereté was characterized by a high genetic diversity as a result of the high family agricultural activity and productivity of this species in the soils of the present municipality, while the guava populations of the municipalities of Tierralta and Sahagún presented high inbreeding and a high interpopulation genetic differentiation was found, probably attributed to little interest in its production.

Key words: *Psidium guajava*, genetic diversity, microsatellite markers, Córdoba - Colombia.

1. INTRODUCCIÓN

Los marcadores microsatélites (SSR) son secuencias cortas de nucleótidos que se repiten en tándem, el número de repeticiones crea diferentes alelos, poseen naturaleza codominante y una alta tasa de mutación haciéndolos altamente polimórficos, son fáciles de evaluar mediante técnicas de biología molecular como PCR, electroforesis y secuenciación, son herramientas eficaces y confiables para la detección de la variabilidad genética en especies vegetales (da Silva *et al*. 2021; Díaz, 2016). Los estudios de caracterización genética buscan obtener una representación de la población detectando la máxima cantidad de variación genética posible, en un número limitado y especifico de muestras, en conjunto con la información taxonómica, geográfica y ecológica para determinar posibles ecotipos; con el fin de preservar recursos filogenéticos para hacer frente a los riesgos de incidencia de plagas, enfermedades; así como la obtención de líneas mejoradas para los sistemas agrícolas y pecuarios (Quintos-Cortes *et al*. 2021).

La guayaba dulce (*Psidium guajava* L.: Myrtaceae) es un árbol frutal originario del Sur de México, Centroamérica y la Zona Norte de Suramérica cuya importancia comercial radica en sus frutos comestibles. Actualmente es una especie que se distribuye en la mayor parte de los trópicos y subtrópicos del mundo, donde es explotado principalmente para la comercialización de sus frutos y en menor grado para obtener subproductos como madera, hojas y corteza que se usan en la medicina tradicional (Kumar *et al.* 2021). La guayaba se ha naturalizado gracias a su adaptabilidad, en algunas zonas llegando a considerarse una especie invasora (Urquia *et al*. 2019).

La especie puede medir entre 3 y 20 metros de altura, posee hojas simples opuestas perennes, sus flores son hermafroditas, aunque se pueden autofecundar, el principal mecanismo es la polinización cruzada a través de insectos (Amín *et al*. 2019), su fruto una baya globosa con numerosas semillas de pequeño tamaño (Velasco-Arango *et al.* 2020; Calabroni, 2013), caracterizado por

ser una excelente fuente de vitamina C, conteniendo entre 200 a 400 mg x 100 gr de fruto fresco, además de vitaminas B1, B2, fibra, así como, importantes minerales como: Ca, Mg, K, Fe y P (Angulo-López *et al*. 2021).

Los principales países productores de esta fruta son India, China, Brasil, Pakistán y México, con una producción mundial de 6’872.500 toneladas (Altendorf, 2018). Colombia para el año 2020 registró un área de 12.324 hectáreas con una producción de 165.160 toneladas de frutos (AGRONET, 2022). Los principales departamentos productores de este cultivo son Santander, Meta y Valle del Cauca donde se concentra la mayor parte de la producción nacional. Para el año 2020 en el departamento de Córdoba se registró un total de 281 hectáreas sembradas, con una producción de 6.320 toneladas de frutos de guayaba y el segundo departamento con la mayor producción por hectárea (22,49 toneladas/hectáreas); en años anteriores había sido el departamento con mayor rendimiento de frutos por hectárea (AGRONET, 2022). Se comercializan los frutos principalmente sin procesar o procesado como pulpa, mermeladas y dulces como el bocadillo (Guzmán *et al*. 2012). Las oportunidades de mercado de este frutal han hecho que los cultivos aumenten en los últimos años, por lo que se ha tenido interés en caracterizar las diferentes variedades a fin de conocer las características, cualidades y el potencial del germoplasma en diferentes departamentos.

En Colombia el estudio de *P. guajava* se ha centrado principalmente en la caracterización morfométrica de diferentes variedades, la composición química de los frutos y su valor nutricional (Jiménez *et al*. 2009; Gutiérrez, 2013; Valderrama y Guchuvo, 2015; Cuellar, 2018). Los estudios de la diversidad genética de *P. guajava* mediante el uso de marcadores moleculares son escasos, entre estos se tiene el trabajo de Rueda *et al*. (2006), quienes desarrollaron un estudio a partir de marcadores tipo RAPD (ADN polimórfico amplificado al azar) y los trabajos de Sanabria *et al*. (2006) y Flores *et al*. (2008), ambos mediante el uso de marcadores RAM (Microsatélites amplificados al azar).

La guayaba en el departamento de Córdoba es una especie nativa (Jiménez *et al*. 2009) y está distribuida en todo su territorio, debido a la búsqueda de mayores rendimientos en la producción y la estandarización del fruto, se emplean variedades seleccionadas y mejoradas impulsado principalmente por la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – AGROSAVIA (Aguilera-Arango *et al.* 2020). La introducción de nuevas variedades, además de afectar el acervo genético por su reproducción alógama, puede generar un desplazamiento u extinción de las variedades locales, perdiéndose la oportunidad de obtener materiales que se adapten a las condiciones naturales del departamento.

En el departamento de Córdoba no se han reportado investigaciones sobre la diversidad genética en poblaciones de *P. guajava*, por lo que las características y aptitudes de la especie son desconocidas. Estos estudios son importantes para valorar el estado de los cultivos del departamento, apoyar programas de mejoramiento y conservación de recursos fitogenético locales, por lo anterior se planteó la necesidad de evaluar la diversidad genética de poblaciones de guayaba dulce del departamento de Córdoba a partir del uso de marcadores SSR y parámetros de la genética de poblaciones.

2. MARCO REFERENCIAL

2.1. ANTECEDENTES

La importancia comercial de la guayaba ha promovido el desarrollo de investigaciones en muchos países a fin de conocer sus características genéticas que permitan la selección y el mejoramiento de líneas comerciales en esta especie mediante el uso de herramientas moleculares (Sitther *et al*. 2014; Kherwar *et al*. 2018; Kareem *et al*. 2018; Urquía *et al*. 2019).

Risterucci *et al.* (2005). Reportaron los primeros marcadores tipo microsatélites para la especie *Psidium guajava* mediante librerías enriquecidas con microsatélites $(GA)_n$ y $(GT)_n$, obteniendo de esta forma 23 secuencias repetitivas simples, siendo polimórficas para diferentes cultivos, estos microsatélites fueron empleados por múltiples investigadores (Kherwar *et al*. 2018; Kareem *et al.* 2018; Sitther *et al.* 2014), recientemente Kumar *et al.* (2020) aislaron y caracterizaron 38 nuevos marcadores microsatélites, de los cuales 26 fueron polimórficos para accesiones de guayaba dulce de las regiones de la India, estos marcadores microsatélites enriquecen los recursos genéticos disponibles para el estudio de la diversidad y el empleo en el mejoramiento genético de la guayaba.

Kherwar *et al*. (2018). Evaluaron 24 marcadores microsatélites (SSR) en 34 variedades de guayaba dulce presentes en la India y su asociación a rasgos morfológicos y fisiológicos, el germoplasma se agrupo en dos grandes grupos que separó las guayabas de acuerdo a la coloración del mesocarpio: rosadas y blancas. Además, los marcadores moleculares permitieron determinar la diversidad y estructura poblacional y se tendrán como herramientas para la selección asistida para desarrollar variedades con mayor rendimiento de fruto y con mejores propiedades nutricionales.

En Pakistán estudios como el de Kareem *et al*. (2018), han permitido caracterizar el germoplasma de los cultivares de guayaba, quienes utilizando para ello

marcadores microsatélites y descriptores morfológicos pudieron detectar un amplio rango de variabilidad entre 37 accesiones seleccionadas según el tamaño del fruto, la forma del fruto, el color de la pulpa, el color del rubor del fruto y el número de semillas; tales resultados les permitió concluir que las accesiones son una fuente importante de diversidad genética que puede utilizarse en el programa de mejoramiento de guayaba.

Sitther *et al*. 2014 caracterizaron 35 accesiones de *P. guajava* de un banco de germoplasma en Estados Unidos utilizando para ello 20 marcadores SSR, encontrando un total de 178 alelos en un rango de 4 a 16 alelos por *locus* y niveles moderados de heterocigosidad observada (H_o = 0,2) y alta heterocigosidad esperada (H_e = 0,7); además pudieron concluir a partir del análisis que las accesiones fueron muy cercanas genéticamente, atribuyendo esto a la posible descendencia de estas accesiones de progenitores comunes.

Valera-Montero *et al*. (2017), evaluaron la variación genética en guayaba mediante RAPDs y descriptores morfológicos en México; reportando una concordancia parcial entre los métodos de agrupamiento de los marcadores evaluados y los descriptores morfológicos de guayaba, los cuales sugirieron que esta técnica puede ser utilizada para caracterizar genotipos de guayaba sobresalientes que pueden ser útiles en los programas de mejoramiento genético asistido de esta especie en México.

Rodríguez *et al*. (2007), caracterizaron una colección de germoplasma de *Psidium guajava* en la Habana Cuba mediante el empleo de marcadores morfológicos y marcadores de Polimorfismos de la Longitud de Fragmentos Amplificados (AFLP) y de Secuencias Simples Repetidas (SSR). Los resultados reportaron genotipos élites para propósitos de comercialización y mejoramiento genético; además, lograron construir mapas de ligamiento utilizando los marcadores moleculares y detectaron más de 50 *loci* de caracteres cuantitativos, estos marcadores pueden ser aplicados para la selección asistida de materiales de interés económicos.

En Sur América se han realizado trabajos como el de Aranguren *et al*. (2010), donde evaluaron la diversidad genética de *Psidium guajava* para 31 accesiones de Venezuela mediante el uso de 16 marcadores SSR; encontraron altos niveles de polimorfismo y varios alelos para cada locus, sus resultados mostraron una posible relación entre la diversidad genética de la especie y su distribución geográfica. Urquía *et al*. (2019) utilizaron 11 marcadores microsatélites con el objetivo de conocer la diversidad y la estructura genética de la guayaba en tres islas del archipiélago de Galápagos – Ecuador, logrando detectar una gran similitud en el germoplasma de estas islas y la existencia de cuellos de botella genéticos que revelarían la introducción de esta especie en el archipiélago e información sobre su expansión hasta convertirse en una especie invasora.

En Colombia se han desarrollado algunas investigaciones que han permitido caracterizar la especie *Psidium guajava* mediante el uso de descriptores morfológicos y marcadores moleculares destacándose los estudios de Sanabria *et al*. (2006) quienes colectaron 53 introducciones de *P. guajava* en el Valle del Cauca y analizaron descriptores morfológicos cualitativos: forma del fruto, color, textura, olor, ramificación, forma de la hoja, entre otros y descriptores cuantitativos en tres variables sintéticas: rendimiento del fruto, estructura del árbol y calidad del fruto. Concluyendo que el 75% de las variables cuantitativas mostraron variaciones mayores del 24% y unidas a los descriptores cualitativos fueron apropiados para la caracterización del cultivo. Mediante la técnica de marcadores RAM, efectuaron la caracterización molecular de estas introducciones y concluyeron que existen grandes niveles de diferenciación genética en la mayoría de las zonas de colecta, como también alta diversidad genética.

Rueda *et al*. (2006) realizaron una caracterizaron molecular con marcadores RAPD de la colección de 27 introducciones de guayaba del banco de germoplasma de CORPOICA Palmira constituidas por diferentes regiones geográficas que incluían representantes de los continentes americano y africano, determinaron la diversidad y relación entre las diferentes introducciones. Los

resultados arrojaron un alto grado de diversidad genética al interior del banco de germoplasma de CORPOICA Palmira, mediante la utilización de 6 primers polimórficos, y a partir de un análisis de similaridad y correspondencia múltiple detectaron un material replicado que reunió los materiales colectados en el continente americano.

Flores *et al*. (2008), evaluaron las ventajas, desventajas y características de la técnica de Microsatélites amplificados al azar (RAM) en guayaba dulce, los cebadores utilizados fueron altamente polimórficos, reportando alta variabilidad en el valle del cauca y mediante el análisis de correspondencia múltiple pudieron caracterizar cuatro grupos, permitiendo clasificar las accesiones conforme a las características morfológicas y moleculares.

Jiménez *et al*. (2009) Evaluaron el grado de diversidad existente en árboles silvestres de *Psidium guajava* en los departamentos de Valle del Cauca, Quindío y Risaralda, mediante la caracterización morfológica (variables cualitativas y cuantitativas) de 22 individuos, las accesiones se diferenciaron cualitativamente, presentando frutos redondos, de color externo amarillo e interno rosado, textura lisa y olor medio. Los análisis cualitativos reportaron una alta diversidad morfológica de las accesiones colectadas en los tres departamentos.

2.2. MARCO TEÓRICO

2.2.1. LA GUAYABA DULCE *Psidium guajava* L.

2.2.1.1. Taxonomía

La guayaba dulce pertenece al dominio Eukaryota, reino plantae, subreino Viridiplantae, superfilo Embryophyta, phylum Tracheophyta, clase Magnoliopsida, subclase rosidae, orden Myrtales, Familia Myrtaceae, subfamilia Myrtoideae, Tribu Myrteae, genero *Psidium*, Especie *Psidium guajava* L. (Mitra *et al*. 2012).

Reino: Plantae

División: Magnoliophita

Clase: Magnoliopsida

Orden: Myrtales

Familia: Myrtaceae

Tribu: Myrteae

Género: Psidium

Especie: *Psidium guajava* L.

2.2.1.2. Origen y distribución

El centro de diversificación de esta especie corresponde a Mesoamérica, encontrándose registros silvestres desde el Sur de México, Centroamérica y la Zona Norte de Suramérica, y se considera un recurso alimenticio de gran importancia para los nativos americanos (Jiménez *et al*. 2009). La guayaba fue llevada a Europa y se introdujo en el continente asiático hacia el siglo XVII; actualmente, se distribuye por la zona tropical y subtropical, hallándose naturalizado en varios países asiáticos, entre ellos China, India Pakistán y Tailandia (Kareem *et al*. 2018).

2.2.1.3. Descripción botánica

La especie *Psidium guajava* está conformada por árboles y arbustos leñosos de 3 a 20 metros de altura, de copa irregular; de corteza externa de color café rojizo escamosa con piezas lisas delgadas e irregulares (Bui *et al.* 2021), las hojas son perennes, simples, opuestas, ovaladas o elípticas de margen entero, con medidas de 5 a 18 cm de largo con 3 a 6,5 cm de ancho, con nervaduras prominentes en el envés, y son fragantes al estrujarlas (Kumar *et al*. 2021).

Las flores son hermafroditas de color blancas, perfumadas, de 2-3 cm de diámetro y de 1-1,5 cm de largo, corola con 5 sépalos con numerosos estambres, estas flores se agrupan en las axilas de las hojas; aunque se pueden autopolinizar, el principal mecanismo de polinización cruzada es a través de insectos (principalmente por la especie *Apis mellifera*) incrementando la producción de la cosecha (Amín *et al.* 2019).

