

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales (COCIBA)

**Estudio de la diversidad genética de la población de
Psidium guajava en la isla Santa Cruz, Galápagos**

Proyecto de Investigación

Diego Oswaldo Urquía Buenaño

Biología

Trabajo de titulación presentado como requisito
para la obtención del título de Licenciatura en Biología, concentración en
Biología Molecular

Quito, 08 de enero de 2018

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ
COLEGIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y
AMBIENTALES

**HOJA DE CALIFICACIÓN
DE TRABAJO DE TITULACIÓN**

**Estudio de la diversidad genética de la población de *Psidium guajava* (L.)
en la isla Santa Cruz, Galápagos**

Diego Oswaldo Urquía Buenaño

Calificación:

Nombre del profesor, Título académico

María de Lourdes Torres, Ph.D.

Firma del profesor

Quito, 08 de enero de 2018

DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas. Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Firma del estudiante: _____

Nombres y apellidos: Diego Oswaldo Urquía Buenaño

Código: 00112044

Cédula de Identidad: 1722373063

Lugar y fecha: Quito, enero de 2018

Agradecimientos

Agradezco la colaboración del Galapagos Science Center (GSC) y al Parque Nacional Galápagos por permitirnos trabajar en uno de los lugares más especiales del mundo. Gracias también a Heinke Jäger de la Fundación Charles Darwin por la información brindada para la salida de campo y a Marcelo Loyola por su notable trabajo en el campo. Asimismo, agradezco a quienes hacen el Laboratorio de Biotecnología Vegetal por permitirme participar en su investigación y ser parte de mi formación profesional, y al Instituto de Geografía de la USFQ por su invaluable ayuda en el manejo de Sistemas de Información Geográfica.

RESUMEN

La introducción de especies exóticas a ecosistemas insulares es la principal amenaza para la biodiversidad de los mismos. La guayaba, *Psidium guajava* L., es una de las plantas invasoras más agresivas que han sido introducidas en las islas Galápagos. Considerando la importancia de la diversidad genética para explicar el potencial invasor y la resistencia de una población introducida a los esfuerzos de control, en este trabajo, se realizó el análisis de la diversidad genética de la población de *P. guajava* en la isla Santa Cruz. Para esto, se amplificaron por medio de PCR 13 loci microsátélites homólogos para el genotipado de 80 individuos de *P. guajava* provenientes de 20 localidades de la isla. Un total de 9 loci fueron polimórficos para la muestra de la población analizada. En éstos se encontró un total de 32 alelos, y una heterocigosidad esperada global de 0.444. Estos valores indican que la diversidad genética de la población de *P. guajava* de Santa Cruz es alta comparada con la esperada para una especie introducida en una isla pequeña. De hecho, esta diversidad fue superior a la encontrada en la población de *P. guajava* en la isla San Cristóbal. Además, se pudo determinar que la población de *P. guajava* de Santa Cruz estaría conformada por la mezcla de varios linajes y no se observa una estructura poblacional definida. Esto podría sugerir que se dieron múltiples introducciones de *P. guajava* en esta isla, probablemente a partir de distintas poblaciones fuente repartidas por el Ecuador continental. De igual manera, se sugiere que dentro de la población de *P. guajava* de Santa Cruz, existe un notable flujo génico y casi nada de diferenciación entre las distintas subpoblaciones de muestreo. Esto queda corroborando con los bajos F_{ST} obtenidos. El notable potencial reproductivo y de dispersión de *P. guajava*, junto con la presencia de múltiples agentes dispersores en Santa Cruz, incluyendo humanos, animales domésticos y ferales y tortugas endémicas, podrían explicar estos altos niveles de flujo génico y la excelente capacidad de la población de la especie invasora para mantener su diversidad genética. Finalmente, de acuerdo a los resultados encontrados, se puede pensar que en el pasado hubo algo de flujo génico entre las poblaciones de *P. guajava* de San Cristóbal y Santa Cruz. Sin embargo, actualmente ya no existe este flujo génico, explicando así la notable diferenciación genética entre las poblaciones de estas islas.

Palabras clave: *Psidium guajava*, plantas invasoras, ecosistemas insulares, Islas Galápagos, diversidad genética, microsátélites

