

**DIVERSIDAD GENÉTICA Y ESTRUCTURA POBLACIONAL DE
GUAYABA (*Psidium guajava* L.) EN TIERRALTA, CÓRDOBA-
COLOMBIA UTILIZANDO MARCADORES MICROSATÉLITES.**

**Genetic diversity and population structure of guava (*Psidium guajava* L.) in
Tierralta, Córdoba-Colombia using microsatellite markers.**

María Gutiérrez H.¹

¹Universidad de Córdoba, Facultad de Ciencias Básicas. Departamento
de Biología. Laboratorio de Genética. Car. 6ª N° 76-103, Montería,
Córdoba, Colombia.

*correspondencia: maguher93@gmail.com

Tabla de contenido

1. Resumen.....	3
2. Introducción.....	6
3. Materiales y métodos	8
3.1 Área de estudio.....	8
3.2 Fase de campo.....	9
3.3 Fase de laboratorio.....	10
3.4 Análisis de datos.....	12
4. Resultados.....	13
5. Discusión.....	22
6. Conclusión.....	25
7. Referencias bibliográficas.....	26

Resumen

En el presente estudio se evaluó la diversidad genética y estructura poblacional de 36 accesiones de guayaba en el municipio de Tierralta – Córdoba utilizando siete marcadores microsatélites. **Objetivo.** Este estudio tuvo como objetivo evaluar la diversidad genética y estructura poblacional de guayaba (*P. guajava*) en el municipio de Tierralta – Córdoba utilizando marcadores moleculares tipo microsatélites. **Materiales y Métodos.** El estudio se realizó a partir de 36 muestra de hojas jóvenes, el ADN de cada muestra se extrajo por el método Mini-prep con modificaciones. Los siete marcadores microsatélites se amplificaron por medio de la técnica PCR Touchdown, luego se analizaron en gel de poliacrilamida al 8% en una cámara de electroforesis vertical. Los parámetros genético poblacionales: Número de alelos (N_a), Número efectivo de alelos (N_e), Heterocigosidad observada (H_o), Heterocigosidad esperada (H_e), Índice de fijación (F), Equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW) y el Análisis de varianza molecular (AMOVA), se calcularon con el programa GenAlEx 6.5, el Contenido de Información Polimórfica (PIC) fue determinado a partir del software Cervus 3.0.7. El análisis de la estructura genético poblacional se realizó con el programa Structure 2.3.4. La determinación del valor Delta-K se realizó en el software Structure Harvester. **Resultados.** En las poblaciones estudiadas se encontró un promedio de 4,0 alelos por locus. El valor promedio del número efectivo de alelos fue 1,345, se encontró que el nivel de heterocigosidad esperada (H_e) en las accesiones de guayaba fue de 0,175, valor mayor a la heterocigosidad observada (H_o) con un promedio de 0,075. Para el índice de fijación (F) se presentó un promedio de 0,479. En el Equilibrio de Hardy-Weinberg se encontraron diferencias significativas en los marcadores. El coeficiente de fijación de un individuo F_{IS} presentó valor promedio 0,480, el coeficiente de fijación de un individuo dentro de la

población total F_{IT} , presentó un promedio de 0,671 y el valor del coeficiente de fijación de una subpoblación dentro de la población total F_{ST} fue de 0,404. El valor del análisis de varianza molecular (AMOVA), reveló que la mayor varianza molecular se presentó entre individuos con un (95%).

Palabras claves: estructura poblacional, guayaba, marcadores SSR, variabilidad.

Abstract

In the present study the genetic diversity and population structure of 36 accessions of guava in the municipality of Tierralta - Córdoba was evaluated using seven microsatellite markers. **Aim.** This study aimed to evaluate the genetic diversity and population structure of guava (*P.guajava*) in the municipality of Tierralta -Cordoba using microsatellite type molecular markers. **Materials and Methods.** The study was carried out from 36 samples of young leaves, the DNA of each sample was extracted by the Mini-prep method with modifications. The seven microsatellite markers were amplified by means of the PCR Touchdown technique, then analyzed on 8% polyacrylamide gel in a vertical electrophoresis chamber. Population genetic parameters: Number of alleles (N_a), Effective number of alleles (N_e), Observed heterozygosity (H_o), Expected heterozygosity (H_e), Fixation index (F), Hardy-Weinberg equilibrium (EHW) and Analysis of molecular variance (AMOVA), were calculated with the GenAlEx 6.5 program, the Polymorphic Information Content (PIC) was determined from Cervus 3.0.7 software. The analysis of the population genetic structure was carried out with the Structure 2.3.4. The Delta-K value was determined in the Structure Harvester software. **Results.** In the populations studied, an average of 4.0 alleles

per locus is found. The average value of the effective number of alleles was 1,345, it was found that the level of expected heterozygosity (H_e) in guava accessions was 0.175, higher value than the observed heterozygosity (H_o) with an average of 0.075. For the fixation index (F), an average of 0.479 was established. In the Hardy-Weinberg Balance, specific differences were found in the markers. The fixation coefficient of an F_{IS} individual presented average value 0.480, the fixation coefficient of an individual within the total F_{IT} population, presented an average of 0.671 and the value of the fixation coefficient of a subpopulation within the total F_{ST} population was 0.404. The value of the analysis of molecular variance (AMOVA) revealed that the greatest molecular variance occurred among individuals with (95%).

Keywords: population structure, guava, SSR markers, variability.

INTRODUCCIÓN

P. guajava L. es una especie muy importante comercialmente y con mucha rentabilidad, dada su adaptabilidad y resistencia presenta una gran productividad entre los frutales tropicales. Esta especie presenta altos valores nutricionales gracias a su contenido de ácido ascórbico, es fuente significativa de provitamina A, vitamina E, algunas vitaminas del grupo B y posee minerales como magnesio y potasio (1; 2), tiene la capacidad de adaptarse a diversas condiciones climáticas desarrollándose a altitudes que van desde los 900 hasta los 1500 msnm. Su área de distribución ecológica abarca zonas tropicales y subtropicales, siendo sensible a las bajas temperaturas, presentando los mejores rendimientos con temperaturas entre 23°C y 28°C (3).