Los frutos son tipo baya, periformes, ovoides o globosos, carnosos de color crema amarillo a rosado, de olor fragante y sabor agridulce, de 4-12 cm de largo, con pesos que van de 30-225 gr; exocarpio verdoso a amarillo al madurar (Velasco-Arango *et al.* 2020); presenta múltiples semillas redondas y algunos casos triangulares, duros y de color blanco, con una longitud de 3-5 mm (Calabroni, 2013). Los árboles generalmente tienen dos picos de producción, los meses de enero a abril y de julio a octubre, estos difieren dependiendo de la variedad (Aguilera-Arango *et al.* 2020).

2.2.1.4. Importancia económica y social

El fruto de la guayaba dulce es una excelente fuente de vitamina C, conteniendo entre 200 a 400 mg x 100 gr de fruto fresco, además provee vitaminas B1 y B2, así como importantes minerales como: Ca, Mg, K, Fe y P (Angulo-López *et al.* 2021), tiene buenas características para el consumo en fresco, la fabricación de dulces y mermeladas. Actualmente los principales productores de guayaba dulce son: India, China, Brasil, Pakistán y México, con una producción mundial de 6’872.500 toneladas (Altendorf, 2018).

La madera de estas plantas es utilizada para la fabricación de herramientas agrícolas y es aprovechada para la combustión, las hojas y corteza son empleadas en la etnobotánica por poseer propiedades antisépticas para tratar úlceras gástricas y laceraciones en los intestinos producidas por parásitos, también se preparan bebidas para tratar la diabetes, caries y diarrea (Kumar *et al.* 2021); en campo, los árboles de guayaba dulce tienen la capacidad de restaurar

suelos, fijar dunas, controlar la erosión, brinda sombra y alimento para el ganado y funciona como barreras rompe vientos (Castaño y Montes, 2014).

En Colombia el cultivo de guayaba para el año 2020 abarcó un área de 12.324 hectáreas con una producción de 165.160 toneladas de frutos. Los principales departamentos productores de este cultivo son Santander, Meta y Boyacá donde se concentra la mayor parte de la producción nacional. Durante el mismo año en el departamento de Córdoba se registró un total de 231 hectáreas sembradas y una producción de 6.028 toneladas de frutos de guayaba (AGRONET, 2022). En el país además del consumo de estos frutos las hojas y la corteza de guayaba se utilizan en diferentes regiones para tratar afecciones como la diarrea, el dolor de garganta, caries y enfermedades cardiovasculares mediante la preparación de infusiones.

2.2.1.5. Diversidad genética de la guayaba dulce

La guayaba dulce es un árbol propagado masivamente por semillas, lo cual genera una diversidad genética que se manifiesta en fenotipos diferentes, variabilidad en rendimiento y calidad de los frutos en plantaciones comerciales (Aguilera-Arango *et al.* 2020). Por ser una especie de polinización alógama, se cruza naturalmente con otras variedades dando origen a genotipos diferentes en apariencia, producción y calidad, generando diversidad en tamaño de fruto, forma, cantidad, tamaño y dureza de la semilla, sabor de la pulpa, textura, color, aroma, contenido de ácido ascórbico, acidez, susceptibilidad a plagas y enfermedades, cuarteamiento del fruto, rendimiento, hábito de crecimiento, vigor, tiempo entre floración y cosecha, y vida de anaquel del fruto (Jiménez *et al*. 2009).

La información sobre estudios de diversidad en *Psidium guajava* en Colombia es limitada, se destacan los trabajos realizados por Gutiérrez (2013), Jiménez *et al*. (2009); Valderrama y Guchuvo, (2015) Sanabria *et al*. (2006) y Rueda *et al*. (2006) quienes evaluaron la diversidad de esta especie en diferentes departamentos del país como el Valle del Cauca (Banco de Germoplasma de CORPOICA en

Palmira), Quindío y Risaralda, registrando alta diversidad genética y morfológica en esta especie.

Esta elevada diversidad sumado a la reproducción alógama de la guayaba dulce más que una ventaja es un limitante para la estandarización del fruto con potencial de consumo en fresco y procesamiento en la producción de derivados, sobre todo cuando se destina a exportación, ya que, la variación en tamaño y forma de los árboles (arquitectura), épocas de producción y rendimiento, hacen poco competitivo el cultivo de las especies alógamas (Camarena *et al*. 2014).

2.2.2. DIVERSIDAD GENÉTICA

Es entendido por diversidad genética las variaciones heredables presentes en el genoma de cada individuo, entre individuos de una población, entre las poblaciones de una especie o entre un grupo de especies (Almirón *et al.* 2021); está compuesta por dos aspectos fundamentales que son: la riqueza o número de genotipos y la equitatividad o la forma como se distribuyen los genotipos dentro de una población (Díaz, 2016).

La diversidad genética es importante ya que está relacionada con la historia natural de cada especie, permitiendo obtener información de los distintos procesos adaptativos y evolutivos que les han permitido tener éxito en determinados ambientes. Así mismo, en la actualidad la diversidad genética ha tenido gran importancia en la agricultura y la ganadería, posibilitando el desarrollo de métodos de selección artificial para transmitir rasgos deseables de una generación a otra y eliminar aquellos que no son de interés, lo cual ha derivado en el desarrollo de estirpes con mayor potencial productivo además de ser un componente de gran importancia en la conservación biológica de especies en peligro de extinción, contribuyendo a desarrollar estrategias para salvaguardar la variabilidad de las especies y mitigar los efectos de la reducción poblacional (Herrero *et al*., 2012; Carvalho *et al*. 2019).

2.2.2.1. Parámetros de Medición de la Diversidad Genética

- **Frecuencias alélicas (F_a):** es la proporción de una de las variantes de un locus en una población; las diferencias entre las frecuencias alélicas de las poblaciones generan la variación interpoblacional, los cambios en las frecuencias alélicas pueden generarse al azar por la deriva genética, que es influenciada por el tamaño de la población colonizadora y el tiempo transcurrido desde la colonización (Hartl, 2020).
- **Numero de alelos (N_a):** es el número de variantes que presenta un locus; los alelos comunes son aquellos con frecuencia mayor a 0,05, mientras que los alelos con frecuencia menor a 0,05 se denominan alelos raros; los alelos privados son aquellos que se hallan en una sola población; En los procesos de efecto fundador y cuellos de botellas, la disminución del número de alelos es más significativa que la reducción de la heterocigosidad (Hartl, 2020).
- **Alelos nulos (N_o):** los alelos nulos son el resultado de mutaciones o aberraciones en los sitios de unión del primer afectando su anclaje y por tanto la amplificación del microsatélite mediante PCR (Valdés-Infante *et al*. 2010). Se debe tener en cuenta que la presencia de alelos nulos influye en las estimaciones de Heterocigosidad dando como resultado la aparente presencia de un mayor número de individuos homocigotos en las poblaciones (Méndez *et al.* 2020).
- **Numero de alelos efectivos (*Ne*):** se estima a partir de la ecuación $Ne = \frac{1}{(1-He)}$ donde *He* corresponde a la heterocigosidad esperada para el *locus*; representa el número de alelos necesarios para reproducir la homocigosidad observada en la siguiente generación, por tanto, tiene en cuenta la uniformidad de las frecuencias alélicas antes del número de alelos.
- **Contenido de información polimórfica (*PIC*):** el contenido de información polimórfica (*PIC*) es un parámetro utilizado para detectar el grado de información proporcionado por un microsatélite. Altamente informativo (> 0,5), medianamente informativo (0,5 > 0,25) y poco informativo (< 0,25).

- **Heterocigosidad observada (*H_o*):** es la proporción de individuos heterocigotos para un *locus* y/o en una población (Hartl, 2020).
- **Heterocigosidad esperada (*H_e*):** es la probabilidad de seleccionar al azar dos alelos diferentes con reemplazamiento del total de alelos de un locus en una población, su valor es menos sesgado por el tipo de muestreo que el valor de numero de alelos, puesto que le afectan poco las frecuencias de los alelos raros (Hartl, 2020).
- **Índice de fijación (*F*):** determinado mediante la ecuación $F = 1 - ({}^{Ho}/_{He})$, refleja los patrones de apareamiento de la especie; sus valores comprenden -1 < F < 1, observándose tres pautas, F < 0: existe un exceso de homocigotos; F=0: el marcador está en equilibrio de Hardy – Weinberg y F > 0: existe un déficit de heterocigotos (Hartl, 2020).
- **Equilibrio de Hardy-Weinberg (*EHW*):** esta formulación matemática nos indica las frecuencias génicas ideales para la población y los resultados se toman en torno a la hipótesis nula: la no existencia de diferencias significativas entre genotipos observados y esperados; cuando no existe diferencias significativas (sn) las frecuencias génicas corresponden a una población en equilibrio, la existencia de diferencias significativas indican cambios genéticos que pueden tener significación evolutiva en la población (Hartl, 2020).

2.2.2.2. Factores que influencian la diversidad genética:

La variabilidad genética es el resultado de diferentes procesos que favorecen el cambio en la información genética de una población y hacen posible su transmisión de una generación a otra dando como resultado la aparición de nuevas características que la diferenciarán de otros grupos poblacionales. Las principales causas de variabilidad genética que se han descrito son las mutaciones, el flujo genético, la selección natural, selección artificial, la deriva genética, endogamia y el apareamiento no aleatorio (Hartl, 2020).

- **Mutaciones:** son cambios en las secuencias de nucleótidos o en la estructura y organización del material genético de los organismos las cuales ocurren de forma espontánea o por la acción de agentes físicos, químicos o biológicos. Estos cambios en la información genética producen variaciones fenotípicas, estructurales o funcionales en los seres vivos y pueden ser heredables favoreciendo la diversidad genética.
- **Flujo genético:** es el intercambio de genes entre poblaciones de una especie, originado a través de la migración de individuos de una población a otra que se reproducen dando lugar a una descendencia fértil.
- **Selección natural:** es una fuerza evolutiva que favorece la preservación de las características más funcionales en los organismos y que los hacen resistentes a las presiones del ambiente, posibilitando su adaptación y supervivencia. Así, si algunos individuos expresaron una mutación heredable que los hace resistentes a un factor natural, estos tendrán mayores posibilidades de sobrevivir, desapareciendo gradualmente aquellos individuos que no expresan dicha característica. La selección natural trae consigo la adaptación de las especies a un ambiente determinado lo cual permite el aumento de la diversidad genética y la posterior especiación como producto de la diferenciación entre poblaciones.
- **Selección artificial:** es un método mediante el cual el ser humano interviene en la reproducción de animales y de plantas para desarrollar ciertos rasgos por razones de interés productivo o económico, dando como resultado el aumento o disminución de la diversidad genética de las especies, la aparición de nuevas variedades o su desaparición.
- **Deriva genética:** es una fuerza evolutiva que produce un cambio en la frecuencia de alelos de una generación a otra, se da una pérdida de los alelos menos frecuentes y una fijación de los más frecuentes producto de la reproducción aleatoria de los individuos, resultando una disminución en la diversidad genética de la población.

- **Endogamia:** la endogamia es la reproducción entre individuos que comparten una ascendencia común, es decir, entre individuos emparentados. La endogamia trae consigo una disminución en la variabilidad genética de las poblaciones, suele darse como producto del aislamiento geográfico o en plantas como producto de la autopolinización.
- **Apareamiento no aleatorio:** también conocido como apareamiento selectivo, hace referencia a la reproducción de los individuos de una población a partir de su elección de pareja con base en su fenotipo, lo cual puede generar cambios evolutivos en la población.

2.2.3. ESTRUCTURA POBLACIONAL

2.2.3.1. Parámetros de estructura poblacional de Wright

Wright en 1931 basándose en la heterocigosidad genética formuló la estructuración poblacional en tres niveles espaciales: la heterocigosidad de los individuos, la heterocigosidad de las diferentes poblaciones y de la población total, considerando tres indicadores del grado de subdivisión poblacional F_{IS}, F_{IT} y F_{ST}.

- **Índice de fijación o coeficiente de endogamia (F_{IS}):** cuantifica la consanguinidad de los individuos con respecto a las subpoblaciones, mediante la relación del promedio de las heterocigosidades esperadas de las poblaciones con respecto a las heterocigosidades observadas, por tanto, se interpreta de igual forma que el parámetro Índice de Fijación descrito anteriormente.
- **Índice de fijación conjunto (F_{IT}):** mide la consanguinidad de los individuos en relación a la población total, este parámetro al estar asociado a las tasas de migración de los individuos, una elevada migración homogeniza la heterocigosidad de la población total, en cambio, una acentuada deriva genética genera una alta diferenciación inter - individual.
- **Coeficiente de diferenciación (F_{ST}):** cuantifica la proporción de variación atribuible a la variación inter-poblacional, Wright (1978) sugiere la siguiente

interpretación: 0-0,05 baja diferenciación genética, 0,05-0,15 una moderada diferenciación genética, 0,15-0,25 una elevada diferenciación genética y 0,25-1 una muy elevada diferenciación genética (Hartl, 2020).

2.2.3.2. Flujo genético

- **Número de migrantes (*Nm*):** es el promedio de individuos que intercambian dos o más poblaciones en una generación. Si disponemos de datos para varios loci multialélicos, Wright en 1931 mostró que asumiendo que los alelos son neutrales:

$$F_{ST} = \frac{1}{(1+4Nm)}$$

  Donde *N* es el tamaño poblacional local y *m* es la tasa media de inmigración en un modelo de estructura poblacional de isla. Despejando de esta expresión podemos estimar indirectamente el número medio de inmigrantes por generación (*Nm*).

2.2.3.3. Análisis de varianza molecular (AMOVA)

Método estadístico utilizado para medir el grado de variación molecular entre individuos, entre grupos o poblaciones basado en el análisis de varianza de las frecuencias genotípicas (Almirón *et al.* 2021)

2.2.3.4. Inferencia bayesiana de la estructura genética poblacional

Pritchard *et al*. (2000) formularon un método de agrupamiento basado en el modelo de inferencia bayesiana para deducir la estructura de la población utilizando la información genotípica, se aplica en la demostración de presencia de estructura poblacional, la identificación de distintas poblaciones genéticas, la asignación de individuos a las poblaciones y la identificación de migrantes e individuos mezclados; se consideran K poblaciones (K desconocido) cada una con frecuencias alélicas específicas, a las cuales, se le asignan (Probabilísticamente)

los individuos evaluados o conjuntamente a dos o más poblaciones si sus genotipos indican que están mezcladas.

2.2.4. DISTANCIAS GENÉTICAS

2.2.4.1. Distancia genética de *Nei*

La distancia genética expresa la disimilitud genética entre individuos o entre poblaciones, la distancia genética estándar o medida *D* desarrollada por Nei en 1972 y 1987 ha sido la medición más ampliamente utilizada.