ABSTRACT

Exotic species introduction into island ecosystems is a major threat for its biodiversity. Guava tree, *Psidium guajava*, is one of the most aggressive invasive plant species in the Galapagos Islands. Regarding the importance of genetic diversity in order to explain the invasive potential of an introduced population and its resistance against plague control efforts, in this research I analysed the genetic diversity of the invasive *P. guajava* population in Santa Cruz Island, Galapagos. Thirteen homologous microsatellite loci were amplified through PCR in order to get the genotyping of 80 *P. guajava* individuals from 20 locations over the island. A total of 9 of the 13 loci were polymorphic. Thirty-two alleles were found and an expected heterozygosity of 0.444. These values show that the genetic diversity of the *P. guajava* population from Santa Cruz is higher than expected for an introduced species in a small island. Actually, this diversity was higher than the one found in the population of *P. guajava* at the nearby San Cristóbal Island. Furthermore, my results determined that the *P. guajava* population of Santa Cruz is made up by the mix of several lineages and no population structure was found. This would tentatively suggest that multiple introductions of *P. guajava* have occurred in this island, probably from different source populations distributed through mainland Ecuador. Moreover, considering the low F_{ST} values obtained, we can suggest an important gene flow within the *P. guajava* population in Santa Cruz, as well as a poor genetic differentiation among the different sampling subpopulations. The great reproductive and dispersal potential of *P. guajava*, along with the availability of key dispersal agents including humans, domestic and feral animals, even endemic tortoises, could explain these high levels of gene flow and the great capacity of the invasive population to maintain its genetic diversity throughout the time. Finally, according to my results, we could suggest that some gene flow between the *P. guajava* populations from Santa Cruz and San Cristóbal occurred during the past. Nevertheless, currently these two populations show a remarkable genetic differentiation suggesting that no gene flow is further occurring.

Key words: *Psidium guajava*, invasive plants, island ecosystem, Galapagos Islands, genetic diversity, microsatellites

TABLA DE CONTENIDO

DERECHOS DE AUTOR	3
RESUMEN	4
ABSTRACT.....	6
TABLA DE CONTENIDO.....	7
ÍNDICE DE TABLAS	9
ÍNDICE DE FIGURAS.....	11
ÍNDICE DE ANEXOS	13
1. INTRODUCCIÓN	14
1.1 Especies invasoras como amenaza de la diversidad biológica	14
1.2 Importancia de la diversidad genética y la información que puede brindar	23
1.3. Marcadores moleculares	29
2. OBJETIVOS	34
2.1. Objetivo General.....	34
2.2. Objetivos Específicos	34
3. JUSTIFICACIÓN	35
3. ÁREA DE ESTUDIO	37
5. MATERIALES	39
5.1. Material Vegetal	39
5.2 Extracción de ADN de hojas	39
5.3 Cuantificación y dilución de ADN	40
5.4. Amplificación de loci microsatélites por PCR	40
5.5. Electroforesis en geles de agarosa	40
5.6. Genotipado.....	40
5.7. Análisis de datos.....	40
6. MÉTODOS	42
6.1. Muestreo de <i>P. guajava</i> en la isla Santa Cruz	42
6.2. Extracción y cuantificación de ADN de <i>P. guajava</i>	42
6.3. Amplificación de microsatélites por PCR	43
6.4. Genotipado de los individuos de <i>P. guajava</i> seleccionados	45
6.5. Análisis de datos.....	46
7. RESULTADOS.....	58
7.1 Extracción y cuantificación de ADN.....	58
7.3 Análisis de Datos.....	59
8. DISCUSIÓN	69
8.1 ¿Qué tan diversa es <i>P. guajava</i> en la isla Santa Cruz?	69
8.2 Explicaciones biológicas de los niveles de diversidad genética encontrada en la población de <i>P. guajava</i> de la isla Santa Cruz	72
8.3. Abundante flujo génico y múltiples introducciones: Claves para explicar los patrones y la distribución de la diversidad genética de la población de <i>P. guajava</i> de Santa Cruz.....	75

8.4 Análisis de la diversidad genética de las localidades y subpoblaciones de <i>P. guajava</i> muestreadas en Santa Cruz	87
8.5 Planteamientos sobre la historia de la introducción y colonización de <i>P. guajava</i> en Santa Cruz y San Cristóbal.....	90
8.6 Implicaciones de una diversidad genética más alta de lo esperado en la población de <i>P. guajava</i> de Santa Cruz.....	95
9. CONCLUSIONES	98
10. RECOMENDACIONES	99
11. BIBLIOGRAFÍA	101
12. TABLAS	114
13. FIGURAS	122
14. ANEXOS	136