Se encuentra catalogado como uno de los cultivos más conocidos y utilizados a nivel mundial. Su producción se estima alrededor de 1.2 millones de toneladas, donde la India y Pakistán produce el 50%, México aporta el 25% y el resto es generado por países como Colombia, Egipto y Brasil (4). En Colombia la guayaba constituye uno de los frutales más importantes, su cultivo abarcó un área de 8.696 hectáreas, una producción de 94.274 toneladas y un rendimiento de 11,06 (Ton/Ha) durante el año 2018, donde los departamentos de Santander, Boyacá y Valle del Cauca poseen la mayor producción de este cultivo. El cultivo de ésta especie en el departamento de Córdoba abarcó un área total de siembra de 215 hectáreas, una producción de 5.821 toneladas de frutos, y un rendimiento de 27,60 ton/ha durante el año 2018 (5).

La diversidad genética se define como las variaciones heredables que se encuentran en el genoma de los organismos, entre individuos de una población y entre poblaciones de una especie (6), mientras el flujo génico es uno de los principales factores que afecta la diversidad genética y

estructura poblacional por presentar una continua transferencia de genes de un lugar a otro, generando así variabilidad y determinando además hasta qué punto cada población local es un componente evolutivo independiente (7). Los marcadores microsatélites permiten observar las diferencias genéticas entre individuos, organismos, especies y poblaciones, los cuales se distribuyen por todo el genoma y son zonas no codificantes que participan en la expresión de un rasgo en específico (8).

Los estudios de diversidad genética con marcadores microsatélites SSR, han tomado importancia por su eficacia en la detección de las variaciones moleculares entre los individuos de una especie, permitiendo estimar la diversidad genética en una población determinada, razón por la cual se han utilizado para la construcción de programas de conservación biológica y mejoramiento genético en sistemas agrícolas y pecuarios, por brindar información sobre la capacidad de las especies a resistir enfermedades y cambios ambientales (9; 10). Los marcadores moleculares tienen gran uso y aceptación por que logran caracterizar genotipos, identificar cultivares y elaboración de mapeos de ligamiento (11).

El conocimiento que se tiene sobre la diversidad y estructura genética poblacional de los cultivos y las poblaciones naturales de guayaba en Colombia es poca, siendo los estudios de diversidad genética reportados únicamente en la región del Valle del Cauca (12; 13), por lo que la diversidad genética de la guayaba se desconoce, por tal razón, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar la diversidad y la estructura genética poblacional de guayaba (*P. guajava*) en el municipio de Tierralta, Córdoba, utilizando marcadores moleculares tipo microsatélites (SSR).

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio. El estudio se llevó a cabo en el municipio de Tierralta ($7^{\circ}48'47,802''N$ y $76^{\circ}10'2,545''W$). El cual se ubica al extremo Suroccidental del Departamento de Córdoba (14). El muestreo se realizó en los corregimientos de Frasquillo, Palmira, Santa Marta, Los Morales y zona urbana de Tierralta (Tabla 1, Figura 1)

Tabla 1. Coordenadas de las zonas de estudio en el municipio de Tierralta Córdoba.

Zona de estudio	Latitud	Longitud
Frasquillo	8° 0' 45,172" N	76° 7' 59,867" W
Palmira	8° 5' 21,025" N	75° 59' 8,583" W
Santa Marta	8° 5' 59,247" N	75° 54' 53,151" W
Morales	8° 14' 1,161" N	76° 0' 26,220" W
Zona Urbana de Tierralta	8° 8' 16,579" N	76° 4' 24,541" W

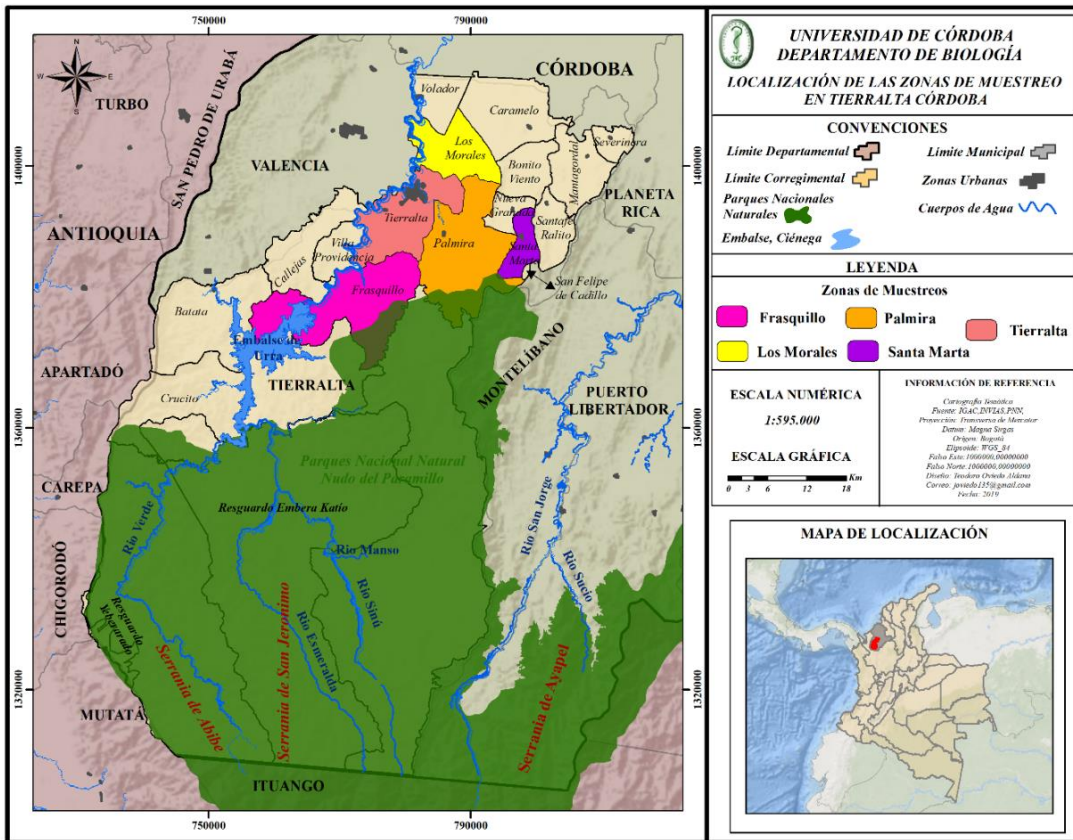


Figura 1. Mapa de localización de las zonas de muestreo en Tierralta – Córdoba.