2.2.4.2. Dendrogramas

Los dendrogramas son árboles filogenéticos que describe las relaciones de parentesco, ancestría y descendencia entre un conjunto de organismos, los métodos de inferencia se clasifican en aquellos basados en distancias y los basados en caracteres; los árboles filogenéticos basados en distancias utilizan alguna medida predeterminada (distancias de *Nei*, Distancia de *Roger*, Distancia de *Hill*) para expresar la disimilitud del conjunto de datos, el método de agrupación más usado es el método de agrupamiento por pares no ponderados con media aritmética (UPGMA), puesto que busca maximizar la similitud entre pares y entre promedio de pares de individuos o grupos.

2.2.5. MARCADORES MOLECULARES TIPO MICROSATÉLITES

Los microsatélites son secuencias cortas de nucleótidos (2-6 bp), que se repiten en tándem y de forma aleatoria cuyas secuencias adyacentes permiten amplificarlas mediante una reacción en cadena de la polimerasa o PCR, con el uso de cebadores para regiones específicas del ADN molde. Debido a su excepcional variabilidad y relativa facilidad de análisis las secuencias microsatélites son aplicados en un gran número de estudios poblacionales.

Estos marcadores se encuentran generalmente en regiones no codificantes del genoma y están distribuidos uniformemente (Fiore, 2016). Los marcadores tipo microsatélites son abundantes en los organismos eucariotas y se encuentran

altamente distribuidos a lo largo del genoma, son de carácter codominante, segregan de manera mendeliana, son selectivamente neutros, altamente polimórficos y son empleados en estudios intra e interpoblacionales, parentesco, diversidad genética y efectos de la deriva poblacional (Saddoud-Debbabi *et al.* 2021).

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la diversidad y estructura genética de las poblaciones de la guayaba dulce (*Psidium guajava* L.) mediante marcadores microsatélites en tres poblaciones del departamento de Córdoba-Colombia.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar la diversidad genética de tres poblaciones de guayaba dulce en los municipios de Cereté, Sahagún y Tierralta del departamento de Córdoba.
- Determinar la estructura genética de las poblaciones de guayaba evaluadas para el departamento de Córdoba.
- Evaluar la eficacia de los marcadores microsatélites para su uso en programas de mejoramiento genético.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. ÁREA DE ESTUDIO Y TOMA DE MUESTRAS

Se colectaron muestras de 120 accesiones de árboles de guayaba seleccionados aleatoriamente de tres municipios del departamento de Córdoba ubicados en las subregiones geográficas: Alto Sinú (Tierralta), Medio Sinú (Cereté) y Sabana (Sahagún) (Figura 1). Las muestras corresponden a hojas jóvenes que fueron almacenadas en bolsas selladas conteniendo gel de sílice para permitir la preservación de los tejidos mediante deshidratación, cada bolsa presentó un código indicando: municipio, corregimiento y coordenadas geográficas. Posteriormente se condujeron las muestras al Laboratorio de Genética de la Universidad de Córdoba para su análisis mediante técnicas moleculares.

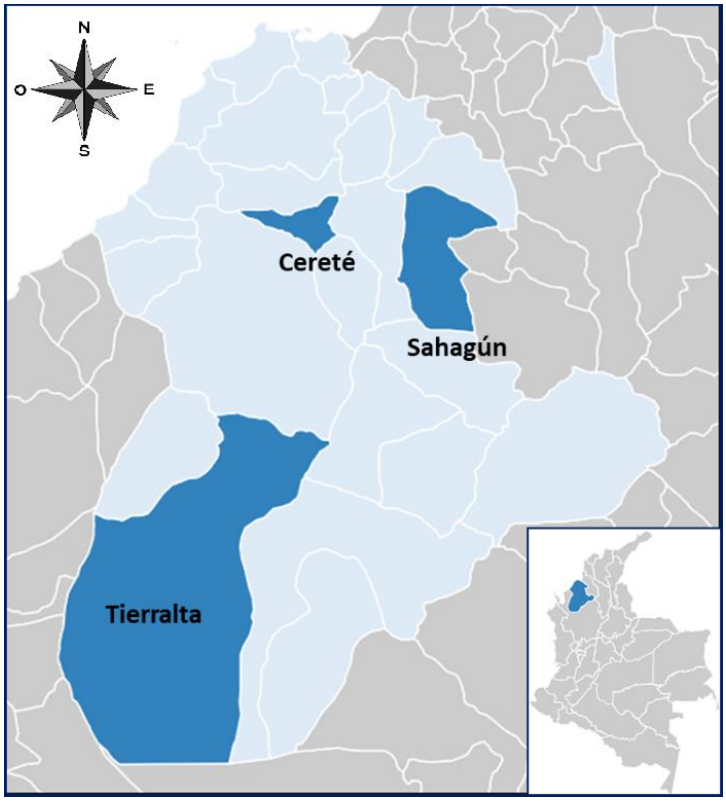


Figura 1 : Ubicación geográfica de los municipios: Tierralta, Cereté y Sahagún en el departamento de Córdoba, Colombia.

4.2. FASE DE LABORATORIO

4.2.1. Extracción de ADN

La extracción de ADN se realizó mediante un protocolo optimizado a partir del método *Mini-prep* (Doyle y Doyle, 1987) el cual consta de los siguientes pasos (Pardo-Pérez *et al.* 2021):

a. Las muestras de hoja se pulverizaron en morteros de porcelana con nitrógeno líquido, posteriormente se tomaron 25 mg del macerado en un tubo de reacción de 2 ml.

b. Se agregaron 1 ml de buffer de extracción CTAB 2X a los tubos de reacción y se calentaron en baño María durante 90 minutos agitando estos cada 15 minutos, luego se dejaron reposar de 5 minutos.

c. Se agregaron 600 µl de solución de Cloroformo: Alcohol isoamílico 24:1 y agitamos por inversión durante 10 minutos.

d. Luego se centrifugó esta mezcla a 13800 rpm durante 20 minutos, obteniendo un sobrenadante que se traspasó a un nuevo tubo de reacción de 1,5 ml y agregamos 90 µl de Acetato de Sodio 5 M (concentración final de 0,3 M) y 500 µl de etanol absoluto y se agitó en vortex.

e. Se enfriaron los tubos a -20°C durante 1 hora para después centrifugar a 13000 rpm durante 10 minutos, consiguiéndose la formación de un pellet en el fondo de los tubos de reacción.

f. Se descartó el sobrenadante y seguido se agregaron 600 µl de etanol al 70% para lavar el pellet.

g. Nuevamente se centrifugó a 13000 rpm durante 3 minutos, luego descartamos el sobrenadante y se dejó secar el tubo de reacción sobre papel.

h. Por último, se agregó 200 µl de solución TE (Tris-HCl 10 mM pH 8, EDTA 1 mM pH 8) a cada tubo y se calentaron a 65° C durante 30 minutos en baño maría y se almacenaron en un enfriador a 4° C.

4.2.2. AMPLIFICACIÓN DE MICROSATÉLITES POR PCR

Se evaluaron 12 marcadores microsatélites (Tabla 1) aislados, caracterizados y reportados por Risterucci *et al.* (2005), mediante la técnica de PCR (reacción en cadena de la polimerasa) en un Termociclador T100™ Thermal Cycler (BIO-RAD, Hercules, USA) siguiendo las especificaciones que se muestran en la Tabla 2.

Tabla 1. Primers de los marcadores microsatélites de *Psidium guajava* L. evaluados en las poblaciones del departamento de Córdoba (Risterucci *et al.* 2005)

Locus	**Primer forward 5'-3'**	**Primer reverse 5'-3'**
mPgCIR03	TTGTGGCTTGATTTCC	TCGTTTAGAGGACATTTCT
mPgCIR04	TTCAGGGTCTATGGCTAC	CAACAAGATACAGCGAACT
mPgCIR07	ATGGAGGTAGGTTGATG	CGTAGTAATCGAAGAAATG
mPgCIR09	GCGTGTCGTATTGTTTC	ATTTTCTTCTGCCTTGTC
mPgCIR11	TGAAAGACAACAAACGAG	TTACACCCACCTAAATAAGA
mPgCIR13	CCTTTTTCCCGACCATTACA	TCGCACTGAGATTTTGTGCT
mPgCIR16	AATACCAGCAACACCAA	CATCCGTCTCTAAACCTC
mPgCIR19	AAAATCCTGAAGACGAAC	TATCAGAGGCTTGCATTA
mPgCIR20	TATACCACACGCTGAAAC	TTCCCCATAAACATCTCT
mPgCIR22	CATAAGGACATTTGAGGAA	AATAAGAAAGCGAGCAGA
mPgCIR23	GTCTATACCTAATGCTCTGG	CCCAGGAAAATCTATCAC
mPgCIR25	GACAATCCAATCTCACTTT	TGTGTCAAGCATACCTTC

Tabla 2. Especificaciones del protocolo de la PCR para la amplificación de los marcadores SSR.

Fase	Temperatura °C	Tiempo	№ de ciclos
Desnaturalización inicial	95°C	3 min.	
Desnaturalización	95°C	30 s	12
anillamiento	61°C-56°C	30 s	
Extensión	72°C	30 s	
Desnaturalización	95°C	30 s	23
anillamiento	56°C	30 s	
Extensión	72°C	30 s	
Extensión final	72 °C	5 min.	

4.2.3. DETECCIÓN DE POLIMORFISMOS

Los productos de amplificación PCR se analizaron en geles desnaturalizantes de poliacrilamida al 8% en una cámara de electroforesis vertical VS20 WAVE Maxi Sistem (Cleaver Scientific); se añadió un marcador de peso molecular con un rango de 50-1000 pb a cada gel para poder determinar el tamaño de los fragmentos amplificados.

Posteriormente los geles fueron revelados sumergiéndolos en Solución Fijadora (10% etanol, 5% ácido acético) durante 20 minutos, luego fueron lavados con abundante agua y sumergidos por 20 minutos en Solución de Tinción (0,15% nitrato de plata), se volvió a hacer el lavado de los geles en agua y seguido se pasaron a Solución Reveladora hasta la observación de bandas (3% hidróxido de sodio, 0,3% formol) y finalmente 20 minutos en solución fijadora.

Los geles se digitalizaron con el Sofware ImageJ 1.46r (Abràmoff *et al*. 2004) y se analizaron los datos obtenidos mediante un modelo exponencial en el software Past 4.10 (Hammer *et al*. 2001) para determinar a partir de los valores de posición de las bandas del marcador de peso molecular el tamaño en pares de bases de los productos amplificados.

4.3. ANÁLISIS DE DATOS

4.3.1. ANÁLISIS DE DIVERSIDAD GENÉTICA

Los parámetros de diversidad: número de alelos (N_a), numero efectivo de alelos (N_e), heterocigosidad observada (H_o), heterocigosidad esperada (H_e), y equilibrio de Hardy-Weinberg (*EHW*) fueron estimados con el programa GenAlEx 6.5 (Peakall & Smouse, 2012).

El contenido de información polimórfica de los marcadores evaluados (PIC) se estimó con el programa Cervus 3.0.7 (Marshall *et al.* 1998); las frecuencias de alelos privados entre las poblaciones se obtuvieron en GenAlEx 6.5 (Peakall & Smouse, 2012).

4.3.2. ANÁLISIS DE ESTRUCTURA POBLACIONAL Y DISTANCIAS GENÉTICAS

Se realizó un Análisis de Varianza Molecular (AMOVA), se determinaron estimaciones de estructura poblacional de Wright y distancia genética propuesta por Nei (D_{NEI}) con el programa GenAlEx 6.5 (Peakall & Smouse, 2012). A partir de las distancias genéticas D_{NEI} se elaboró un dendograma UPGMA con el software Mega11 (Tamura *et al*. 2021). Adicionalmente, se realizó un análisis bayesiano de estructura poblacional con el software Structure 2.3.4 (Pritchard *et al.* 2010). Por último, se elaboró un Análisis de Componentes Principales utilizando el programa Past 4.10 con base en una matriz de distancia genética binaria (Huff *et al.* 1993), donde se toman el total del número de bandas iguales y diferentes entre un par de individuos, esta matriz fue desarrollada en GenAlEX 6.5 (Peakall & Smouse, 2012).

5. RESULTADOS

5.1. AMPLIFICACIÓN DE LOS MARCADORES MICROSATÉLITES

Se analizaron 12 marcadores microsatélites de los cuales nueve fueron amplificados satisfactoriamente, sin embargo, los marcadores *mPgCIR22* y *mPgCIR09* resultaron monomórficos en todas las poblaciones de *Psidium guajava* L. estudiadas por lo que se excluyeron del análisis; los marcadores *mPgCIR03*, *mPgCIR04* y *mPgCIR25* no se lograron amplificar en este estudio.

5.2. DIVERSIDAD GENÉTICA

5.2.1. NÚMERO DE ALELOS (N_A) Y PATRONES ALÉLICOS

Se encontraron un total de 44 alelos en las tres poblaciones de *Psidium guajava* L. estudiadas en el departamento de Córdoba, las frecuencias alélicas y su distribución se presentan en la Tabla 3. En la población de Tierralta se encontraron 26 alelos, entre estos 3 alelos privados o exclusivos de esta población, así como,16 correspondientes a alelos comunes (frecuencia mayor a 0,05) y 10 alelos raros (frecuencia menor o igual a 0,05); en la población de Sahagún 30 alelos fueron encontrados destacándose 7 alelos privados, 26 alelos comunes y 4 alelos raros; en la población de Cereté se reportaron un total de 32 alelos entre estos 4 alelos privados y una proporción de 26 alelos comunes y 6 alelos raros; todos los marcadores microsatélites evaluados presentaron alelos raros (Tabla 3, Tabla 4).

Los marcadores *mPgCIR20* y *mPgCIR13* presentaron el mayor número de alelos (8 alelos), seguidos de los marcadores *mPgCIR07* y *mPgCIR19* (7 alelos), los marcadores *mPgCIR23* y *mPgCIR16* presentaron 5 alelos y el marcador *mPgCIR11* presentó 4 alelos (Tabla 3). Se obtuvo un promedio de 3,7 alelos por *locus* en la población de Tierralta; 4,3 en Sahagún y 4,6 en Cereté (Tabla 5).

Tabla 3. Frecuencias alélicas de los siete marcadores microsatélites evaluados en tres poblaciones de *Psidium guajava* L. de Córdoba.