ÍNDICE DE TABLAS

- Tabla 1. Loci microsatélites (Risterucci, et al., 2005) empleados como marcadores moleculares en este estudio, los fluoróforos que se asignaron para marcar los amplicones de cada locus, y la temperatura de annealing con la se amplificó óptimamente cada locus. Asimismo, se indica para cada locus el número de alelos encontrados en la población estudiada de *P. guajava* de la isla Santa Cruz y el rango de los tamaños de estos alelos en pares de bases (pb).....114
- Tabla 2. Indicadores de diversidad genética para las 8 subpoblaciones de *P. guajava* definidas en la isla Santa Cruz. Para cada subpoblación, se indica el número de individuos muestreados (N), el número de alelos, el número de alelos corregidos por rarefacción, el número de alelos privados, el número de alelos privados corregidos por rarefacción, la heterocigosidad observada (H.obs) y la heterocigosidad esperada (H.esp). También se indican las localidades muestreadas que quedaron incluidas dentro de cada subpoblación.115
- Tabla 3. Sesgo relativo medio y RMSE (raíz del error cuadrado medio) de la media y la mediana de las distribuciones posteriores de los tiempos de divergencia (t1, t2 y t3) del Escenario 3 (el más probable).116
- Tabla 4. Genotipado del individuo HBGe1 (presunto híbrido entre *P. guajava* y *P. galapegeium*, proveniente de la localidad de Los Gemelos) para los 13 loci microsatellites considerados en este estudio. Asimismo se indica para cada locus el número de alelos diferentes encontrados en éste individuo, y el número de alelos que coinciden entre éste individuo y la población de *P. guajava* de la isla Santa Cruz (tolerando diferencias de 2 pb entre los alelos de HBGe1 y los de la población de *P. guajava*). Se asumió que HBGe1 era tetraploide basado en el hallazgo de 4 alelos en algunos loci.116
- Tabla 5. Genotipado del individuo Psp_SCZ_02 (presumiblemente perteneciente a la especie *P. acutangulum*, proveniente de la localidad de Santa Rosa) para los 13 loci microsatélites considerados en este estudio. Asimismo se indica para cada locus el número de alelos diferentes encontrados en este individuo, y el número de alelos que coinciden entre este individuo y la población de *P. guajava* de la isla Santa Cruz (tolerando diferencias de 2 pb entre los alelos de Psp_SCZ_02 y los de la población de *P. guajava*). Se asumió que Psp_SCZ_02 era tetraploide basado en el hallazgo de 4 alelos en algunos loci.....117
- Tabla 6. Indicadores de diversidad genética de *P. guajava* para las 20 localidades muestreadas en la isla Santa Cruz. Se indican para cada localidad el número de individuos muestreados por localidad (N), el número de alelos encontrados, el número de alelos privados, la heterocigosidad observada (H. obs), la heterocigosidad esperada (H. esp).118
- Tabla 7. Indicadores de diversidad genética para las poblaciones muestreadas de *P. guajava* de las islas Santa Cruz y San Cristóbal. Para cada isla, se indica el número de individuos muestreados (N), el número de alelos, el número de alelos corregidos por rarefacción, el número de alelos privados, el número de alelos privados corregidos por rarefacción, la heterocigosidad observada (H.obs) y la heterocigosidad esperada (H.esp).119
- Tabla 8. Valores de Pairwise F_{ST} para todos los pares de subpoblaciones de *P. guajava* de Santa Cruz, incluyendo también a la población de San Cristóbal. SCZ=Santa Cruz119

Tabla 9. Valores de Pairwise F_{ST} entre los distintos clústers en los que las muestras de <i>P. guajava</i> de Santa Cruz (Clústers 1 y 2) y San Cristóbal (Clúster 3) fueron agrupadas de acuerdo al DAPC.....	119
Tabla 10. Estadísticos y valores-p de la prueba de chi cuadrado (chi-sq) para determinar la existencia de equilibrio Hardy-Weinberg (HWE) a nivel de los 9 loci microsatélites analizados en este estudio.	120
Tabla 11. Valores-p promediados (de los 9 loci analizados) de la prueba de chi cuadrado para determinar equilibrio la existencia de HWE en las subpoblaciones muestreadas de <i>P. guajava</i> en la isla Santa Cruz y en toda la población de la isla en general.	120
Tabla 12. Valores-p del test de Wilcoxon (ejecutado en BOTTLENECK) para encontrar evidencia de un cuello de botella en las poblaciones de <i>P. guajava</i> de las islas Santa Cruz y San Cristóbal siguiendo los modelos mutacionales SMM y TPM (prueba de dos colas, $\alpha=0.05$). De igual modo, se indican los valores-p correspondientes a los tests.	121
Tabla 13. Número de migrantes intercambiados por generación (Nm), entre los clústers en los que el DAPC agrupó a los individuos de <i>P. guajava</i> muestreados en Santa Cruz (Clúster 1 y 2) y San Cristóbal (Clúster 3).....	121
Tabla 14. Número de migrantes intercambiados (Nm) entre las subpoblaciones de <i>P. guajava</i> de Santa Cruz (y la población de San Cristóbal) por generación.....	121