Fase de campo. se colectaron hojas jóvenes de 36 accesiones de *Psidium guajava* L., el material colectado se depositó en bolsas resellables que contenían gel de sílice, debidamente rotuladas y conservadas a temperatura ambiente y se transportaron al Laboratorio de Genética de la Universidad de Córdoba, Colombia.

Consideraciones sobre la colecta de muestras. Por ser *Psidium guajava* L., una especie domesticada no se hizo necesario el permiso de colecta y contrato de acceso a recursos genéticos según lo establecido por la Resolución 1348 de 2014 en su Artículo 2 del Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible de Colombia.

Extracción de ADN. Para la extracción de ADN se utilizó el método Mini-prep con modificaciones mediante el siguiente protocolo: cada muestra se maceró con nitrógeno líquido, luego se tomaron 25mg del macerado y se depositaron en un tubo de reacción de 2ml al cual se agregó 450µL de buffer CTAB más 450µL agua, luego se añadió 100µL de PVP al 10% Y 20µL de β -mercaptoetanol. Seguidamente se calentó en el baño maría a 65°C por 1 h, con agitación cada 15 minutos, al terminar este tiempo se añadió 900µL de cloroformo-alcohol isoamílico 24:1 y se agitó por inversión durante 5 minutos. Posteriormente se centrifugó por 5 min a 7500g, se traspasó el sobrenadante en un tubo eppendorf de 1,5 ml, se agregó 90µL de acetato de sodio 0,3M y 500µL etanol absoluto, se enfrió a -20°C durante una hora, luego de este tiempo se centrifugo a 13000 RPM durante 10 minutos, se descartó el sobrenadante y se agregó 600µL etanol al 70%, después se realizó un nuevo centrifugado por 3 minutos a 13000 RPM, se repite el paso anterior. Finalmente se agregó 100µL de solución de rehidratación, se calentó a 65°C por 30 minutos en baño maría y se conservó a una temperatura de -20°C para su posterior uso.

Amplificación por PCR. El ADN extraído fue amplificado mediante PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) en un Termociclador T100™ Thermal Cycler de BIO-RAD® utilizando siete marcadores (Tabla 2), bajo las siguientes condiciones (Tabla 2).

Tabla 2: Características de los marcadores SSR evaluados. Risterucci *et al.* (11).

Locus	Cebadores	Motivo repetitivo	Rango de Amplificación (pb)
<i>mPgCIR07</i>	F: ATGGAGGTAGGTTGATG R: CGTAGTAATCGAAGAAATG	(CA)13AA(GAA)3	148-160
<i>mPgCIR11</i>	F: TGAAAGACAACAAACGAG R: TTACACCCACCTAAATAAA	(CT)17	298-314
<i>mPgCIR13</i>	F: CCTTTTTCCCGACCATTACA R: TCGCACTGAGATTTTGTGT	AC)12(AT)4G(GA)2	240-260
<i>mPgCIR16</i>	F: AATACCAGCAACACCAA R: CATCCGTCTCTAAACCTC	(TC)25	268-296
<i>mPgCIR19</i>	F: AAAATCCTGAAGACGAAC R: TATCAGAGGCTTGATTA	(CT)16	258-280
<i>mPgCIR20</i>	F: TATACCACACGCTGAAAC R: TTCCCCATAAACATCTCT	(CT)14(CA)17	270-298
<i>mPgCIR23</i>	F: GTCTATACCTAATGCTCTG R: CCCAGGAAAATCTATCAC	(TA)4(GT)7	184-198

Tabla 3: Ciclos PCR realizados para la amplificación de 7 marcadores SRR.

Temperatura °C	Tiempo	Número de Ciclos
95°	3 min	1
60°-56°	30 seg	10
56°	30 seg	23
72°	1 min	1
72°	5 min	1

Detección de polimorfismos. Luego de la amplificación por PCR se analizaron los productos en geles desnaturizantes de poliacrilamida al

8% en una cámara de electroforesis vertical VS20 WAVE Maxi Sistem (Cleaver Scientific), donde se añadió un marcador de peso molecular con un rango de 50-1000 pb. Los geles fueron revelados sumergiéndolos 20 minutos en solución Fijadora (10% etanol, 5% ácido acético), luego se dejaron 20 minutos en Solución de Tinción (0,15% nitrato de plata), posteriormente se sumergieron durante 20 minutos en Solución Reveladora (3% hidróxido de sodio, 0,3% formol) y nuevamente fueron sumergidos en solución fijadora durante 20 minutos; se lavó el gel con agua después de cada paso. Para establecer el tamaño de las bandas de los geles, estos fueron digitalizados con el Software ImageJ 1.46r (15). Los datos obtenidos se analizaron mediante un modelo exponencial ajustando los valores de posición de las bandas del marcador de peso molecular con las muestras amplificadas en el software Past 3.11 (16).

Análisis estadístico. Los parámetros genético poblacionales: Número de alelos (N_a), Número efectivo de alelos (N_e), Heterocigosidad observada (H_o), Heterocigosidad esperada (H_e), Índice de fijación (F), Equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW) y el del Análisis de varianza molecular (AMOVA), se calcularon con el programa GenAlEx 6.5 (17); el Contenido de Información Polimórfica (PIC) fue determinado a partir del software Cervus 3.0.7 (18). El análisis de la estructura genético poblacional se realizó utilizando el programa Structure 2.3.4 (19) y la determinación del valor Delta-K se realizó en el software Structure Harvester (20).

RESULTADOS

Las frecuencias alélicas de los marcadores microsatélites utilizados para evaluar la diversidad genética en las poblaciones de guayaba se muestran en la Tabla 4. Donde el mayor número de alelos se encontró para el marcador *mPgCIR20* con ocho alelos y el marcador *mPgCIR16* presentó el menor número de alelos con uno. La frecuencia más alta fue el alelo 298 de marcador *mPgCIR11* con una frecuencia de 0,938 en la población Zona Urbana de Tierralta, así mismo, este alelo se fijó en las demás poblaciones estudiadas. En cuanto a las frecuencias más bajas se encontraron para el marcador *mPgCIR07* con valores que oscilan entre 0,167 y 0,833. Además, el marcador *mPgCIR16* presentó fijación del alelo 270 en todas las poblaciones. También se pudo observar que los marcadores presentaron accesiones sin amplificación, lo que podría corresponder a alelos nulos.