Locus	**Alelo**	**Tierralta**	**Sahagún**	**Cereté**
mPgCIR11	298	0,984	0,015	0,111
	302	-----	0,868	0,431
	310	-----	-----	0,458
	314	0,016	0,118	-----
mPgCIR07	154	0,031	-----	0,069
	157	0,063	0,697	0,276
	160	0,328	-----	0,017
	164	0,078	0,212	0,207
	168	0,438	0,015	0,431
	176	0,063	-----	-----
	187	-----	0,076	-----
mPgCIR19	249	-----	-----	0,041
	251	-----	-----	0,041
	260	0,878	0,529	0,149
	264	-----	0,176	0,230
	267	-----	0,132	0,338
	270	0,108	0,162	0,081
	278	0,014	-----	0,122
mPgCIR20	266	-----	0,106	-----
	270	0,319	0,470	0,013
	278	0,347	0,212	0,211
	284	0,250	0,212	0,053
	290	0,014	-----	0,368
	297	0,014	-----	0,355
	300	0,042	-----	-----
	305	0,014	-----	-----
mPgCIR23	184	0,379	0,867	-----
	188	0,586	-----	0,461
	195	-----	-----	0,250
	199	0,017	0,133	0,211
	204	0,017	-----	0,079
mPgCIR13	234	-----	0,167	-----
	237	-----	0,061	-----
	240	0,843	0,439	0,079
	242	-----	0,015	-----
	246	0,143	0,076	0,342
	256	0,014	0,152	0,579
	258	-----	0,015	-----
	265	-----	0,076	-----
mPgCIR16	258	-----	0,453	0,171
	264	-----	0,094	0,039
	270	1,000	0,313	0,250
	280	-----	0,078	0,316
	286	-----	0,063	0,224

Tabla 4. Patrones alélicos determinados en las poblaciones de *P. guajava* L. del departamento de Córdoba.

	Tierralta	**Sahagún**	**Cereté**
Numero de alelos (N_a)	26	30	32
Numero efectivo de alelos (N_e)	13,4	17,3	22,9
Alelos privados	3	7	4
Alelos comunes (frecuencia > 0,05)	16	26	26
Alelos raros (frecuencia ≤ 0,05)	10	4	6

5.2.2. CONTENIDO DE INFORMACIÓN POLIMÓRFICA (*PIC*)

El *PIC* de los marcadores microsatélites evaluados fue variable en cada población. Los marcadores *mPgCIR07* y *mPgCIR20* fueron altamente informativos, el marcador *mPgCIR23* medianamente informativo y los marcadores *mPgCIR11*, *mPgCIR19* y *mPgCIR23* poco informativos en la población de Tierralta. En la población de Sahagún los microsatélites *mPgCIR19*, *mPgCIR20*, *mPgCIR13* y *mPgCIR16* fueron altamente informativos, el marcador *mPgCIR07* medianamente informativo y los marcadores *mPgCIR11* y *mPgCIR23* poco informativos.

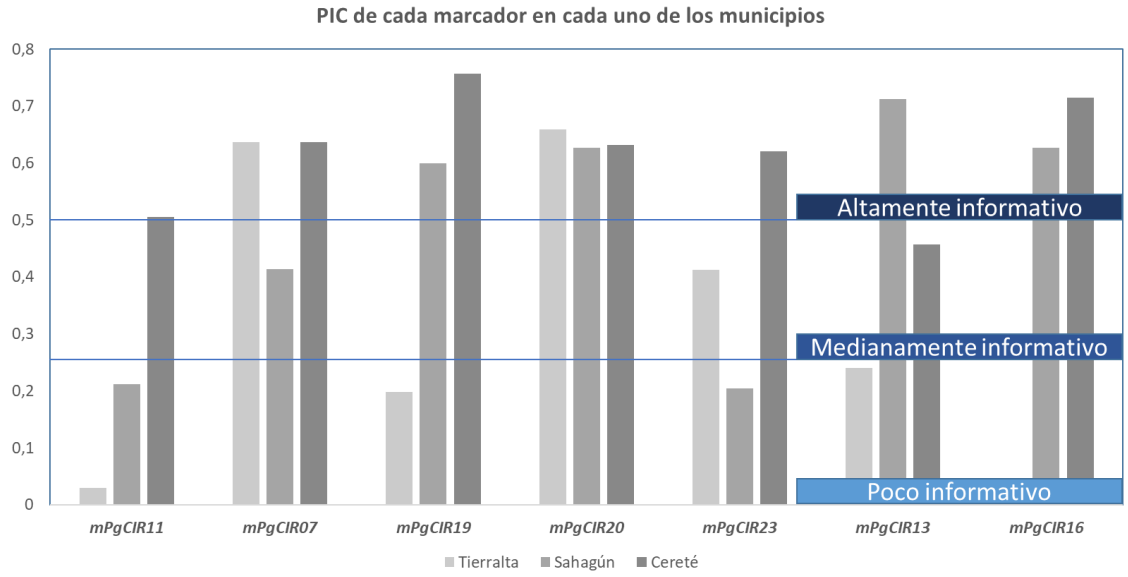


Figura 2: Contenido de información polimórfica (PIC) de cada marcador en cada población de *P. guajava* estudiada.

Por último, en Cereté todos los marcadores fueron altamente informativos a excepción de *mPgCIR13* el cual fue medianamente informativo en la detección de la diversidad genética de *P. guajava* (Figura 2).

5.2.3. HETEROCIGOSIDAD OBSERVADA (*HO*) Y HETEROCIGOSIDAD ESPERADA (*HE*)

En la población de Tierralta los valores de Heterocigosidad observada (*Ho*) presentaron un rango de 0,00 (marcador *mPgCIR16*) a 0,187 (marcador *mPgCIR07*) y un promedio de 0,081; la Heterocigosidad esperada (*He*) estuvo entre 0,00 a 0,686 con una media de 0,347 (Tabla 5), resultados que indican bajos niveles de heterocigosidad. De igual forma, en la población de Sahagún la heterocigosidad fue baja, con una Heterocigosidad observada promedio de 0,179 con valores entre 0,031 y 0,303 y *He* promedio de 0,524 con un valor mínimo de 0,231 encontrado en el marcador *mPgCIR23* y un valor máximo de 0,740 en el marcador *mPgCIR13* (Tabla 5). Estos resultados contrastan con los niveles de heterocigosidad encontrados para Cereté con un valor *Ho* promedio de 0,555 y valores en un rango de 0,395 (*locus mPgCIR13*) a 0,737 (*locus mPgCIR16*). En esta población los valores de *He* estuvieron entre 0,541 para el marcador *mPgCIR13* y 0,786 para el marcador *mPgCIR19* con una media general de 0,676 mostrando una alta diversidad genética en esta población (Tabla 5).

5.2.4. ÍNDICE DE FIJACIÓN (*F*)

En las tres poblaciones estudiadas el Índice de fijación (*F*) tuvo valores promedio de 0,650 en la población de Tierralta, 0,559 en Sahagún y 0,180 para Cereté lo que indicaría un déficit de individuos heterocigotos y un alto número de individuos homocigotos, principalmente en las poblaciones de Tierralta y Sahagún.

5.2.5. EQUILIBRIO DE HARDY-WEINBERG (E_{HW})

El Equilibrio de Hardy-Weinberg permite analizar las variaciones en las frecuencias alélicas de una generación a otra, situaciones de desequilibrio supondrían que las frecuencias alélicas están siendo influenciadas por factores

que favorecen su variación. En la población de *P. guajava* de Tierralta seis loci microsatélites presentaron desequilibrios y el loci *mPgCIR11* se encontró en *Equilibrio* (Tabla 5).

Tabla 5. Parámetros de diversidad genética determinados en las poblaciones de *Psidium guajava* L.

Población	*Locus*	*Na*	*Ho*	*He*	*F*	E_{HW}
	mPgCIR11	2	0,031	0,03	-0,016	0,928^{ns}
	mPgCIR07	6	0,187	0,686	0,727	0,000***
	mPgCIR19	3	0,027	0,216	0,876	0,000***
Tierralta	*mPgCIR20*	7	0,167	0,712	0,767	0,000***
	mPgCIR23	4	0,069	0,512	0,865	0,000***
	mPgCIR13	3	0,086	0,269	0,681	0,000***
	mPgCIR16	1	0	0	-----	
Media		3,7	0,081	0,347	0,650	
	mPgCIR11	3	0,147	0,233	0,369	0,092^{ns}
	mPgCIR07	4	0,091	0,463	0,804	0,000***
	mPgCIR19	4	0,235	0,645	0,635	0,000***
Sahagún	*mPgCIR20*	4	0,303	0,678	0,553	0,000***
	mPgCIR23	2	0,267	0,231	-0,154	0,399^{ns}
	mPgCIR13	8	0,182	0,740	0,754	0,000***
	mPgCIR16	5	0,031	0,678	0,954	0,000***
Media		4,3	0,179	0,524	0,559	
	mPgCIR11	3	0,528	0,592	0,109	0,632^{ns}
	mPgCIR07	5	0,448	0,690	0,350	0,000***
	mPgCIR19	7	0,567	0,786	0,278	0,043*
Cereté	*mPgCIR20*	5	0,579	0,691	0,162	0,396^{ns}
	mPgCIR23	4	0,631	0,675	0,064	0,071^{ns}
	mPgCIR13	3	0,395	0,541	0,271	0,068^{ns}
	mPgCIR16	5	0,737	0,757	0,026	0,026*
Media		4,6	0,555	0,676	0,180	

N_a: Numero de alelos; H_o: Heterocigosidad observada; H_e: Heterocigosidad esperada; *F*: índice de fijación; E_{HW}: Equilíbrio de Hardy-Weinberg (*: P-Valor < 0,05; **: P-Valor < 0,01; ***: P-Valor < 0,001; ns: no significativo).

En la población de Sahagún los marcadores mPgCIR11 y mPgCIR23 se encontraron en equilibrio, los demás marcadores presentaron desequilibrios. En

Cereté los marcadores mPgCIR11, mPgCIR20, mPgCIR23 y mPgCIR13 se encontraron en equilibrio, en contraste con los marcadores mPgCIR17, mPgCIR19 y mPgCIR16 los cuales se mostraron en desequilibrio.

5.3. ESTRUCTURA POBLACIONAL

5.3.1. ESTADÍSTICOS *F DE WRIGHT*

Los parámetros de estructuración poblacional *F de Wright* (1978) y flujo genético (*Nm*) se presentan en la Tabla 6. Para el índice F_{IS} o coeficiente de endogamia tuvo una media de 0,447, lo cual indica un déficit de heterocigotos en las poblaciones de *P. guajava* estudiadas, generado por eventos de endogamia dentro de cada población. En cuanto al índice F_{IT} o índice de fijación conjunto se obtuvo un promedio de 0,612, lo cual muestra altos niveles de homocigosis respecto a la población global. El índice F_{ST} presentó un promedio de 0,271 lo cual según Wright (1978) indica un alto grado de diferenciación genética entre las tres poblaciones de guayaba estudiadas. Los parámetros de estructura poblacional de Wright son influenciados por el apareamiento no-aleatorio y la deriva genética, por lo cual no se interpretan como medidas del flujo genético o intercambio genético entre poblaciones.

5.3.2. FLUJO GENÉTICO

El flujo genético se determinó a través del Número de migrantes (*Nm*), el cual es interpretado como el promedio de individuos que intercambian dos o más poblaciones por generación. Se obtuvo una media de 0,860 lo cual es interpretado como un bajo flujo genético (Tabla 6), esto a su vez concuerda con la alta diferenciación inter-poblacional evidenciada a través del índice de fijación (F_{ST} = 0,271), ya que bajos niveles de flujo génico favorecen la diferenciación genética entre poblaciones.

Tabla 6. Estimación de los parámetros de diferenciación poblacional y flujo genético de las poblaciones de guayabas evaluadas.

Locus	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}	***Nm***
mPgCIR11	0,175	0,638	0,561	0,195
mPgCIR07	0,605	0,678	0,184	1,110
mPgCIR19	0,496	0,588	0,182	1,120
mPgCIR20	0,496	0,563	0,133	1,629
mPgCIR23	0,318	0,528	0,308	0,561
mPgCIR13	0,573	0,682	0,254	0,733
mPgCIR16	0,465	0,610	0,272	0,669
Media	0,447	0,612	0,271	0,860

F_{IS}: Coeficiente de endogamia; F_{IT}: coeficiente de endogamia total; F_{ST}: coeficiente de diferenciación genética entre subpoblaciones; *Nm*: número de migrantes por generación.

5.3.3. ANÁLISIS JERÁRQUICO DE VARIANZA MOLECULAR (*AMOVA*)

A partir del *AMOVA* se logró establecer que el 91% de la variación detectada por los marcadores microsatélites se presentó entre individuos y el porcentaje restante entre poblaciones (7%) y dentro de los individuos (3%), esto permite establecer que en las poblaciones de *P. guajava* de Córdoba es poca la variación presente en cada individuo y a su vez las poblaciones no son muy diferentes en términos moleculares, por tanto estas diferencias se hacen notorias al comparar entre individuos (Tabla 7).

Tabla 7. Análisis de varianza molecular (*AMOVA*) en las poblaciones de *P. guajava* del departamento de Córdoba.

Fuente de variación	**Suma de cuadrados**	**Cuadrados medios**	**Variación estándar**	**Porcentaje de variación**
Entre poblaciones	259340,518	129670,259	1289,833	7%
Entre individuos	3820762,712	36044,931	17760,156	91%
Individuos	57183,500	524,619	524,619	3%
Total	4137286,729		19574,609	100%

R_{ST}= 0,066; *Nm*= 3,544

5.3.4. ANÁLISIS BAYESIANO DE LA ESTRUCTURA POBLACIONAL

El análisis de estructura poblacional de las poblaciones de *Psidium guajava* estudiadas mediante HARVESTER STRUCTURE mostró un DeltaK = 3 como el número de grupos genéticos más probable seguido por K = 2; los mismos resultados se obtuvieron al analizar los datos de los individuos como poblaciones diferentes y como una sola población (Figura 3: A, B).