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1. Bosque monoespecífico de *Psidium guajava* en la localidad de El Chato, isla Santa Cruz. También se aprecia una tortuga galápagos (*Chelonoidis porteri*). Foto de Diego Urquía (Mayo 2016).....122
- Figura 2. Mapa del área de estudio (parte alta y húmeda de la isla Santa Cruz), indicando la localización de los individuos de *P. guajava* muestreados, más el individuo HBGe1. Asimismo se indica el territorio de la zona agrícola de Santa Cruz y los ecosistemas dominantes en los territorios del Parque Nacional fuera de la zona agrícola, incluyendo aquellos dominados por especies de plantas invasoras. Modificado de Rivas-Torres, et al., en revisión.
Nota: Cada punto rojo en el mapa representa un individuo muestreado. Cada individuo a su vez está rotulado con su código, correspondiente a la localidad a la que pertenece (Anexo A). Los códigos de algunos individuos se omiten en el mapa.123
- Figura 3. Ilustración de los 5 escenarios de introducción y colonización de *P. guajava* en Santa Cruz y San Cristóbal, evaluados mediante el ABC ejecutado en el software DIYABC. a) Escenario 1. b) Escenario 2. c) Escenario 3. d) Escenario 4. e) Escenario 5.124
- Figura 4. Visualización en electroforesis en gel de agarosa (1.5%) del ADN extraído de los individuos de *P. guajava* muestreados en las localidades de Bellavista (BE), Santa Rosa (SR), Manzanillo (Man) y Cascajo (Cas), isla Santa Cruz. Las bandas esperadas para el ADN genómico extraído se resalta en un rectángulo rojo. L= Ladder de 100 pb (Invitrogen).....125
- Figura 5. Electroforesis en gel de agarosa (1.5%) de los productos de la amplificación de distintos loci microsatélites a partir del ADN extraído de diversos individuos de *P. guajava* muestreados en la isla Santa Cruz. a) Amplificación del locus mPgCIR10 en muestras de las localidades de Cerro Mesa (CM), Casajo (Cas), El Garrapatero (Gap1), Media Luna (ML) y Camote (Cam). b) Amplificación del locus mPgCIR11 en muestras de las localidades de Tomás de Berlanga (TB), El Aguacatal (Agu), Los Guayabillos (Gua), Occidente (Occ) y Manzanillo (Man). c) Amplificación del locus mPgCIR21 en muestras de las localidades de Tomás de Berlanga (TB), El Aguacatal (Agu), Los Guayabillos (Gua) y Occidente (Occ). d) Amplificación del locus mPgCIR22 en muestras de las localidades de Casajo (Cas), Camote (Cam), Cerro Mesa (CM) y en el individuo HBGe1. L= Ladder de 100 pb (Invitrogen). C- =Control Negativo.....126
- Figura 6. PCoA de los individuos de *P. guajava* muestreados en la isla Santa Cruz. Los distintos colores representan diferentes localidades.....127
- Figura 7. PCoA de los individuos de *P. guajava* muestreados en la isla Santa Cruz y en la isla San Cristóbal. Los distintos colores representan diferentes subpoblaciones de Santa Cruz (San Cristóbal en este caso se considera como una sola subpoblación).128
- Figura 8. Dendrogramas Neighbor Joining (NJ) por localidades de muestreo de individuos de *P. guajava* en la isla Santa Cruz y San Cristóbal. a) Dendrograma NJ con las longitudes de las ramas normalizadas para visualizar agrupamientos de las localidades según las distancias genéticas promedio entre los individuos contenidos en ellas. También se indica la subpoblación de cada localidad y el bootstrap de cada nodo. Distintos colores de ramas representan distintos agrupamientos (G1, G2, G3a y G3b). b) Dendrograma NJ

- representando a través de la longitud de las ramas, las distancias genéticas halladas entre los individuos de las distintas localidades.129
- Figura 9. Ilustración de los tres clústers en los que el DAPC agrupó a los individuos de *P. guajava* muestreados en Santa Cruz (agrupaciones azul y amarilla, Clúster 1 y 2 respectivamente) y en San Cristóbal (agrupación roja, Clúster 3). Cada punto representa a un individuo, y cada elipse y color representa un clúster. Eigen-values=2130
- Figura 10. Mapa de los individuos de *P. guajava* muestreados en Santa Cruz clasificados según el clúster en el que el DAPC los agrupó (Azul=Clúster 1, Naranja=Clúster 2; ver sección 7.3.2.2). No se indican los individuos de San Cristóbal, todos agrupados en el Clúster 3.131
- Figura 11. Resultados de STRUCTURE considerando los 80 individuos muestreados en Santa Cruz agrupados en subpoblaciones (agrupando en una sola subpoblación a todas las localidades situadas a 2 km o menos entre sí). a) Considerando el valor óptimo de $K=4$ ($\Delta K=59.52$). b) Considerando el segundo mejor valor $K=3$ ($\Delta K=31.28$). Los valores de K corresponden al número de linajes o grupos ancestrales (representados por diferentes colores).132
- Figura 12. Resultados de STRUCTURE considerando los 80 individuos muestreados en Santa Cruz agrupados por localidades así como los 94 individuos muestreados en San Cristóbal por Ponce (2014). a) Considerando el valor óptimo de $K=2$ ($\Delta K=1419.83$). b) Considerando el segundo mejor valor $K=3$ ($\Delta K=3.44$). Los valores de k corresponden al número de linajes o grupos ancestrales (representados por diferentes colores).133
- Figura 13. Frecuencia de los coeficientes de endogamia F (promedio) observados en los 80 individuos de *P. guajava* muestreados en Santa Cruz.134
- Figura 14. Gráfica de los coeficientes de endogamia F de los 80 individuos de *P. guajava* muestreados en Santa Cruz. Cada punto representa un individuo y cada color su localidad. Mientras más alto están con respecto al eje y , mayor es su coeficiente F135