Tabla 4: Frecuencias alélicas de los marcadores Microsatélites evaluados en las poblaciones de *P. guajava* L. en Tierralta, Córdoba.

Locus	No de Alelos	Alelos	Zona urbana Tierralta	Palmira	Santa Marta	Frasquillo	Morales
<i>mPgCIR11</i>	2	298	0,938	1,000	1,000	1,000	1,000
		314	0,063	---	---	---	---
<i>mPgCIR07</i>	6	154	---	---	---	0,200	---
		157	---	---	---	0,200	0,167
		160	0,222	---	0,200	0,500	0,833
		164	0,278	---	---	---	---
		167	0,333	1,000	0,800	---	---
		176	0,167	---	---	0,100	---
<i>mPgCIR19</i>	3	260	0,778	0,714	0,900	1,000	1,000
		270	0,222	0,286	---	---	---
		278	---	---	0,100	---	---
<i>mPgCIR20</i>	8	270	---	0,786	1,000	0,125	---
		280	---	---	---	0,750	0,929
		284	0,889	0,143	---	---	---
		290	---	0,071	---	---	---
		297	---	---	---	0,063	---
		300	0,056	---	---	0,063	---
		302	0,056	---	---	---	---
		305	---	---	---	---	0,071
<i>mPgCIR23</i>	4	185	---	---	0,800	0,200	1,000
		188	1,000	0,929	0,200	0,700	---
		199	---	0,071	---	---	---
		201	---	---	---	0,100	---
<i>mPgCIR13</i>	4	240	1,000	0,643	0,200	0,857	1,000
		242	---	0,286	---	---	---
		245	---	---	0,800	0,143	---
		255	---	0,071	---	---	---
<i>mPgCIR16</i>	1	270	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se obtuvo un promedio total de 1,345 *alelos efectivos* (N_e), con valores que oscilan entre 1,077 población Morales y 1,546 población Frasquillo. La *heterocigosidad observada* (H_o) mostró un valor promedio de 0,075, donde los valores más altos se presentaron en la población Frasquillo con 0,134, mientras que la población Palmira presentó los valores más bajos con 0,061. En cuanto a la *heterocigosidad esperada* (H_e), se observó un promedio global de 0,175, con valores que oscilaron entre 0,059 para la población Morales y 0,254 para la población Frasquillo. El índice de fijación (F) presentó un promedio total de 0,479 en donde la zona urbana de Tierralta obtuvo el promedio más bajo con 0,272 mientras que la población con el promedio más alto fue Santa Marta con 0,722 entre las poblaciones evaluadas (Tabla 5).

Tabla 5: Parámetros genético - poblacionales calculados para las poblaciones estudiadas.

Poblaciones	Marcador	Ne	Ho	He	F
Zona urbana de Tierralta	<i>mPgCIR11</i>	1,133	0,125	0,117	-0,067
	<i>mPgCIR07</i>	3,767	0,556	0,735	0,244
	<i>mPgCIR19</i>	1,528	0,000	0,346	1,000
	<i>mPgCIR20</i>	1,256	0,222	0,204	-0,091
	<i>mPgCIR23</i>	1,000	*	*	*
	<i>mPgCIR13</i>	1,000	*	*	*
	<i>mPgCIR16</i>	1,000	*	*	*
	Promedio	1,526	0,129	0,200	0,272
	<i>mPgCIR11</i>	1,000	*	*	*
Palmira	<i>mPgCIR07</i>	1,000	*	*	*
	<i>mPgCIR19</i>	1,690	0,000	0,408	1,000
	<i>mPgCIR20</i>	1,556	0,143	0,357	0,600
	<i>mPgCIR23</i>	1,153	0,143	0,133	-0,077
	<i>mPgCIR13</i>	2,000	0,143	0,500	0,714
	<i>mPgCIR16</i>	1,000	*	*	*
	Promedio	1,343	0,061	0,200	0,559
	<i>mPgCIR11</i>	1,000	*	*	*
	<i>mPgCIR07</i>	1,471	0,000	0,320	1,000
Santa Marta	<i>mPgCIR19</i>	1,220	0,200	0,180	-0,111
	<i>mPgCIR20</i>	1,000	*	*	*
	<i>mPgCIR23</i>	1,471	0,000	0,320	1,000
	<i>mPgCIR13</i>	1,471	0,000	0,320	1,000
	<i>mPgCIR16</i>	1,000	*	*	*
	Promedio	1,233	0,029	0,163	0,722
	<i>mPgCIR11</i>	1,000	*	*	*
	<i>mPgCIR07</i>	2,941	0,200	0,660	0,697
	<i>mPgCIR19</i>	1,000	*	*	*
Frasquillo	<i>mPgCIR20</i>	1,707	0,250	0,414	0,396
	<i>mPgCIR23</i>	1,852	0,200	0,460	0,565
	<i>mPgCIR13</i>	1,324	0,286	0,245	-0,167
	<i>mPgCIR16</i>	1,000	*	*	*
	Promedio	1,546	0,134	0,254	0,373
	<i>mPgCIR11</i>	1,000	*	*	*
	<i>mPgCIR07</i>	1,385	0,000	0,278	1,000
	<i>mPgCIR19</i>	1,000	*	*	*
	<i>mPgCIR20</i>	1,153	0,143	0,133	-0,077
Morales	<i>mPgCIR23</i>	1,000	*	*	*
	<i>mPgCIR13</i>	1,000	*	*	*
	<i>mPgCIR16</i>	1,000	*	*	*
	Promedio	1,077	0,020	0,059	0,462
	Total	Promedio	1,345	0,075	0,175

Na: Número de Alelos; Ne: Número Efectivo de Alelos; Ho: Heterocigosidad Observada; He: Heterocigosidad Esperada; F: Índice de Fijación; *: Monomórfico.