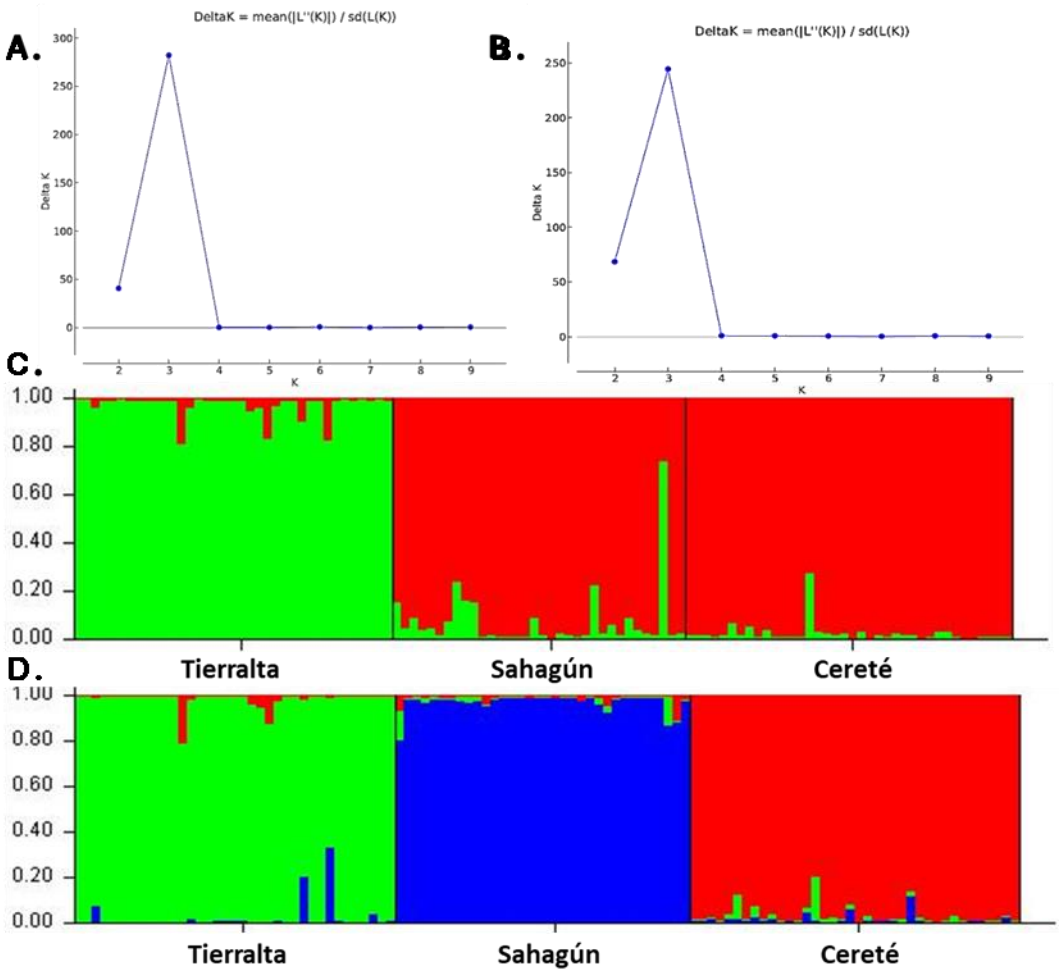


Figura 3: *Análisis bayesiano de estructura genética de las poblaciones de P. guajava mediante Harvester Structure y Structure.* ***A****. Gráfico de DeltaK bajo el criterio de tres poblaciones.* ***B.*** *Gráfico de DeltaK computado bajo el criterio de una población****. C.*** *Estructura genética poblacional para K = 2.* ***D.*** *Estructura genética poblacional para k = 3.*

Los clústeres generados a partir de STRUCTURE muestran la distribución de los grupos genéticos representados con diferentes colores. Para K = 2 se pudo evidenciar que en las poblaciones de Sahagún y Cereté predomina un grupo genético mostrado en color rojo y para la población de Tierralta predomina el otro grupo genético representado en color verde (Figura 3: C). Para K = 3 en cada población predomina un grupo genético diferente lo cual indica un alto grado de separación genética, no obstante, todas las poblaciones comparten en un menor grado la información genética que compone los otros grupos genéticos (Figura 3: D).

5.4. DISTANCIAS GENÉTICAS

5.4.1. DISTANCIA GENÉTICA DE NEI (1987)

Se encontró una alta diferenciación genética entre las tres poblaciones de *P. guajava* estudiadas. Las poblaciones de Cereté y Tierralta fueron las más distantes con un valor de 0,944, seguido de la población de Cereté respecto a la población de Sahagún con un valor de 0,779 y por último las poblaciones de Tierralta y Sahagún presentaron una distancia genética de 0,723 (Figura 4: A). Estas relaciones basadas en las distancias genéticas de Nei se representan gráficamente en el Dendrograma UPGMA (Figura 4: B).

A.

	Tierralta	Sahagún	Cereté
Tierralta	------		
Sahagún	0,723	-------	
Cereté	0,944	0,779	-------

B.

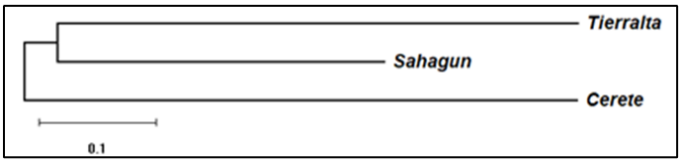


Figura 4: Distancias genéticas entre las poblaciones de *P. guajava* del departamento de Córdoba. **A.** Matriz de distancias genéticas de Nei (1972); **B**. Dendrograma UPGMA elaborado a partir de la distancia genética de *Nei*.

5.4.2. ANÁLISIS DE COORDENADAS PRINCIPALES (*PCoA*)

Utilizando la matriz de distancia genética binaria de Huff *et al*. (1993), se pudo representar gráficamente la distribución de cada individuo de *P. guajava* analizado; en la Figura 5 se evidencia la agrupación de los individuos de cada población y poca interacción entre individuos de poblaciones diferentes, esto es congruente con el análisis bayesiano de estructura genética realizado en Structure (Figura 3) y a su vez con el análisis de distancias genéticas de Nei (Figura 4). Se aprecia la cercanía de algunos individuos de las poblaciones de Tierralta y Sahagún, lo cual se debe a que comparten información genética, por el contrario, los individuos de la población de Cereté se agrupan muy distantes de las otras dos poblaciones.

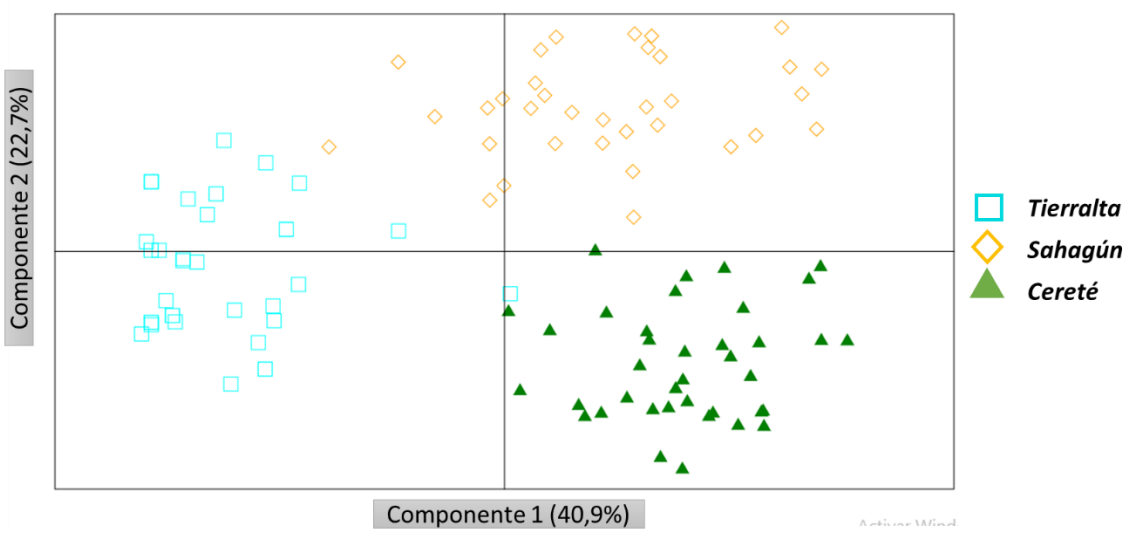


Figura 5: Análisis de coordenadas principales (*PCoA*) basado en la matriz de distancias genéticas binarias de Huff *et al.* (1993), mostrando la distribución espacial de los individuos de las tres poblaciones de *P. guajava* de Córdoba.

6. DISCUSIÓN

En este estudio los marcadores *mPgCIR22* y *mPgCIR09* fueron monomórficos, posiblemente a que en las poblaciones estudiadas se han fijado un número reducido de alelos producto de la deriva genética o endogamia. Por otra parte, la no amplificación de los marcadores *mPgCIR03*, *mPgCIR04* y *mPgCIR25* pudo deberse a mutaciones en los sitios de anclaje de los primers, los sitios de iniciación suelen sufrir cambios en alguna de sus pares de bases por lo que los primers no se unirán a la hebra molde y la PCR no tiene éxito (Valdés-Infante *et al*. 2010).

El número promedio de alelos por marcador fue bajo en comparación con los valores reportados por Sitther *et al*. 2014 en accesiones de guayaba de un banco de germoplasma en Estados Unidos (N_a = 8,9) y Aranguren *et al*. (2010), en 31 accesiones de *Psidium guajava* L. originarias de Venezuela (N_a = 6,94). El alto número de alelos raros y alelos privados encontrados en este estudio son importantes ya que caracterizan y diferencian a cada población; todos los marcadores presentaron alelos raros los cuales son de gran utilidad en programas de mejoramiento genético, selección y conservación (Valdés-Infante *et al*. 2007). El número de alelos comunes dentro de cada población permite inferir un alto grado de información genética compartida, es decir, pueden ser evidencia de la existencia de ancestros o progenitores comunes en cada población.

El contenido de información polimórfica (*PIC*) es un estimativo que permite establecer la utilidad de los marcadores SSR respecto a la detección de variabilidad genética, por lo tanto, en futuros trabajos en las poblaciones de guayaba del departamento de Córdoba se recomienda la utilización de los marcadores *mPgCIR07*, *mPgCIR19* y *mPgCIR16* los cuales fueron altamente informativos en dos poblaciones y el marcador *mPgCIR20* el cual fue altamente informativo en las tres poblaciones analizadas en este estudio (Figura 2). Los marcadores *mPgCIR19* y *mPgCIR16* fueron altamente informativos en el estudio de Mehmood *et al.* (2016) en accesiones de *P. guajava* originarias de Pakistán y

Australia, de igual manera Kherwar *et al*. (2018), detectó un alto polimorfismo en los marcadores *mPgCIR11* y *mPgCIR19* en 36 variedades de guayaba de Nueva Delhi, demostrando la efectividad de estos microsatélites en estudios de diversidad, no obstante, en futuras investigaciones se recomienda la utilización de nuevos marcadores SSR a fin de establecer su efectividad.

Los valores de heterocigosidad encontrados en Tierralta (H_o = 0,081; H_e = 0,347) y Sahagún (H_o = 0,179; H_e = 0,524) fueron similares a los reportados por Diaz (2016) en accesiones de guayaba procedentes de Brasil y México con una heterocigosidad observada de 0,105 y heterocigosidad esperada de 0,337. Los bajos niveles de heterocigosidad en las poblaciones de Tierralta y Sahagún podrían explicarse por eventos de endogamia producto de la selección artificial ya que en plantas cultivadas el manejo de los agricultores contribuye de manera significativa en la pérdida de diversidad genética debido a la selección de líneas puras o variedades que tienden a volverse genéticamente homogéneas y esto puede traer efectos negativos como susceptibilidad a enfermedades y poca capacidad de adaptación a cambios ambientales (FAO, 2020).

En contraste, la alta diversidad que presentó la especie en Cereté (H_o = 0,555; H_e = 0,676) podría deberse al buen manejo de los cultivares por parte de los agricultores mediante la implementación de cultivos con diferentes variedades de guayaba, esta diversidad hace de dicha población un reservorio importante de genes que pueden ser utilizados para la conservación y mejoramiento genético de esta especie, así como para aumentar la variabilidad en las demás poblaciones.

El índice de fijación o coeficiente de endogamia en las poblaciones de Tierralta (F = 0,650), Sahagún (F = 0,559) y Cereté (F = 0,180) fue similar a los valores reportados para poblaciones de *P. guajava* en las islas Isabela, Santa Cruz y San Cristóbal del archipiélago de Galápagos en un estudio realizado por Urquía *et al*. (2019) con valores de 0,621, 0,539 y 0,341 respectivamente, al igual que Mehmood *et al*. (2016) quienes en su estudio encontraron un índice de fijación de 0,845 que indicaría un alto número de individuos homocigotos y alta endogamia.

Los parámetros de estructura poblacional de Wright, evidencian altos niveles de endogamia (F_{IS} = 0,447; F_{IT} = 0,612), lo que podría tomarse como evidencia de que las accesiones estudiadas corresponden a parientes, es decir, individuos que comparten ancestros o progenitores. Esto posiblemente producto de la capacidad de diseminación de parientes en un territorio a través de síndromes de dispersión y la actividad humana (Sanabria *et al*. 2006). Según Chiveu *et al*. (2019), se debe tener en cuenta que la guayaba es una especie con flores hermafroditas lo que aumenta la probabilidad de autofecundación, además el alto número de semillas que poseen los frutos posibilita el desarrollo de un alto número de individuos emparentados en una misma zona. Resultados similares fueron encontrados por Sitther *et al*. (2014), Mehmood *et al.* (2016) y Chiveu *et al*. (2019), quienes detectaron altos coeficientes de consanguinidad de 0,800, 0,854 y 0,511 respectivamente.

Para el índice F_{ST} la diferenciación entre las poblaciones fue alta (Tabla 6), esto podría significar que en cada municipio ha predominado una variedad o ecotipo de guayaba diferente, probablemente debido a la endogamia, la selección artificial y su capacidad de adaptación a las condiciones de cada lugar. El bajo flujo génico detectado en este estudio (N_m = 0,860) es un factor que favorece la diferenciación entre poblaciones haciendo notorios los efectos de la deriva genética y el apareamiento no aleatorio (Hartl, 2020). De igual manera, la prevalencia de un grupo genético diferente en cada población y la agrupación de las accesiones estudiadas según su origen mostradas en el análisis de estructura poblacional en STRUCTURE (Figura 3) y el gráfico de coordenadas principales (Figura 5), soportan la hipótesis del establecimiento de diferentes variedades de guayaba en cada municipio.

Resultados similares fueron evidenciados mediante las distancias genéticas de Nei y en el Dendrograma UPGMA (Figura 4), se observa una mayor cercanía entre las poblaciones de Tierralta y Sahagún, a pesar de que estas están más distantes entre sí y Cereté es más cercano geográficamente al municipio de Sahagún, por

tanto, se deduce que esta distribución de la diversidad genética en las poblaciones de *P. guajava* del departamento de Córdoba no responde a un patrón geográfico.

7. CONCLUSIÓN

La diversidad genética mostró valores bajos de heterocigosidad en las poblaciones de Tierralta y Sahagún y valores altos en la población del municipio de Cereté. La diferenciación genética entre poblaciones fue alta encontrándose un perfil genético característico en cada población. La estructura genética reveló una alta endogamia intra poblacional y un bajo flujo genético inter poblacional contribuyendo a la diferenciación genética de cada municipio. Los marcadores microsatélites: *mPgCIR07, mPgCIR11, mPgCIR13, mPgCIR16, mPgCIR19, mPgCIR20* y *mPgCIR23* fueron eficientes en la detección de variabilidad genética, asimismo, mostraron polimorfismos y un contenido de información polimórfica variable. El alto número de alelos raros permite concluir que los microsatélites son una herramienta útil en la caracterización genética de poblaciones y en la selección de germoplasmas para programas de fitomejoramiento. El municipio de Cereté destaca como un importante reservorio de genes para promover la conservación de la variabilidad genética de la guayaba dulce y la selección de variedades con mejores características agronómicas.