ÍNDICE DE ANEXOS

- Anexo A. Localidades de cada una de las 95 muestras de *P. guajava* (más el individuo HBGe1) colectadas en las salidas de campo llevadas a cabo entre el 25 y el 29 de mayo de 2015. Asimismo, se indican las coordenadas y la altura sobre el nivel del mar de cada individuo muestreado. De igual manera, se indica la cuantificación del ADN extraído de cada muestra de acuerdo a NANODROP, y su calidad de acuerdo a cómo se lo visualizó en los geles de agarosa al 1.5% (una buena calidad se refiere a una banda claramente visible). En amarillo y verde, están resaltadas las 80 muestras de distintas localidades seleccionadas para las reacciones de PCR y posterior genotipado. 136
- Anexo B. Secuencias de los 13 pares de primers (*forward* y *reverse*) con los que se amplificaron los loci microsátélites analizados en este trabajo..... 141
- Anexo C. Genotipado de los 80 individuos de *P. guajava* de la isla Santa Cruz seleccionados para el estudio genético. Se indican los genotipos solo para los 9 loci microsátélites polimórficos; el de los loci monomórficos se omitió, pues presentan el mismo alelo para los 80 individuos. Los diferentes alelos están denotados según su tamaño en pb. Para cada individuo en cada locus, se muestran dos valores numéricos separados por un “/”; estos corresponden a los alelos encontrados en los dos cromosomas homólogos de cada individuo..... 142
- Anexo D. Patrón de picos de las señales de fluorescencia de los amplicones del locus mPgCIR13 para cuatro individuos de *P. guajava* muestreados en la isla Santa Cruz (Cam4, Man1, Man5y Occ3, en ese orden). Éste fue un locus monomórfico. Nótese el patrón de picos idéntico para las cuatro muestras expuestas. 144
- Anexo E. Patrón de picos de las señales de fluorescencia de los amplicones del locus mPgCIR18 para tres individuos de *P. guajava* muestreados en la isla Santa Cruz (Agu1, Cam6, y Be3, en ese orden). Se reportaron dos alelos en este locus para la población estudiada. El individuo Agu1 es homocigoto para el alelo 204 (a), Cam6 es homocigoto para el alelo 202 (b), y Be3 es heterocigoto para los alelos 202 y 204 (c)..... 145
- Anexo F. Patrón de picos de las señales de fluorescencia de los amplicones del locus mPgCIR05 para 5 individuos de *P. guajava* muestreados en la isla Santa Cruz (CH1, Be3, SR5, Gua4 y Occ2, en ese orden). Se reportaron 5 alelos en este locus para la población estudiada. El individuo CH1 es heterocigoto para el alelo 264, y el alelo infrecuente 256 (a), Be3 es homocigoto para el alelo 264 (b), SR5 es heterocigoto para el alelo 264 y 266 (c), Gua4 es homocigoto para el alelo 262 (d) y Occ2 es heterocigoto para los alelos 262 y 264. 146
- Anexo G. Patrón de picos de los amplicones del individuo HBGe1, para los loci en los que mostró cuatro alelos, es decir, una ploidía 4n confirmada: a) Para el locus mPgCIR05, los cuatro alelos encontrados fueron 208, 220, 232 y 264. b) Para el locus mPgCIR17, los alelos fueron 240, 244, 256 y 268. c) Para el locus mPgCIR21, fueron 134, 136, 164 y 166..... 147
- Anexo H. Patrón de picos del individuo Psp_SCZ_02, para el locus mPgCIR05, en el cual mostró 4 alelos, es decir, una ploidía 4n confirmada. 148

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Especies invasoras como amenaza de la diversidad biológica

La invasión de especies exóticas a ecosistemas donde no se encontraban originalmente, es considerada como una de las principales amenazas a la diversidad biológica del planeta. Su efecto es especialmente preocupante en hábitats aislados como los insulares (Primack, 2014). Por esto han surgido notables esfuerzos en campos como la biología de la conservación, la ecología de poblaciones y la genética de poblaciones para comprender estos procesos de invasión y tomar medidas para contrarrestar sus efectos negativos (Sakai et al, 2001).