En la Tabla 6, se muestra el contenido de información polimórfica (PIC) en donde la Zona urbana de Tierralta presentó el valor más alto con un promedio de 0,520 lo que significa que fue el más informativo, por otro lado el valor más bajo se encontró en la población Morales con un valor de 0,181. Respecto al equilibrio de Hardy-Weinberg se presentaron valores que oscilan entre 0,219 población Santa Marta y 0.556 zona Urbana de Tierralta.

Tabla 6: Equilibrio de Hardy-Weinberg y Contenido de Información Polimórfica estimados en las poblaciones de guayaba de Tierralta – Córdoba

Poblaciones	PIC	EH-W
Zona urbana de Tierralta	0,520	0.556
Palmira	0,193	0,246
Santa Marta	0,242	0,219
Frasquillo	0,405	0,290
Morales	0,181	0,426

PIC: Contenido de Información Polimórfica; EH-W: Equilibrio de Hardy-Weinberg.

Los estadísticos F, se encuentran en la Tabla 7, donde los valores de (F_{IS}) varían de -0,067 para el marcador *mPgCIR11* a 0,786 para el marcador *mPgCIR19*. En cuanto al (F_{IT}), tuvo un promedio de 0,671, con valores que oscilan entre -0,013 para el marcador *mPgCIR11* y 0,868 para el marcador *mPgCIR23*. Para el (F_{ST}) presento un valor promedio de 0,404, con valores de 0,051 para el marcador *mPgCIR11* y 0,682 para el marcador *mPgCIR20*. Para el número de migrantes se encontró un promedio de 1,010, donde el marcador *mPgCIR11* presentó el mayor valor 4,688, y el marcador *mPgCIR20* presentó el valor más bajo con 0,116.

Tabla 7: Estadísticos F y Flujo génico para cada locus evaluado en la población de *Psidium guajava* L. de Tierralta, Córdoba.

Locus	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}	N_m
mPgCIR11	-0,067	-0,013	0,051	4,688
mPgCIR07	0,621	0,778	0,416	0,352
mPgCIR19	0,786	0,816	0,142	1,511
mPgCIR20	0,316	0,783	0,682	0,116
mPgCIR23	0,624	0,868	0,649	0,135
mPgCIR13	0,598	0,793	0,485	0,266
mPgCIR16	#N/A	#N/A	#N/A	#N/A
Promedio	0,480	0,671	0,404	1,010

F_{IS}: coeficiente de fijación de un individuo dentro de una subpoblación; F_{IT}: coeficiente de fijación de un individuo dentro de la población total; F_{ST}: coeficiente de fijación de una subpoblación dentro del población total; N_m: Número de Migrantes

El Análisis Varianza Molecular (Tabla 8, Figura 3), reveló que la mayor varianza molecular se encuentra entre individuos, con un porcentaje del 95%, y en entre las poblaciones no se encontró variación molecular.

Tabla 8: Análisis de varianza molecular (AMOVA) en las poblaciones de *Psidium guajava* L. de Tierralta, Córdoba.

	Df	SS	MS	Var. Est.	%
Entre poblaciones	4	187972,2	46993,0	0,0	0%
Entre individuos	31	1490382,9	48076,9	23391,9	95%
Dentro individuos	36	46550,5	1293,1	1293,1	5%
Total	71	1724905,6		24685,0	100%

Df: Grados de Libertad; SS: Suma de Cuadrados; MS: Cuadrados Medios; Var. Est: Variación estimada.

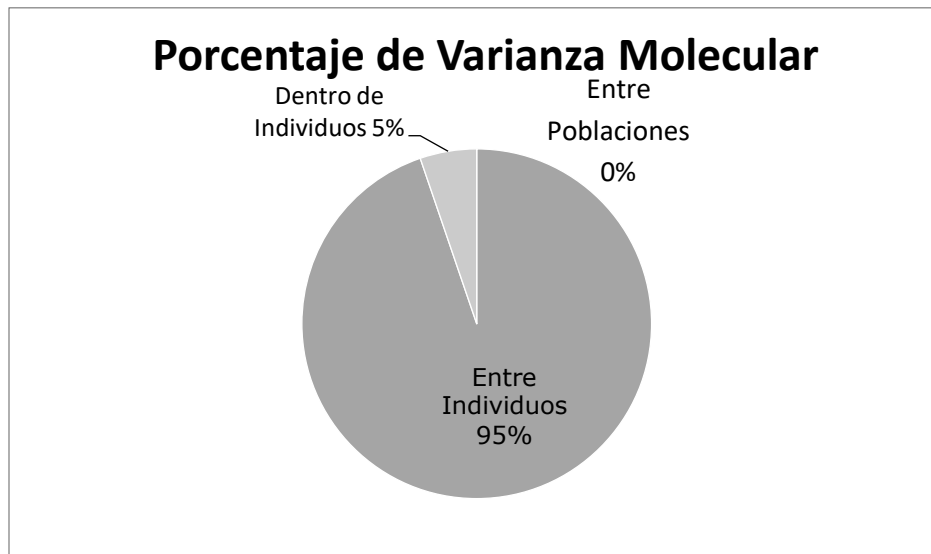


Figura. 2. Análisis de la varianza molecular de las poblaciones de *Psidium guajava* L. de Tierralta, Córdoba.

En la Tabla 9, se observa la matriz de distancia genética (Nei, 1972) entre las poblaciones estudiadas.

Tabla 9. Matriz de Distancia Genética por pares de poblaciones de Nei

	Tierralta	Palmira	Santa marta	Frasquillo	Morales
Tierralta	---				
Palmira	0,199	---			
Santa marta	0,537	0,232	---		
Frasquillo	0,205	0,298	0,399	---	
Morales	0,443	0,593	0,424	0,120	---

En el dendograma Figura 3, se observa la relación genética entre las poblaciones, en donde se asocian las poblaciones de Frasquillo y Morales, así mismos las poblaciones Zona Urbana de Tierralta y Palmira formaron otro grupo, al cual luego se asocia la población Santa Marta.