8. RECOMENDACIONES

- Evaluar poblaciones de guayabas dulces presentes en ecotipos diferentes a los estudiados en el presente estudio, como la zona costanera y la región del San Jorge cordobés.
- Emplear los marcadores empleados en el presente trabajo en estudios de diversidad y variabilidad genética, por su alto Índice de Polimorfismos.
- Incrementar el número de marcadores genéticos moleculares necesarios para unas mejores respuestas a problemas asociados a la consanguinidad, banco de germoplasma y genealogías.
- Aplicar una caracterización agromorfológica y bioquímica de los caracteres importantes en la producción agroindustrial para su potencial uso en proyectos de mejoramiento.
- Aprovechar los muestreos de las adquisiciones de las diferentes accesiones para obtener semillas y poder fundar un banco de germoplasma y conservar la biodiversidad de esta especie.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abràmoff, D., Magalhães, P., y Ram, S. J. (2004). Image processing with Image J. Biophotonics international, 11(7): 36-42.

AGRONET (2022). Red de Información y Comunicación del Sector Agropecuario Colombiano. Reporte: Participación Departamental en la Producción y en el Área Cosechada. Recuperado de https://www.agronet.gov.co/estadistica/Paginas/home.aspx?cod=2.

Aguilera-Arango, G. A., Rodríguez-Henao, E., Chaparro-Zambrano, H. N., & Orduz-Rodríguez, J. O. (2020). Estado actual de la investigación para el cultivo de guayaba en Colombia. *Agronomía Mesoamericana*, 31(3), 830-845.

Almirón, N. E., Moreno, E. M., Peichoto, M. C., & Neffa, V. G. S. (2021). Variabilidad y estructura genética de poblaciones de Schizachyrium (Poaceae, Andropogoneae) de la provincia de Corrientes (Argentina). *Bonplandia*, 30(2), 175-190.

Altendorf, S. (2018). MINOR TROPICAL FRUITS Mainstreaming a niche market. En FAO (Ed.). Food Outlook - Biannual Report on Global Food Markets – November (p. 67 -75). Rome: Food & Agriculture Org.

Amín, M. R., Khisa, S., Rahman, H., Shipa, A. S., & Jannat, R. (2019). Abundance and Diversity of Insects on Guava and Foraging Behavior of Pollinators. *Bangladesh Journal of Ecology,* 1, 31-34.

Angulo-López, J. E., Flores-Gallegos, A. C., Torres-León, C., Ramírez-Guzmán, K. N., Martínez, G. A., & Aguilar, C. N. (2021). Guava (*Psidium guajava* L.) Fruit and Valorization of Industrialization By-Products. *Processes*, 9(6), 1075.

Aranguren, Y., Briceño, A., y Fermin, G. (2010). Assessment of the variability of Venezuelan guava landraces by microsatellites. *Acta Horticulturae*, (849): 147-154.

Bui, D.Q., Tran, T.D., Le, H.TM., Nguyen, T.T., & Tran, Y.T.O. (2021). Phenotypic Diversity Assessment of Guava (*Psidium guajava* L.) Collection in Vietnam. *Indian Journal of Agricultural Research*, 55(5), 511-518.

Calabroni, A.I. (2013). Caracterización morfológica de *Psidium guajava* L. (Myrtaceae), “guayaba”. *Rojasiana*, 12(2): 59-64.

Camarena, F., Chura, J.C.H., y Blas, R. (2014). Mejoramiento genético y biotecnológico de plantas. Colección Agrosaber Del Banco Agropecuario. Lima: Imprenta Vannia SAC UNALM.

Carvalho, Y.G., Vitorino, L.C., de Souza, U.J. y Bessa, L.A. (2019). Tendencias recientes en la investigación sobre la diversidad genética de las plantas: implicaciones para la conservación. *Diversidad*, 11(4): 62.

Castaño, C.J.L., y Montes, B.J.C. (2014). Estudio integral de *Psidium guajava* en un sistema silvopastoril en el municipio de turbo Antioquía. Tesis de pregrado. Universidad Nacional abierta y a distancia-UNAD. Turbo. Recuperado de https://repository.unad.edu.co/handle/10596/8569.

Chiveu, J.C., Mueller, M., Krutovsky, K.V., Kehlenbeck, K., Pawelzik, E., y Naumann, M. (2019). Genetic diversity of common guava in Kenya: an underutilized naturalized fruit species. *Fruits*, *74*(5): 236-248.

Cuellar, C.J. (2018). Caracterización morfológica en árboles nativos de guayaba (*Psidium guajava*) en el municipio de Pitalito, Huila Colombia. Tesis de pregrado. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD). 49 pp. Disponible en: https://repository.unad.edu.co/handle/10596/17726.

da Silva, R. W. L., Machado, S. S., de Cassia Faria, K., de Souza, A. P., de Oliveira, F. A., de Menezes, I. P. P., y Silva,, J. M. (2021). Development, Characterization and Genetic Diversity of New Microsatellite Markers for *Dipteryx Alata* Vogel, A Species with Multiple Uses in the Brazilian Cerrado. *Research square.* Preprint https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1687679/v2

Díaz, J.A. (2016). Diversidade e estrutura genética de populações de *Psidium guajava* L. (Myrtaceae) oriundas do Brasil e do México. Tesis de Maestría. Universidad Estatal de Centro-Oeste. Programa de Postgrado en Biología Evolutiva. Gaurapuava, Brasil. 59pp.

Doyle J.J., & Doyle J.L. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemistry Bullet*., 19: 11-15.

FAO. (2020). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Informe sobre el estado de los recursos fitogenéticos del mundo. Consultado: 22 de septiembre de 2020. Recuperado de: http://www.fao.org/home/en/.

Fiore, A.D. (2016). Microsatellite Markers. En Fuentes, A. (Ed.), The International Encyclopedia of Primatology, (p. 1-2). Austin: John Wiley & Sons, Inc.

Flores, J.E.M., Coronado, A.C.M., y Coronado, Y.M. (2008). Microsatélites amplificados al azar (RAM) en estudios de diversidad genética vegetal. *Acta agronómica*, 57(4): 219-226.

Gutiérrez, D.A.A. (2013). Evaluación de la calidad de frutos de guayaba *Psidium guajava*. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Colombia. Palmira. Recuperado de http://www.bdigital.unal.edu.co/12681/1/7508505.2013.pdf.

Guzmán N.G., Sarria S.D., Camacho, J.C. (2012). Fisiología y atributos de calidad de la guayaba “pera” (*Psidium guajava* cv.) en postcosecha. *Revista de Ingeniería*. 37: 26-30.

Hammer, O., Harper, D.A., y Ryan, P.D. (2001). PAST 4.10: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia electronica*, *4*(1): 9.

Hartl, D. L. (2020). A primer of population genetics and genomics. Oxford University Press.

Herrero, J. V. I., Medina, N. N. R., González, L., Palenzuela, J. B. V., Rodríguez, D. R., Martínez, D. G. S., Rodríguez, J. A. R., *et al.* (2012). La biotecnología como herramienta para la propagación, conservación y el mejoramiento genético del guayabo. *Revista Colombiana de Biotecnología*, *14*(2): 7-19.

Huff, D.R., Peakall, R., y Smouse, P.E. (1993). RAPD variation within and among natural populations of outcrossing buffalograss [Buchloe dactyloides (Nutt.) Engelm.]. *Theoretical and Applied Genetics*, *86*(8): 927-934.

Jiménez, J.L., Almanza Pinzón, M.I., y Muñoz Flórez, J.E. (2009). Caracterización morfológica de accesiones silvestres de guayaba. *Acta Agronómica*, 58(2): 79-74.

Kareem, A., Jaskani, M.J., Mehmood, A., Khan, I.A., Awan, F.S., y Sajid, M.W. (2018). Morpho-genetic profiling and phylogenetic relationship of guava (Psidium guajava L.) as genetic resources in Pakistan. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 40(4): 1-11.

Kherwar, D., Usha, K., Mithra, S.A., y Singh, B. (2018). Microsatellite (SSR) marker assisted assessment of population structure and genetic diversity for morpho-physiological traits in guava (*Psidium guajava* L.). *Journal of plant biochemistry and biotechnology,* 27(3): 284-292.

Kumar, C., Kumar, R., Singh, S.K., Goswami, A.K., Nagaraja, A., Paliwal, R., *et al*. (2020) Development of novel g-SSR markers in guava (Psidium guajava L.) cv. Allahabad Safeda and their application in genetic diversity, population structure and cross species transferability studies. *PLoS ONE* 15(8): e0237538.

Kumar, M., Tomar, M., Amarowicz, R., Saurabh, V., Nair, M. S., Maheshwari, C., Singh, S. *et al*. (2021). Guava (*Psidium guajava* L.) leaves: nutritional composition, phytochemical profile, and health-promoting bioactivities. *Foods.* 2021; 10: 752.

Marshall, T. C., Slate, J., Kruuk, L. E., y Pemberton, J. M. (1998). Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Molecular Ecology*, 7(5), 639-655.

Mehmood, A., Luo, S., Ahmad, N. M., Dong, C., Mahmood, T., Sajjad, Y., Sharp, P., *et al*. (2016). Molecular variability and phylogenetic relationships of guava (*Psidium guajava* L.) cultivars using inter-primer binding site (iPBS) and microsatellite (SSR) markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 63(8):1345-1361.

Méndez, S., Soria, M. E., Palacios, E., Andrade, O., Bustamante, J., Pesantez, J. L., Vallecillo, A. J*., et al*. (2020). Parámetros de variabilidad genética de bovinos certificados de la raza holstein del cantón cuenca, ecuador. *Chilean journal of agricultural & animal sciences*, 36(1), 63-68.

Mitra, S.K., Irenaeus, T.K.S., Gurung, M.R., y Pathak, P.K. (2012). Taxonomy and importance of Myrtaceae. *Acta horticultural*, 959: 23-34.

Nei, M. (1972). Genetic distance between populations. *The American Naturalist*, 106(949), 283-292.

Nei, M. (1978). Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics,* 89(3), 583-590.

Pardo-Pérez, E., Coronado-González, J. L., & Begambre-Hernández, M. (2021). Comparación de dos métodos de extracción de ADN a partir de hojas secas de guayaba (*Psidium guajava* L.) para estudios moleculares. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica*, 24(1).

Peakall, R. & Smouse, P. (2012). GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research an update. *Bioinformatics*, 28: 2537-2539.

Pritchard, J.K., Stephens, M., & Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics,* 155(2), 945-959.

Pritchard, J.K., Wen, X., & Falush, D. (2010). Documentation for structure software: Version 2.3. Chicago: University of Chicago.

Quintos-Cortes, M. G., Fernández-Lozada, O. F., Daniel-Petroli, C., Barrozo-Toledo, F. H., Romero-Cortes, T., Cuervo-Parra, J. A. y Peralta-Gil, M. (2021). Desarrollo de marcadores moleculares de alto rendimiento y análisis de datos genotípicos en plataformas de avanzada. *Exploratoris: Revista de la Realidad Global.*10(1): 1 – 9.

Risterucci, A.M., Duval, M.F., Rohde, W., Billotte, N. (2005). Isolation and characterization of microsatellite loci from *Psidium guajava* L. *Molecular Ecology Notes,* 5(4): 745-748.

Rodríguez, N., Valdés-Infante, J., Becker, D., Velázquez, B., González, G., Sourd, D., Rodríguez, N. Billotte, A.M. Risterucci, Ritter E. y Rohde, W. (2007). Characterization of guava accessions by SSR markers, extension of the molecular linkage map, and mapping of QTLs for vegetative and reproductive characters. *Acta horticultural,* 735: 201-216.

Rueda, A., Muñoz, J.E., Saavedra, R., Palacio, J.D., y Bravo, E. (2006). Caracterización molecular del banco de germoplasma de guayaba *Psidium* spp. del Centro de Investigación de Corpoica, Palmira. *Fitotecnia Colombiana*, 6(2): 26-32.

Saddoud-Debbabi, O., Rahmani-Mnasri, S., Ben-Amar, F., Naceur, B., Montemurro, C., y Miazzi, M. M. (2021). Applications of microsatellite markers for the characterization of olive genetic resources of Tunisia. *Genes,* 12(2), 286.

Sanabria, H.L., García, M.A., Muñoz, J.E., y Díaz, H.A. (2006). Caracterización molecular con marcadores RAM de árboles nativos de *Psidium guajava* (guayaba) en el Valle del Cauca. *Acta Agronómica*, 55(1): 23-30.

Sitther, V., Zhang D., Harris, D.L., Yadav, A.K., Zee, F.T., Meinhardt, L.W., Dhekney, S.A. (2014). Genetic characterization of guava (*Psidium guajava* L.) germplasm in the United States using microsatellite markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 61(4): 829-839.

Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S. (2021). MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Molecular biology and evolution,* 38(7), 3022-3027.

Urquía, D., Gutiérrez, B., Pozo, G., Pozo, M.J., Espín, A., De Lourdes, M. (2019). *Psidium guajava* in the Galapagos Islands: population genetics and history of an invasive species. *PloS ONE* 14(3): e0203737.

Valderrama, M.L.C., y Guchuvo, P.N.E. (2015). Clasificación morfo-agronómica de los árboles y arbustos de guayabo (*Psidium guajava*) ubicados en el centro de investigación agropecuaria "granja la esperanza", universidad de Cundinamarca y hospital San Rafael. Tesis de pregrado. Universidad de Cundinamarca. Fusagasugá. Recuperado de http://repositorio.ucundinamarca.edu.co/bitstream/handle/20.500.12558/1465/Tesis.pdf?sequence=3&isAllowed=y.

Valdés-Infante J., Rodríguez N.N., Becker D., Velázquez B., Sourd D., Espinosa G., y Rohde W. (2007). Microsatellite characterization of guava (*Psidium guajava* L.) germplasm collection in Cuba. *Cultivos Tropicales*, 28(3): 61-67.

Valdés-Infante J., Medina R., Nerdo N., Bautista M., Ortíz M.M., Quiroz A., Rohde W. *et al.* (2010). Microsatélites desarrollados en guayabo (*Psidium guajava* L.) y su utilidad para evaluar diversidad en la familia Myrtaceae. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 12(1): 64-76.

Valera-Montero, L.L., Muñoz-Rodríguez, P.J., Silos-Espino, H., y Flores-Benítez, S. (2017). Genetic diversity of guava (*Psidium guajava* L.) from Central Mexico revealed by morphological and RAPD markers. Phyton, *International Journal of Experimental Botany*, 85(1): 176-183.