Los impactos ejercidos por las especies introducidas que se tornan invasoras sobre las especies nativas pueden ser directos, como es el caso en el que éstas compiten y desplazan a las especies nativas ante recursos y espacios limitados. De igual modo, las especies invasoras pueden tornarse nuevos predadores o parásitos para las especies nativas, indefensas al menos en un principio ante estas nuevas amenazas (Sakai, et al., 2001). Las especies invasoras también pueden ejercer un impacto indirecto sobre la biota local, mediante la alteración de las características físicas del hábitat, la depredación aparente, y el desencadenamiento en cascada de alteraciones en las interacciones tróficas del ecosistema invadido (Jager, et al., 2007; Sakai, et al., 2001). También pueden portar patógenos y parásitos frente a los cuales las especies nativas suelen tener poco o nada de resistencia (Whittaker, 1998)

Las especies invasoras pueden llegar a alterar significativamente la estructura de las comunidades a las que llegan; asimismo en varios casos, están vinculadas con una reducción en la abundancia de las especies nativas (Jager, et al., 2007). Son en especial preocupantes aquellas especies invasoras que además son ingenieras ecosistémicas, puesto que en estos

casos, basta la introducción de una o un par de especies para tener una notable alteración a gran escala en el ecosistema invadido (Rilov, et al., 2012). Estas, tras alterar el entorno físico del hábitat invadido, inician una serie de efectos en cadena comenzando con la alteración de la disponibilidad de recursos. Esto “sobrebeneicia” a algunas especies nativas, pero perjudica a la mayoría (Crooks, 2002; Jager, et al., 2007). Las especies invasoras, sobre todo las vegetales, pueden modificar los procesos ecológicos y los servicios que un ecosistema puede proveer (Tye, 2001).

Las especies invasoras pueden afectar a la biota nativa a nivel genético y evolutivo, sobre todo cuando la especie invasora altera el entorno físico del hábitat al que llega (Sakai, et al., 2001). Pero el peor de estos casos, se da cuando existe hibridación entre la especie introducida y una especie nativa (Sakai, et al., 2001). Aquí, la especie invasora corre el inminente peligro de extinguirse rápidamente (Huxel, 1999; Levin, et al., 1995). Este fenómeno ya ha sido observado en varios casos, siendo más común en plantas (Ellstrand y Schierenbeck, 2000). La extinción de una especie nativa por hibridación tiene serias consecuencias, pues esto constituye una notable pérdida de diversidad para la comunidad nativa. Además, mediante introgresión, la especie nativa puede pasar genes hacia la especie introducida, aumentando la adaptabilidad de esta última al ecosistema invadido (Ellstrand y Schierenbeck, 2000).

Aunque una especie exótica puede llegar a un ecosistema nuevo naturalmente, la actividad humana incrementa significativamente la posibilidad de estos eventos, y permite asimismo introducciones a largas distancias. Algunas especies pueden ser introducidas intencionalmente por parte de los humanos a los lugares que colonizan. Esto se ha observado sobre todo en plantas que suelen tener alguna utilidad para la gente (Baker, 1986; Sakai, et al., 2001). Las especies exóticas también pueden ser introducidas accidentalmente a un ecosistema nuevo, viniendo en los medios de transporte empelados por los humanos,

adheridos en los animales domésticos o confundidos con las semillas de las plantas domésticas (Baker, 1986; Ruiz, et al, 2000). No todas las especies introducidas se tornan invasoras agresivas. Son solo algunas las que logran establecerse y luego dispersarse en el ecosistema nuevo independientemente de la actividad humana, antes de tornarse una seria amenaza para la biota nativa (Sakai, et al., 2001). Estas especies invasoras suelen ser generalistas, buenas competidoras, oportunistas y altamente adaptables. Su dispersión es rápida y sus tasas de reproducción elevadas. Además, los procesos de invasión de varias de estas especies son beneficiados por la actividad humana (Primack, 2014; Sakai, et al., 2001).

Aunque la introducción de especies exóticas tiene efectos negativos sobre los ecosistemas a los que llegan, también constituyen “experimentos naturales”, que ofrecen oportunidades únicas para estudiar procesos básicos en la ecología de poblaciones así como para evidenciar la acción de los procesos evolutivos tanto a nivel genético como ecológico (Hagenblad, et al., 2015; Sakai, et al., 2001). Este conocimiento adquirido, permite luego tomar medidas certeras de manejo y control de las especies invasoras que siguen siendo un problema, sobre todo en la actualidad con el comercio y la movilidad humana alcanzado niveles cada vez más altos (Sakai, et al., 2001; Whittaker, 1998).

1.1.1. Especies invasoras en ecosistemas insulares

Las especies invasoras son un problema para la biodiversidad a nivel mundial, pero es en los ecosistemas insulares donde su efecto es en especial preocupante (Vitousek, 1988). 8 de cada 10 extinciones provocadas por el ser humano se han dado en islas. De igual modo, el 40% de especies en peligro de extinción viven en los ecosistemas insulares (Island Conservation, 2016). Desde hace décadas las causas atribuidas a las elevadas tasas de extinción en los ecosistemas insulares son la deforestación, la destrucción de los hábitats, y principalmente la introducción de especies exóticas, sobre todo animales de pastoreo y plantas invasoras (Elton, 1958; Heywood, 1979).