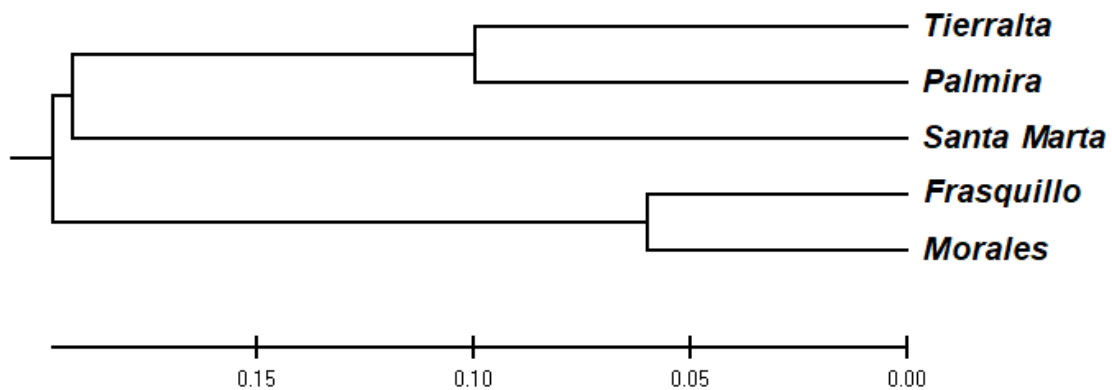


Figura 3. Dendrograma UPGMA elaborado a partir de las distancias genéticas (Nei, 1972) de las poblaciones de guayaba (*Psidium guajava* L.) de Tierralta, Córdoba.

En la Figura 4 se observan los valores para Delta K, indicando la probabilidad de los distintos K (grupos genéticos), siendo K=3 el número más probable. La figura 5 y la figura 6 muestran el análisis de estructura genética poblacional para K=3; se evidencia que la zona urbana de Tierralta y Palmira presentan correspondencia al primer grupo genético, mientras que las poblaciones de Frasquillo y Morales corresponden al tercer grupo genético, y la población de Santa Marta corresponde al segundo grupo genético con interacción en los otros grupos genéticos.

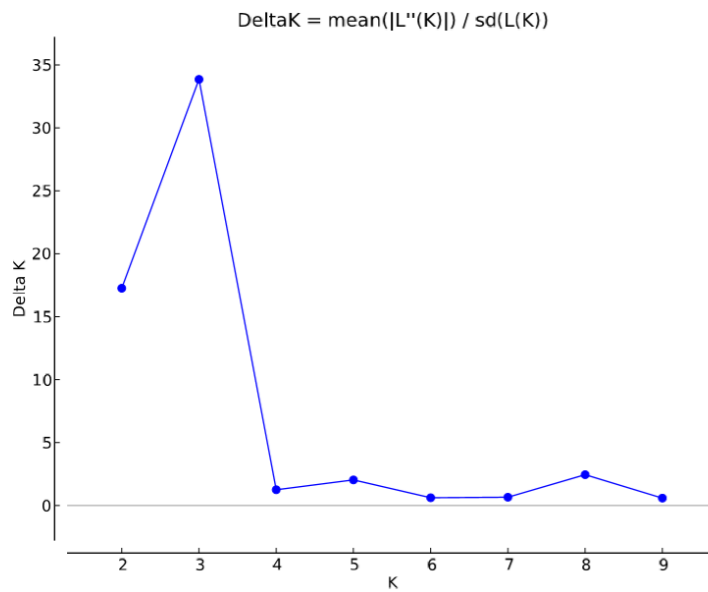


Figura 4. Valores de Delta K obtenidos a partir de Harvester Structure, calculados como la media de la probabilidad de K dividido por la desviación estándar de la probabilidad de K.

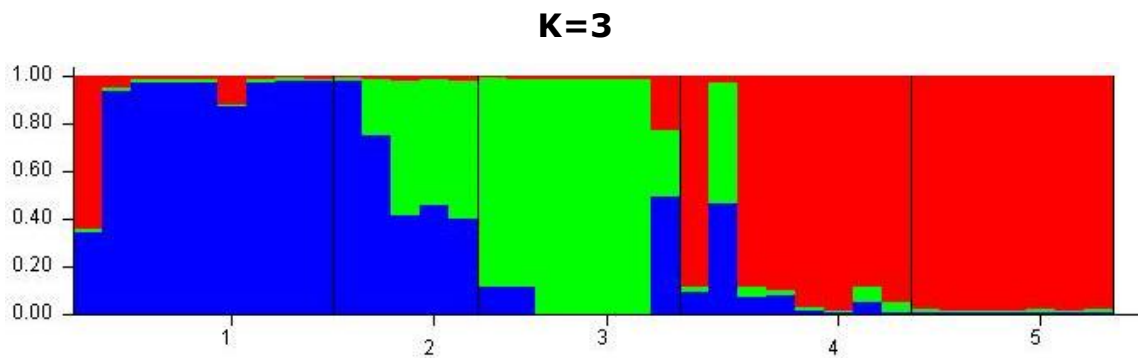


Figura 5. Estructura genética poblacional de *Psidium guajava* L. Tierralta, Córdoba estimada mediante el software Structure.

K=3

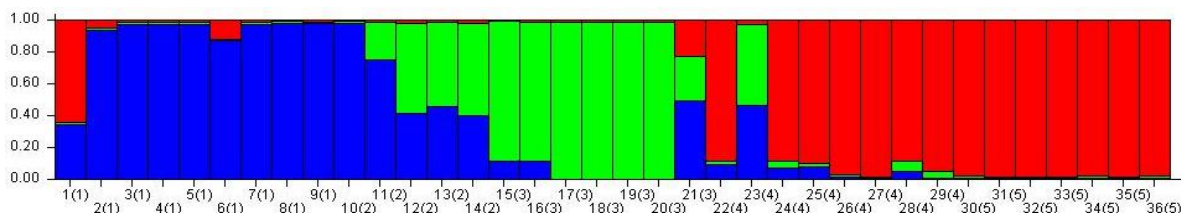


Figura 6. Estructura genética poblacional de *Psidium guajava* L. por cada muestra analizada en Tierralta, Córdoba estimada mediante el software Structure.

K corresponde al número de grupos genéticos representados por los colores azul, verde y rojo, cada columna representa una accesión de *Psidium guajava* L. Los Resultados del análisis bayesiano de estructura poblacional determinaron la existencia de tres grupos.