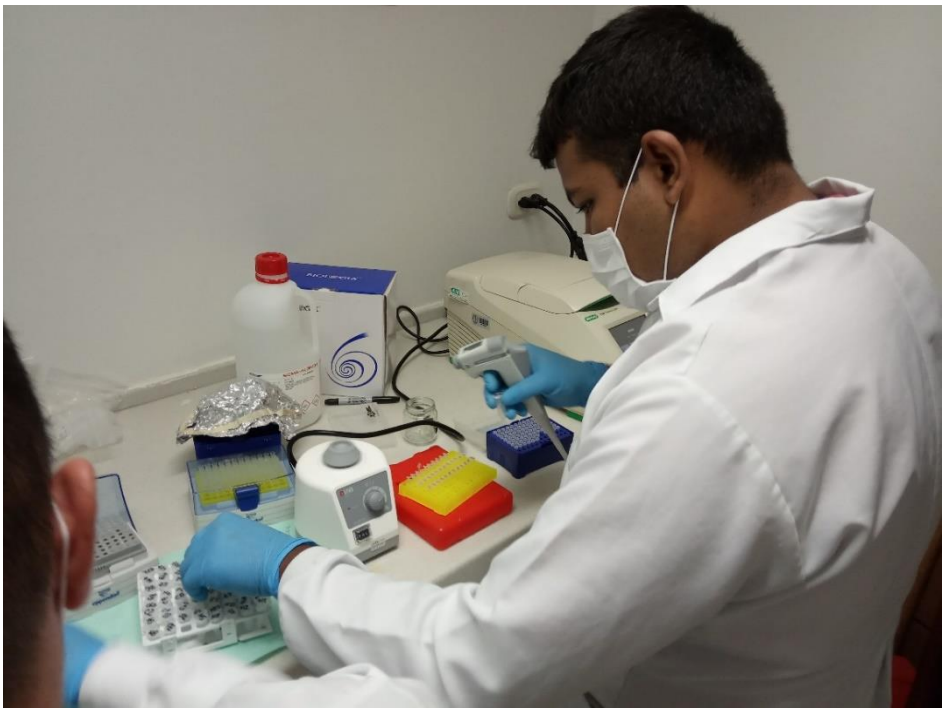
Velasco-Arango, V. A., Bernal-Martínez, A. A., Ordóñez-Santos, L. E., & Hleap-Zapata, J. L. (2020). Caracterización del epicarpio de guayaba (*Psidium guajava* L.) como alternativa natural para uso en productos alimenticios procesados. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 18(2), 26-35.

Wright, S. 1978. Evolution and the Genetics of Populations, vol. 4, Variabiliiy Within and Among Natural Populations. University of Chicago Press, Chicago.

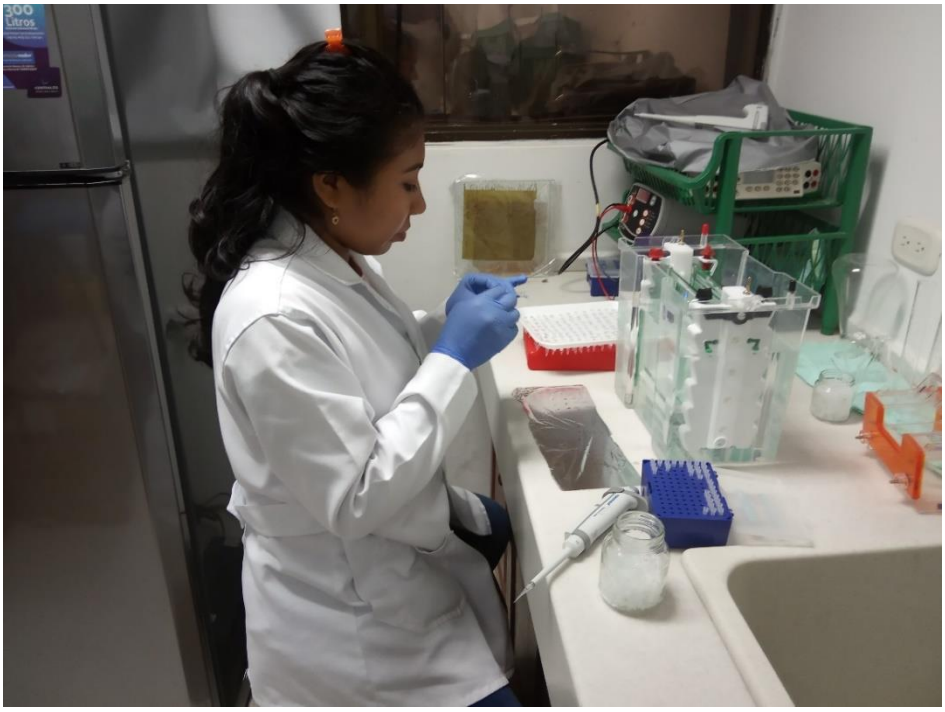
10. ANEXOS

Anexo 1. Ejemplares muestreados a lo largo de los tres municipios evaluados: Tierralta, Cerete y Sahagún.

Anexo 2. Trabajo en el laboratorio

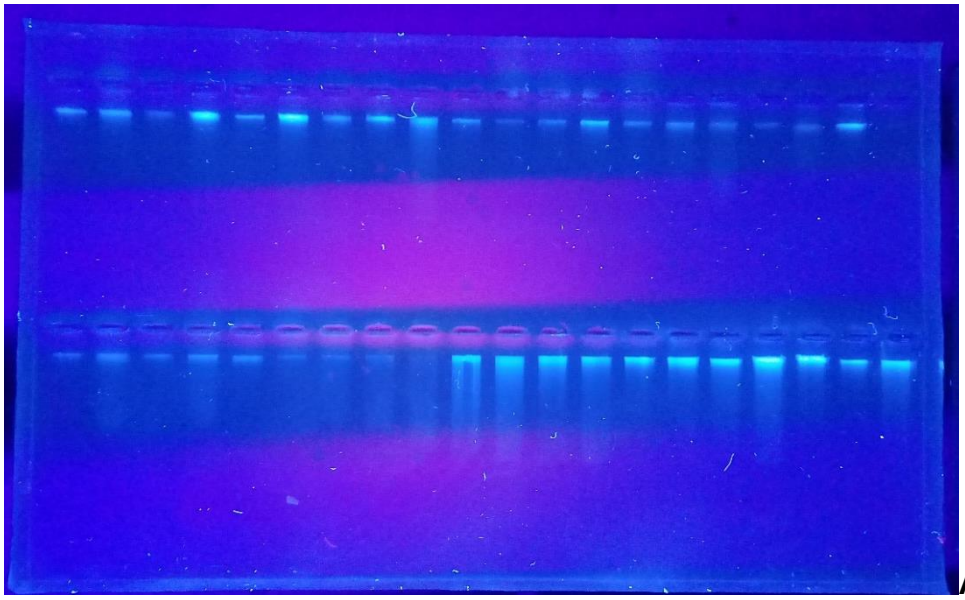


A. Realización de la PCR

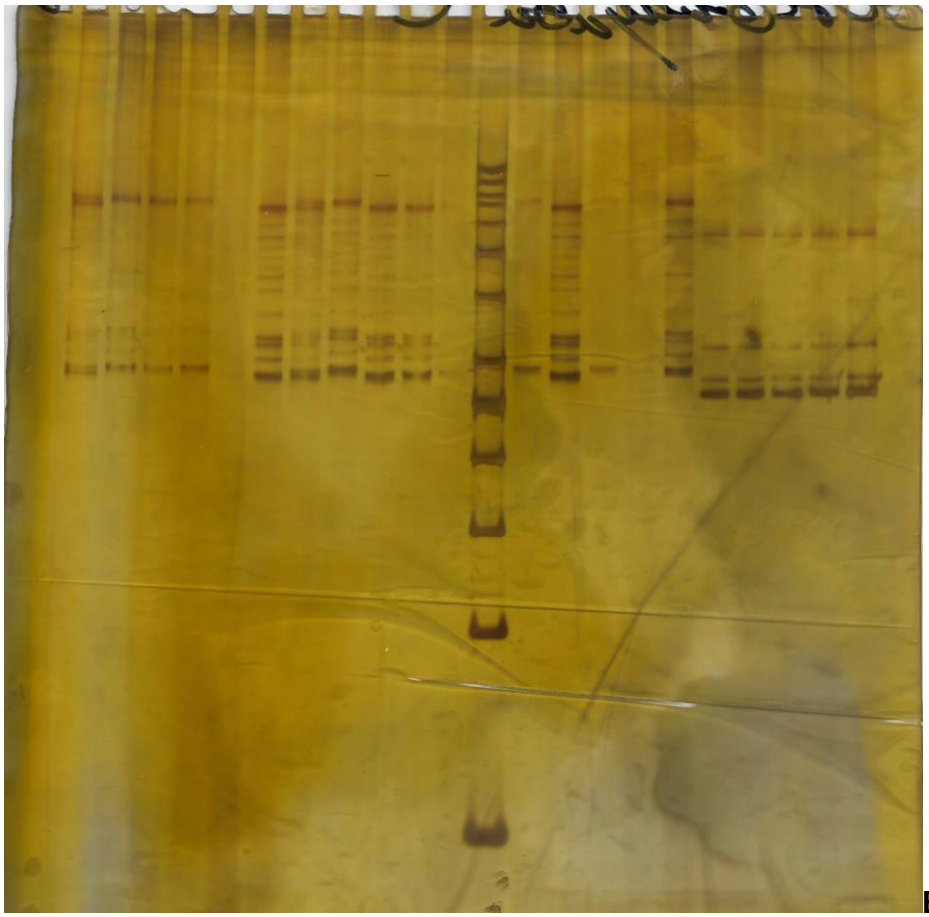


B. Preparativo de Geles de Poliacrilamida

Anexo 3. Geles de agarosa (**A**) empleados en determinar la presencia de ADN luego de la extracción y gel de poliacrilamida (**B**) resultado de la revisión de los amplicones.



A.



B.

Anexo 4. Tamaño en pares de bases de los productos amplificados para la población de guayabas de Tierralta.

SITE	mPgCIR11		mPgCIR07		mPgCIR19		mPgCIR20		mPgCIR23		mPgCIR13		mPgCIR16	
Tierralta	298	298	160	160	260	260	284	300	0	0	240	240	270	270
Tierralta	298	298	160	167	260	260	284	284	188	188	240	240	270	270
Tierralta	298	314	164	164	260	260	284	302	188	188	240	240	270	270
Tierralta	298	298	164	176	260	260	284	284	188	188	240	240	270	270
Tierralta	298	298	164	176	260	260	284	284	188	188	240	240	270	270
Tierralta	298	298	160	176	260	260	284	284	0	0	240	240	270	270
Tierralta	0	0	164	167	260	260	284	284	188	188	240	240	270	270
Tierralta	298	298	167	167	270	270	284	284	188	188	240	240	270	270
Tierralta	298	298	167	167	270	270	284	284	0	0	240	240	270	270
Palmira	298	298	167	167	270	270	284	284	188	188	240	240	270	270
Palmira	298	298	167	167	270	270	270	270	188	188	240	240	270	270
Palmira	298	298	167	167	260	260	270	270	188	188	240	240	270	270
Palmira	298	298	167	167	260	260	270	290	188	188	240	255	270	270
Palmira	298	298	167	167	260	260	270	270	188	198	240	240	270	270
Palmira	298	298	167	167	260	260	270	270	188	188	242	242	270	270
Palmira	298	0	167	167	260	260	270	270	188	188	242	242	270	270
Palmira	0	0	167	167	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Santa Mar	298	298	167	167	260	260	270	270	185	185	245	245	270	270
Santa Mar	298	298	167	167	260	260	270	270	185	185	245	245	270	270
Santa Mar	298	298	167	167	260	260	270	270	185	185	245	245	270	270
Santa Mar	298	298	167	167	260	260	270	270	185	185	245	245	270	270
Santa Mar	0	0	160	160	260	278	270	270	188	188	240	240	270	270
Santa Mar	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	270	270
Santa Mar	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Frasquillo	298	298	160	160	260	260	280	297	188	188	240	240	270	270
Frasquillo	298	298	154	154	260	260	270	270	188	201	240	240	270	270
Frasquillo	0	0	0	0	260	260	280	280	188	188	0	0	0	0
Frasquillo	298	298	0	0	260	260	280	280	188	188	240	240	270	270
Frasquillo	298	298	0	0	260	260	280	280	0	0	240	240	270	270
Frasquillo	298	298	157	157	260	260	280	280	0	0	240	240	270	270
Frasquillo	298	298	160	176	260	260	280	300	185	185	240	245	270	270
Frasquillo	298	298	160	160	260	260	280	280	0	0	240	245	270	270
Morales	298	298	157	157	260	260	280	305	185	185	240	240	270	270
Morales	298	298	160	160	260	260	280	280	185	185	240	240	0	0
Morales	298	298	160	160	260	260	280	280	185	185	240	240	270	270
Morales	298	298	160	160	260	260	0	0	0	0	0	0	0	0
Morales	298	298	160	160	260	260	280	280	0	0	240	240	270	270
Morales	0	0	0	0	260	260	280	280	185	185	240	240	270	270
Morales	298	298	160	160	260	260	280	280	185	185	240	240	270	270
Morales	298	298	0	0	260	260	280	280	185	185	240	240	270	270

Anexo 5. Tamaño en pares de bases de los productos amplificados para la población de guayabas de Sahagún.

SITE	mPgCIR11		mPgCIR07		mPgCIR19		mPgCIR20		mPgCIR23		mPgCIR13		mPgCIR16	
Arenas de	298	302	157	157	260	270	272	278	185	198	254	254	270	270
Arenas de	302	302	157	157	260	260	272	278	185	198	240	254	0	0
Arenas de	302	302	157	157	267	267	272	272	185	185	240	240	270	270
Arenas de	302	302	157	157	260	260	266	266	185	185	248	248	270	270
Arenas de	302	302	157	157	260	270	266	266	185	185	240	257	270	270
Arenas de	302	302	157	157	260	267	266	266	185	185	244	257	270	270
Arenas de	302	302	157	157	260	260	272	272	185	185	240	240	280	280
Arenas de	302	302	157	157	260	260	266	272	185	185	240	240	270	270
Arenas de	302	302	157	157	260	260	272	272	0	0	240	257	270	270
El Congo	302	302	157	157	264	270	278	278	185	185	240	240	270	270
El Congo	314	314	157	157	267	267	278	278	185	185	246	246	261	261
El Congo	302	302	157	157	260	260	272	272	185	185	237	237	286	286
El Congo	302	302	157	157	270	270	272	272	185	198	234	234	261	261
El Congo	302	302	157	157	270	270	272	272	185	185	234	234	258	258
El Congo	302	302	157	157	267	267	284	284	185	185	234	234	261	261
El Congo	302	302	157	157	267	267	284	284	0	0	234	234	258	258
El Congo	302	302	157	157	260	260	284	284	185	185	240	240	258	258
El Congo	302	314	157	157	264	264	284	284	185	198	240	240	261	261
Los Amari	302	302	157	157	264	264	272	272	185	198	234	247	261	261
Los Amari	302	302	157	157	260	260	272	284	185	185	0	0	258	258
Los Amari	302	302	157	157	260	260	272	272	185	185	237	237	264	264
Los Amari	302	302	157	157	260	270	0	0	0	0	234	234	280	280
Los Amari	302	302	157	157	260	260	272	278	185	185	254	265	258	258
Pisa Flore	302	302	163	163	260	260	276	276	185	198	240	240	0	0
Pisa Flore	302	314	168	187	260	260	272	272	185	185	265	265	286	286
Pisa Flore	314	314	187	187	260	270	272	272	185	185	258	258	270	270
Pisa Flore	302	302	163	163	260	270	272	284	185	185	265	265	258	258
Pisa Flore	302	302	163	187	260	260	272	284	185	185	240	240	258	280
Trementir	302	314	0	0	264	264	272	284	185	185	240	240	258	258
Trementir	302	302	163	163	264	264	272	284	185	185	240	240	258	258
Trementir	302	302	163	187	264	270	272	272	185	198	240	240	258	258
Trementir	302	314	163	163	260	260	276	276	185	185	240	240	270	270
Trementir	302	302	163	163	260	260	276	284	0	0	258	258	264	264
Trementir	302	302	163	163	264	264	276	276	184	198	240	240	264	264

Anexo 6. Tamaño en pares de bases de los productos amplificados para la población de guayabas de Cereté.