Son múltiples las razones que hacen de los ecosistemas isleños más vulnerables frente a las especies invasoras. En primer lugar, las comunidades de las islas están conformadas por poblaciones naturalmente vulnerables a la extinción, es decir, son comunidades con una diversidad de especies naturalmente baja (sobre todo en islas más pequeñas y alejadas del continente), poblaciones pequeñas, y con una distribución geográfica restringida (Primack, 2014; MacArthur y Wilson, 1967). Así, se ha vuelto común que en varias islas y archipiélagos como Hawái, Tahití y Galápagos, el número de especies introducidas haya superado por cientos al número de especies nativas y endémicas (Tye, et al., 2007; Whittaker, 1998). Cronk y Fuller (1995) sostienen que al existir pocas especies en las islas, existen más nichos ecológicos disponibles, dando a las especies introducidas e invasoras, más posibilidades de prosperar. Esto se suma al hecho de que estas especies exóticas llegan a las islas generalmente libres de sus depredadores y enfermedades naturales (Vitousek, 1988).

Todo esto pone en desventaja a las poblaciones insulares nativas, que tienden a tener una baja diversidad genética. Esto implica que tengan una pobre resistencia a depredadores, patógenos, cambios ambientales y competidores (Vitousek, 1988). Sin embargo, Mueller-Dombois (1973) al contrario de la mayor parte de ecólogos, sostiene que las especies insulares sí son competidoras fuertes, pues han logrado colonizar hábitats difíciles con suelos volcánicos, expuestos a escasez de agua, tormentas, y demás perturbaciones recurrentes. Este autor señaló a la actividad humana como la mayor vulneradora de las especies nativas de las islas, pues ésta es la que altera las condiciones de los ecosistemas insulares desfavoreciendo a las especies nativas en favor de las introducidas.

En sustento a esto, se ha comprobado que ciertas actividades humanas crean condiciones favorables para que una especie introducida se establezca en el ecosistema isleño, y comience a dispersarse tornándose una especie invasora agresiva (Sakai, et al., 2001; Vitousek, 1988). Por ejemplo, se ha planteado que la presencia de ganado (*Bos*

primigenius taurus), caballos (*Equus ferus caballus*) y cerdos (*Sus scrofa domestica*) traídos a las islas por el humano, facilita el establecimiento y la dispersión de plantas invasoras en Hawái y Galápagos, pues éstos no solo son agentes dispersores de semillas, sino que también alteran el hábitat tornándolo ideal para el crecimiento de las plantas invasoras, (Bramwell, 1979; Sakai, et al., 2001). La introducción de algunas plantas exóticas, principalmente fijadoras de nitrógeno, también pueden alterar las condiciones del suelo favoreciendo la proliferación de otras plantas exóticas e invasoras y desfavoreciendo a las plantas endémicas de las islas que pueden sobrevivir con niveles más bajos de este nutriente (Vitousek, 1988; Cuddihy y Stone, 1990). Otros animales introducidos como las cabras (*Capra aegagrus hircus*) y los burros (*Equus africanus asinus*) arrasan con la vegetación contribuyendo a la destrucción de los ya vulnerables hábitats insulares. El continuo pastoreo por parte de estos herbívoros también impide el restablecimiento de la cobertura vegetal nativa (Whittaker, 1998).

1.1.2 Especie de estudio: *Psidium guajava*

La guayaba común, *Psidium guajava* L. (Myrtaceae), es una planta arbórea o arbustiva nativa de las regiones tropicales de Centro y Sudamérica. Se pueden encontrar árboles de *P. guajava* de hasta 10 metros de alto, siempre caracterizados con su tronco rojizo o grisáceo ramificado con la corteza desprendiéndose (Conabio, s.f.). Las hojas de este árbol son verdes, simples opuestas con forma elíptica y margen entero. Las flores son solitarias o en una inflorescencia de cima, siempre en posición axilar, actinomoríficas, con pétalos blancos. Estas flores son perfectas, contienen estructuras tanto masculinas como femeninas. Sus frutos son bayas ovoides que llegan hasta los 8cm de diámetro. Los frutos contienen numerosas semillas pequeñas de hasta 5mm que tardan entre 2 a 3 semanas en germinar (Linnaeus, 1753). La mayoría de los individuos de *P. guajava* suelen ser diploides ($2n=22$), aunque existen algunos cultivares que son aneuploides (Conabio, s.f.).

P. guajava es considerada como una planta útil, siendo aprovechable su madera y principalmente su fruto, rico en vitamina C (Sittther, et al., 2014). Es un cultivo importante en países asiáticos y en los Estados Unidos (Sittther, et al., 2014; Kanupriya, et al., 2011). En Ecuador no se produce guayaba comercialmente a grandes escalas, pues su demanda no alcanza niveles lo suficientemente altos (Productores agrícolas del cantón Patate, comunicación personal, 2017). Sin embargo, desde hace siglos, *P. guajava* ha sido una planta infaltable en los huertos y zonas rurales del país, no solo por el uso que se le da al fruto y a la madera, sino también porque su cultivo ayuda en la restauración de los suelos y en el control de su erosión. De igual modo, en las fincas los árboles de esta especie han sido ampliamente empleados para delimitar las propiedades, proveer sombra al ganado, y establecer barreras que protegen los cultivos y el ganado del viento (Bonilla, s.f.; Caraballo, 2001).