DISCUSIÓN

En las poblaciones estudiadas las frecuencias alélicas presentaron un promedio de 4,0 alelos por *locus*, los cuales fueron menores a los reportados por Risterucci et al. (11) con un valor promedio de 4.5, Kanupriya et al. (21) con un valor promedio de 6.39, y Mehmood et al. (22) con un valor promedio de 9,56 alelos por *locus*. Los cebadores *mPgCIR16* y *mPgCIR11* presentaron bajos índices de diversidad por presentar menor cantidad de alelos por locus y a su vez presentar menor cantidad de alelos (23). Además, es importante destacar que el marcador *mPgCIR16* se fijó en todas las poblaciones estudiadas y el *locus mPgCIR11* se fijó en cuatro de las cinco poblaciones, evidencias que sugieren que dichos *loci* pudieran estar cercanos a un carácter que los favorece. El valor promedio del Número efectivo de alelos fue 1,345, menor a los 4,200 reportados por Sittther et al. (24), y mayor a los $Ne=1,216$ obtenidos por Tapia et al. (25).

Se encontraron mayores niveles de Heterocigosidad esperada (H_e) en las accesiones estudiadas (0,175), mientras que (H_o) fue menor con un

promedio de (0,075), esta diferencia entre H_e y H_o indica que existe una deficiencia de heterocigotos en la población (26) y una tendencia a la endogamia, lo cual posiblemente ha generado la pérdida de variabilidad genética de guayaba en Tierralta lo cual puede ocurrir por la intervención humana, atendiendo a que en la zona se puede estar presentando la propagación de individuos emparentados; estos resultados son similares a los reportados por Sittler et al. (24). y Valdés-Infante et al. (26). También se observó que para el índice de fijación (F) un valor promedio de 0,479, estos resultados muestran para Tierralta un exceso de homocigotos, lo cual confirma la existencia de endogamia en las poblaciones analizadas, dicho evento favorece la fijación gradual de los alelos en el tiempo, generando así un aislamiento geográfico y/o aislamiento genético de una población con respecto a otras poblaciones Díaz (6).

Para el contenido de información polimórfica (PIC), los marcadores *mPgCIR20* (0.660), *mPgCIR07* (0.638), fueron los más informativos, es decir que presentan una ventaja por su alto polimorfismo y permiten generar mayor información mostrando niveles de variación más altos. por otro lado, los marcadores *mPgCIR11*, *mPgCIR19*, *mPgCIR16* fueron poco informativos con valores de (PIC<0,25), contrario a lo reportado por Mehmood et al. (22) donde los marcadores *mPgCIR11*, *mPgCIR19*, presentaron altos valores para el PIC. En el Equilibrio de Hardy-Weinberg (EHW) se encontraron diferencias significativas en los marcadores (P-Valor<0.05) y (P-Valor <0.01), según Wigginton et al. (27), los marcadores que no presentaron equilibrio de Hardy-Weinberg pudo ser debido a la endogamia, la cual genera un exceso de homocigotos en la población.

Respecto a los estadísticos F Wright, el coeficiente de fijación de un individuo dentro de una subpoblación (F_{IS}) presentó valor promedio de 0,480, lo cual muestra un alto nivel de homocigotos en todas las poblaciones estudiadas, lo que puede estar asociado a una alta consanguinidad, lo que significa que existe una escasa variación genética en la población. Con relación al estadístico F_{IT} , con promedio de 0,671 indicando también un alto porcentaje de homocigosis con respecto a la población total. Por otra parte, el valor de F_{ST} para las subpoblaciones resultó con un promedio bajo 0,404, similares a los reportados por Ponce (28). El número de migrantes (N_m) presentó un valor promedio de 1,010, estos resultados indican que hay un reducido flujo de individuos, es decir que se reciben pocos inmigrantes de otras poblaciones.

El análisis de varianza molecular (AMOVA) mostró que la mayor varianza genética se encontró entre individuos, con un valor del 95%, y un bajo porcentaje de diferencias entre las poblaciones, resultados similares a los reportados por Kherwar et al. (29) quienes encontraron un 96% de varianza molecular entre individuos. Lo que sugiere que las poblaciones estudiadas no son estadísticamente variables, dado que existe poca diferenciación entre las poblaciones estudiadas, eso posiblemente se deba a que se esté presentando endogamia y se cultiven siempre las mismas variedades.

Respecto al dendograma figura 3 las poblaciones de zona urbana de Tierralta con Palmira se agruparon, eso puede estar asociado posiblemente a la cercanía geográfica., así mismo las poblaciones de Frasquillo con Morales fueron agrupadas posiblemente al constante flujo de personas debido a las buenas condiciones de la vía y constante flujo migratorio e intercambio agrícola en la zona. Por otro lado, la separación

de la población Santa Marta con las demás poblaciones posiblemente se deba a procesos de endogamia asociado a la separación geográfica, al difícil acceso y a que es una población poco intervenida.

En cuanto a la similitud genética se generaron claramente tres grupos, $K=3$ donde el segundo grupo Santa Marta presento mayor diferencia con respecto a los otros dos, también se encontraron genotipos mezclados en los diferentes grupos lo que puede ser por su similitud en cuanto a la zona de cultivo común o puede ser atribuido a la biología reproductiva de *P. guajava* L., los resultados son similares a los reportados por (29), quienes evidencian diferenciación genética entre las accesiones estudiadas para un $K = 5$.