Población	mPgCIR 11		mPgCIR 7		mPgCIR 19		mPgCIR 20		mPgCIR 23		mPgCIR 13		mPgCIR 16	
Cereté	310	301	166	166	258	263	295	289	195	189	256	252	269	258
Cereté	310	301	0	0	269	269	289	289	191	195	249	249	269	278
Cereté	301	301	166	166	258	263	295	289	189	191	0	0	258	258
Cereté	310	310	0	0	249	251	295	289	199	204	249	249	0	0
Cereté	310	301	0	0	258	269	277	285	199	191	256	252	284	278
Cereté	301	299	157	157	258	269	277	285	199	191	256	252	284	278
Cereté	301	299	151	151	266	263	295	289	199	204	239	239	269	278
Cereté	301	301	151	151	266	263	295	289	199	189	252	249	0	0
Cereté	0	0	0	0	279	269	289	295	204	191	259	239	269	258
Cereté	301	301	166	166	266	263	289	277	0	0	256	252	256	264
Cereté	299	301	169	157	258	263	295	289	199	199	252	256	269	258
Cereté	310	310	0	0	279	275	277	289	191	195	252	252	0	0
Cereté	0	0	162	166	263	263	285	289	204	191	256	249	284	264
Cereté	310	304	166	166	266	263	277	289	199	191	259	249	284	278
Cereté	301	301	166	166	0	0	295	289	195	195	252	252	278	269
Cereté	0	0	169	157	0	0	289	289	195	195	256	252	272	260
Cereté	0	0	0	0	0	0	295	289	0	0	256	252	266	251
Cereté	299	299	162	166	266	266	295	289	0	0	249	239	260	242
Cereté	0	0	166	166	266	269	277	285	195	191	256	256	269	269
Cereté	301	301	166	166	266	272	0	0	195	195	256	252	278	278
Cereté	301	301	169	157	266	275	295	289	195	195	256	252	278	269
Cereté	301	301	172	148	266	278	0	0	0	0	256	252	269	269
Cereté	310	310	175	139	263	263	289	295	204	199	0	0	284	278
Cereté	0	0	178	130	266	263	289	277	0	0	249	249	278	278
Cereté	0	0	181	121	258	263	295	289	195	195	252	249	278	269
Cereté	0	0	184	112	279	275	277	289	191	191	252	249	269	269
Cereté	310	310	187	103	258	258	285	289	191	195	0	0	269	256
Cereté	310	301	157	157	266	266	277	289	195	195	0	0	284	278
Cereté	299	310	157	162	266	266	295	295	195	191	252	249	0	0
Cereté	310	301	157	157	266	266	0	0	191	191	249	249	284	284
Cereté	299	310	157	162	266	266	0	0	0	0	252	249	258	258
Cereté	310	304	166	166	266	266	289	295	191	191	256	252	269	256
Cereté	310	304	0	0	263	263	0	0	191	199	249	239	256	258
Cereté	310	301	162	157	279	275	277	285	199	191	252	249	269	278
Cereté	310	301	184	112	266	263	289	295	199	191	249	249	288	278
Cereté	310	301	187	103	279	266	295	295	195	189	256	252	284	278
Cereté	299	310	157	157	266	263	289	295	191	191	259	249	278	284

Anexo 7. Formato de salida del análisis de diversidad y estructura poblacional de Wright de la extensión para Excel GenAIEx.

Heterozygosity, Fstatistics and Polymorphism by Population for Codominant Data									
Data Sheet	Hoja1								
Data Title	Guayaba Córdoba								
No. Loci	7								
No. Samples	109								
No. Pops.	3								
Sample Size, No. Alleles, No. Effective Alleles, Information Index, Observed Heterozygosity, Expected and Unbiased Expected Hete									
Pop	**Locus**	**N**	**Na**	**Ne**	**I**	**Ho**	**He**	**uHe**	**F**
Tierralta	**mPgCIR11**	32	2,000	1,032	0,080	0,031	0,031	0,031	-0,016
	mPgCIR07	32	6,000	3,185	1,381	0,188	0,686	0,697	0,727
	mPgCIR19	37	3,000	1,276	0,413	0,027	0,217	0,220	0,875
	mPgCIR20	36	7,000	3,479	1,389	0,167	0,713	0,723	0,766
	mPgCIR23	29	4,000	2,049	0,821	0,069	0,512	0,521	0,865
	mPgCIR13	35	3,000	1,368	0,483	0,086	0,269	0,273	0,681
	mPgCIR16	34	1,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000	#N/A
Sahagun	**mPgCIR11**	34	3,000	1,304	0,437	0,147	0,233	0,237	0,369
	mPgCIR07	33	4,000	1,863	0,839	0,091	0,463	0,470	0,804
	mPgCIR19	34	4,000	2,816	1,205	0,235	0,645	0,655	0,635
	mPgCIR20	33	4,000	3,107	1,251	0,303	0,678	0,689	0,553
	mPgCIR23	30	2,000	1,301	0,393	0,267	0,231	0,235	-0,154
	mPgCIR13	33	8,000	3,855	1,634	0,182	0,741	0,752	0,754
	mPgCIR16	32	5,000	3,108	1,317	0,031	0,678	0,689	0,954
Cereté	**mPgCIR11**	36	3,000	2,452	0,965	0,528	0,592	0,601	0,109
	mPgCIR07	29	5,000	3,228	1,298	0,448	0,690	0,702	0,351
	mPgCIR19	37	7,000	4,680	1,708	0,568	0,786	0,797	0,278
	mPgCIR20	38	5,000	3,234	1,276	0,579	0,691	0,700	0,162
	mPgCIR23	38	4,000	3,076	1,232	0,632	0,675	0,684	0,064
	mPgCIR13	38	3,000	2,181	0,884	0,395	0,542	0,549	0,271
	mPgCIR16	38	5,000	4,114	1,475	0,737	0,757	0,767	0,027
Mean and SE over Loci for each Pop									
Pop		**N**	**Na**	**Ne**	**I**	**Ho**	**He**	**uHe**	**F**
Tierralta	**Mean**	33,571	3,714	1,913	0,652	0,081	0,347	0,352	0,650
	SE	1,043	0,808	0,390	0,215	0,027	0,111	0,113	0,127
Sahagun	**Mean**	32,714	4,286	2,479	1,011	0,179	0,524	0,532	0,559
	SE	0,522	0,714	0,376	0,177	0,037	0,082	0,083	0,138
Cereté	**Mean**	36,286	4,571	3,281	1,262	0,555	0,676	0,686	0,180
	SE	1,248	0,528	0,331	0,107	0,043	0,032	0,033	0,046
Grand Mean and SE over Loci and Pops									
		N	**Na**	**Ne**	**I**	**Ho**	**He**	**uHe**	**F**
Total	**Mean**	34,190	4,190	2,558	0,975	0,272	0,516	0,523	0,454
	SE	0,639	0,388	0,237	0,110	0,050	0,054	0,055	0,076
F-Statistics and Estimates of Nm over All Pops for each Locus									
All Pops.	**Locus**	**Fis**	**Fit**	**Fst**		**Nm**			
	mPgCIR11	0,175	0,638	0,561		0,195			
	mPgCIR07	0,605	0,678	0,184		1,110			
	mPgCIR19	0,496	0,588	0,182		1,120			
	mPgCIR20	0,496	0,563	0,133		1,629			
	mPgCIR23	0,318	0,528	0,308		0,561			
	mPgCIR13	0,573	0,682	0,254		0,733			
	mPgCIR16	0,465	0,610	0,272		0,669			
	Mean	0,447	0,612	0,271		0,860			
	SE	0,057	0,022	0,054		0,176			
Percentage of Polymorphic Loci									

Anexo 8. Lista de alelos privados presentes en las tres poblaciones

Data Sheet	Hoja1		
Data Title	Guayaba Córdoba		
No. Loci	7		
No. Samples	109		
No. Pops.	3		
Pop	**Locus**	**Allele**	**Freq**
Tierralta	mPgCIR07	176	0,063
Tierralta	mPgCIR20	300	0,042
Tierralta	mPgCIR20	305	0,014
Sahagun	mPgCIR07	187	0,076
Sahagun	mPgCIR20	266	0,106
Sahagun	mPgCIR13	234	0,167
Sahagun	mPgCIR13	237	0,061
Sahagun	mPgCIR13	242	0,015
Sahagun	mPgCIR13	258	0,015
Sahagun	mPgCIR13	265	0,076
Cereté	mPgCIR11	310	0,458
Cereté	mPgCIR19	249	0,041
Cereté	mPgCIR19	251	0,041
Cereté	mPgCIR23	195	0,250

Anexo 9. Resultados para el test de equilibrio de Hardy – Weinberg.

Summary of Chi-Square Tests for Hardy-Weinberg Equilibrium					
Data Sheet	Hoja1				
Data Title	Guayaba Córdoba				
No. Loci	7				
No. Samples	109				
No. Pops.	3				
Pop	**Locus**	**DF**	**ChiSq**	**Prob**	**Signif**
Tierralta	mPgCIR11	1	0,008	0,928	ns
Tierralta	mPgCIR07	15	104,636	0,000	***
Tierralta	mPgCIR19	3	37,009	0,000	***
Tierralta	mPgCIR20	21	68,444	0,000	***
Tierralta	mPgCIR23	6	29,100	0,000	***
Tierralta	mPgCIR13	3	20,592	0,000	***
Tierralta	mPgCIR16	Monomorphic			
Sahagun	mPgCIR11	3	6,439	0,092	ns
Sahagun	mPgCIR07	6	46,496	0,000	***
Sahagun	mPgCIR19	6	51,146	0,000	***
Sahagun	mPgCIR20	6	41,289	0,000	***
Sahagun	mPgCIR23	1	0,710	0,399	ns
Sahagun	mPgCIR13	28	120,224	0,000	***
Sahagun	mPgCIR16	10	114,753	0,000	***
Cereté	mPgCIR11	3	1,722	0,632	ns
Cereté	mPgCIR07	10	38,705	0,000	***
Cereté	mPgCIR19	21	33,282	0,043	*
Cereté	mPgCIR20	10	10,515	0,397	ns
Cereté	mPgCIR23	6	11,613	0,071	ns
Cereté	mPgCIR13	3	7,127	0,068	ns
Cereté	mPgCIR16	10	20,415	0,026	*
Key: ns=not significant, * P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001					

Anexo 10. Formato de salida y resultados PIC obtenidos mediante el programa Cervus 3.0.7. para las poblaciones evaluadas.

A. Sahagún

```
Cervus 3.0.7 - (c) Copyright Tristan Marshall 1998-2014
Distributed by Field Genetics Ltd - www.fieldgenetics.com
Licensed for non-commercial use only

Allele frequency analysis completed 21/07/2020 1:36:33 p. m.


**** Summary statistics ****
```

Locus	k	N	HObs	HExp	PIC	NE-1P	NE-2P	NE-PP	NE-I	NE-SI	HW	F(Null)
mPgCIR11	3	34	0.147	0.237	0.212	0.973	0.890	0.809	0.609	0.786	ND	0.2236
mPgCIR07	4	33	0.091	0.470	0.413	0.891	0.758	0.617	0.338	0.603	ND	0.6982
mPgCIR19	4	34	0.235	0.655	0.599	0.768	0.596	0.413	0.172	0.470	**	0.4646
mPgCIR20	4	33	0.303	0.689	0.627	0.743	0.573	0.395	0.154	0.450	NS	0.3715
mPgCIR23	2	30	0.267	0.235	0.204	0.973	0.898	0.826	0.618	0.789	ND	-0.0672
mPgCIR13	8	33	0.182	0.752	0.712	0.643	0.459	0.259	0.096	0.404	***	0.6098
mPgCIR16	5	32	0.031	0.689	0.627	0.735	0.567	0.385	0.155	0.450	***	0.9120

B. Cereté.

```
Cervus 3.0.7 - (c) Copyright Tristan Marshall 1998-2014
Distributed by Field Genetics Ltd - www.fieldgenetics.com
Licensed for non-commercial use only

Allele frequency analysis completed 21/07/2020 1:37:23 p. m.


**** Summary statistics ****
```

Locus	k	N	HObs	HExp	PIC	NE-1P	NE-2P	NE-PP	NE-I	NE-SI	HW	F(Null)
mPgCIR11	3	36	0.528	0.601	0.505	0.825	0.701	0.561	0.254	0.517	NS	0.0551
mPgCIR07	5	29	0.448	0.702	0.636	0.733	0.565	0.390	0.150	0.442	NS	0.2095
mPgCIR19	7	37	0.568	0.797	0.757	0.587	0.408	0.222	0.075	0.376	ND	0.1630
mPgCIR20	5	38	0.579	0.700	0.632	0.737	0.574	0.405	0.155	0.443	NS	0.0858
mPgCIR23	4	38	0.632	0.684	0.620	0.749	0.583	0.410	0.161	0.453	NS	0.0206
mPgCIR13	3	38	0.395	0.549	0.457	0.853	0.737	0.603	0.294	0.553	NS	0.1643
mPgCIR16	5	38	0.737	0.767	0.715	0.652	0.475	0.296	0.101	0.397	ND	0.0059

C. Tierralta

```
Cervus 3.0.7 - (c) Copyright Tristan Marshall 1998-2014
Distributed by Field Genetics Ltd - www.fieldgenetics.com
Licensed for non-commercial use only

Allele frequency analysis completed 21/07/2020 1:42:49 p. m.


**** Summary statistics ****
```

Locus	k	N	HObs	HExp	PIC	NE-1P	NE-2P	NE-PP	NE-I	NE-SI	HW	F(Null)
zz11	2	33	0.030	0.030	0.029	1.000	0.985	0.971	0.942	0.970	ND	-0.0020
zz07	6	32	0.188	0.697	0.636	0.723	0.555	0.369	0.149	0.444	***	0.5827
zz19	3	37	0.027	0.220	0.198	0.977	0.897	0.820	0.632	0.800	ND	0.7505
zz20	7	36	0.167	0.723	0.659	0.710	0.542	0.368	0.136	0.428	ND	0.6325
zz23	4	29	0.069	0.521	0.412	0.868	0.775	0.659	0.338	0.578	ND	0.7692
zz13	3	35	0.086	0.273	0.240	0.964	0.876	0.789	0.564	0.756	ND	0.5145
zz16	1	34	0.000	0.000	0.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	ND	ND