CONCLUSIÓN

Se estableció la estructura genética de la población de guayaba (*P. guajava*) del municipio de Tierralta – Córdoba mediante el uso de 7 marcadores (SSR), encontrándose una baja variabilidad genética dentro de las cinco poblaciones estudiadas, representada por un alto número de homocigotos y bajos niveles de heterocigosidad, Asimismo, las poblaciones aunque presentaron diferenciación genética entre sí, al proceder de la misma región presentaron una tendencia a agruparse, lo cual es atribuido al poco intercambio de material genético entre las accesiones evaluadas, debido a los altos niveles de endogamia y actividades humanas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Singh G. Estrategias para mejorar la producción en guayaba. En trámite del 1er simposio internacional de guayaba. CISH, Lucknow, India. 2005:26-39.
2. Ahmed B. Mannan M.A. Hossain S.A. Molecular characterization of guava (*Psidium guajava* L.) germplasm by RAPD analysis. IJSR. 2011; 1(3): 62-67. <http://doi.org/10.3329/ijns.v1i3.8823>
3. Barrance A. Beer J. Árboles de Centroamérica: un manual para extensionistas. Bib. Orton IICA/CATIE, 2003:51-75.
4. Yam J. Perea C. Romantchik E. Soto M. Peña M. Una revisión sobre la importancia del fruto de Guayaba (*Psidium guajava* L.) y sus principales características en la postcosecha. Rev Cie Téc Agr. 2010; 19(4):74-82.
5. Camacho B. Cadena de guayaba indicadores e instrumentos. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (Minagricultura); 2018:1-18.
6. Díaz J.A. Diversidade e estrutura genética de poblaciones de *Psidium guajava* L. (Myrtaceae) oriundas do Brasil e do México [Tesis de Maestría]. Guarapuava (Brasil): Universidade Estadual do Centro-Oeste. 2016; 59pp.
7. Slatkin M. Gene flow and population structure. L.A. Princeton University Press. Edit. Genet. Ecol. 1994; 3-17.
8. Collard B. Jahufer M. Brouwer J. Pang E. An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: the basic concepts. Euphytica. 2005; 142: 169-196. <http://doi:10.1007/s10681-005-1681-5>

9. Azofeifa A. uso de marcadores moleculares en plantas; aplicaciones en frutales Del trópico. Agron Mesoam. 2013; 17(2): 221-242. <http://doi:10.15517/AM.17I2.5163>.
10. Ferreira M.E. Grattapaglia D. Introduction to the use of molecular markers in genetic analysis. 1 ed. Brasilia, EMBRAPA-CENARGEN. 1998; pp.220.
11. Risterucci A.M. Duval M.F. Rohde W. Billotte N. Isolation and characterization of microsatellite loci from *Psidium guajava* L. Mol Ecol Not. 2005; 5:745-748. <http://doi:10.1111/j.1471-8286.2005.01050.x>.
12. Sanabria H.L. García M.A. Díaz H.A. Muñoz J.E. Caracterización morfológica en árboles nativos de guayaba en el Valle del Cauca. Rev. Acta Agron.2006; 54(4): 1-6.
13. Rueda A. Muñoz J.E. Saavedra R. Palacio J.D. Bravo E. Caracterización molecular del banco de germoplasma de guayaba *Psidium* spp del Centro de Investigación de Corpoica, Palmira. Fitotec. Col. 2006; 6(2): 26-32.
14. Corporación para el desarrollo integral y sostenible del departamento de Córdoba y su entorno CORDECOR. Plan Básico de Ordenamiento Territorial del municipio de Tierralta (Córdoba) 2011–2023; 1-119.
15. Abràmoff M.D. Magalhães P.J. Ram S.J. Procesamiento de imagen con ImageJ. Biophotonics Intern. 2004; 11 (7): 36-42.
16. Hammer O. Harper D. Ryan P.D. paleontological statistics software package for education and data analysis. Palaeontol Elec. 2001;4(1):1–9.
17. Peakall R. Smouse PE. GENAIEX 6. 5: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update.

Bioinformatics. 2012; 28(19):2537–9. <http://doi:10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x>.

18. Marshall T.C. Slate J.B. Kruuk L.E. Pemberton J.M. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Mol. Ecol.* 1998; 7 (5):639-655. <http://doi:10.1046/j.1365-294x.1998.00374.x>.

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

20. Evanno G. Regnaut S. Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol Ecol.* 2005; 14(8): 2611-2620. <http://doi:10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x>.

21. Kanupriya L. Aswath C. Reddy L. Padmakar B. Vasugi C. Dinesh M. R. Cultivar identification and genetic fingerprinting of guava (*Psidium guajava*) using microsatellite markers. *Int. J. Fruit Sci.* 2011; 11(2), 184-196. <http://doi:10.1080/15538362.2011.578521>.

22. Mehmood A. Luo S. Ahmad N.M. Dong C. Mahmood T. Sajjad Y. Sharp P. Molecular variability and phylogenetic relationships of guava (*Psidium guajava* L.) cultivars using inter-primer binding site (iPBS) and microsatellite (SSR) markers. *Genet Resour Crop Evol.* 2016; 63(8), 1345-1361. <http://doi:10.1007/s10722-015-0322-7>.

23. Lee J.M. Nahm S.H. Kim Y.M. Kim B.D. Characterization and molecular genetic mapping of microsatellite loci in pepper. *Theoretical and Applied Genetics.* 2004; 108(4): 619-627.

24. Sittther V. Zhang D. Harris D.L. Yadav A.K. Zee F.T. Meinhardt L.W. Dhekney S.A. Genetic characterization of guava (*Psidium guajava* L.) germplasm in the United States using microsatellite markers. *Genet Resour crop Evol.* 2014; 61(4): 3-13. <http://doi:10.1007/s10722-014-0078-5>.
25. Tapia D. Legaria J.P. Variabilidad genética en cultivares de guayabo (*Psidium guajava* L.). *Rev. Fitotec. Mex.* 2007; 30 (4): 391-401.
- 26 Valdés-Infante J. Medina R. Nerdo N. Bautista M. Ortiz M. Quiroz A. Rohde W. Microsatellites developed in guava (*Psidium guajava* L.) and their usefulness in evaluating diversity in the Myrtaceae family. *Rev. Col. Biotec.* 2010; 12 (1): 64-76.
- 27 Wigginton J.E. Cutler D.J. Abecasis G.R. A note on exact tests of Hardy-Weinberg equilibrium. *Am. J. Hum. Genet.* 2005; 76 (5):887-893. <http://doi:10.1086/429864>.
- 28 Ponce Andrade M.J. Estudio preliminar de la diversidad genética de la guayaba, *Psidium guajava*, en 6 localidades de la isla San Cristóbal, Ecuador [Tesis de Licenciatura]. Universidad San Francisco de Quito. 2014; 79pp.
- 29 Kherwar D. Usha K. Mithra S. Singh B. Microsatellite (SSR) marker assisted assessment of population structure and genetic diversity for morpho-physiological traits in guava (*Psidium guajava* L.). *J. plant Bichem Biot.* 2018; 27(3), 284-292. <http://doi:10.1007/s13562-017-0438-2>.