1.1.3 *Psidium guajava* como planta invasora en las islas pobladas de Galápagos

Actualmente, en las islas Galápagos existen más especies de plantas introducidas que endémicas. Para el 2010, se reportaron 879 (Brewington, 2011). De estas, 37 son consideradas especies invasoras altamente agresivas, y una de ellas es *P. guajava*. Fue por sus múltiples utilidades por las que los primeros colonizadores de las Islas Galápagos trajeron esta planta desde el continente (Walsh, et al., 2008). Se piensa que *P. guajava* llegó a Galápagos a finales del siglo XIX, cuando la ganadería y la agricultura eran las principales actividades de los habitantes de las islas (Descubriendo Galápagos, s.f.; Velasco, 2002). Pronto, los individuos de *P. guajava* comenzaron a dispersarse y a propagarse descontroladamente por las islas a donde había llegado, incluidas Santa Cruz, Isabela, San Cristóbal y Floreana (Tye, et al., 2007; Whittaker, 1998). Dentro de las propias fincas se volvió una plaga costosa y difícil de controlar, que además redujo el área cultivable (Carvajal, 2016). La planta asimismo comenzó a invadir territorios más allá de las fincas que a partir de 1959 estarían dentro del Parque Nacional Galápagos (PNG). Aquí, ha desplazado a

varias especies vegetales endémicas incluidos helechos nativos, las plantas del género *Scalesia*, *Miconia robinsoniana* y su pariente endémico *Psidium galapageium* (Parque Nacional Galápagos, 2007). Así, a la presencia de *P. guajava*, se ha vinculado con una reducción de la riqueza y abundancia de especies nativas, y ha impedido la regeneración de la vegetación autóctona en áreas intervenidas (Weber, 2003).

A partir de la segunda mitad del siglo XX, el turismo se vuelve la principal actividad económica de Galápagos, por lo que muchas personas dejan las fincas para dedicarse a esta actividad (Whittaker, 1998). Tras su abandono, estas fincas se tornaron en terrenos alterados con las condiciones ideales para que prospere *P. guajava*, convirtiéndose en extensos bosques monoespecíficos de la planta invasora en cuestión de pocos años (Chiriboga, et al., 2006; GISD, 2005; Tye, 2001). El crecimiento de *P. guajava* está favorecido también por las condiciones climáticas de Galápagos. Aunque *P. guajava* no logró establecerse en las regiones más áridas, proliferó en las partes altas y húmedas de las islas grandes y pobladas donde llegó. Aquí, esta planta invasora recibe abundante lluvia y nutrientes suficientes. Más aun, en estas zonas se desarrolló la agricultura y la ganadería, y por ende las perturbaciones humanas que ayudaron a la invasión (Tye, 2001; Walsh, et al., 2008).

P. guajava cumple con varias de las características que tiene una maleza invasora ideal. En primer lugar, las poblaciones de esta planta crecen rápidamente gracias a que se puede reproducir tanto sexual como asexualmente (Baker, 1974; Loh y Rao, 1989; Reichard y Hamilton, 1997). De igual modo, puede germinar en poco tiempo, en no más de 3 semanas. Su crecimiento es rápido en comparación a otros árboles, y puede crecer al mismo ritmo independientemente de la temporada y las condiciones climáticas (Baker, 1974; Nava, et al., 2014). Otro importante denominador común de las plantas invasoras agresivas con las que cuenta *P. guajava*, es la presencia de flores perfectas (hermafroditas), de modo se pueden autofecundar, lo cual incrementa sus tasas reproductivas (Huenneke y Vitousek, 1989;

Reichard y Hamilton, 1997). Además, las semillas de *P. guajava* son pequeñas, lo cual permite periodos de germinación cortos y una fácil dispersión (Rejmanek y Richardson, 1996). En Galápagos, tanto animales nativos y endémicos como introducidos dispersan las semillas de esta planta invasora (Blake, et al., 2012; Herrera, 2013).

Una última e importante característica que toda planta invasora exitosa debe tener, es plasticidad fenotípica. Esta característica, le permitiría a la invasora tener cambios morfológicos o fisiológicos que le den la posibilidad de adaptarse a cualquier condición ambiental a la que llegue (Baker, 1974). En general, *P. guajava* es una planta generalista y adaptable, capaz de crecer en cualquier tipo de suelo y condiciones de luminosidad. Adicionalmente, contaría con una buena tolerancia a los suelos pobres y a una sequía de hasta 5 meses, lo cual le permitiría sobrevivir sin ningún problema la estación seca y los suelos jóvenes de Galápagos (Binggeli, et al., 1998; Somarriba, 1986). Esto le ha permitido a *P. guajava* y a sus parientes cercanos como *P. cattleianum*, invadir además de Galápagos, varios otros lugares en el mundo, incluyendo Zimbabwe, Sudáfrica, Seychelles, Mauricio (África), Tonga, Samoa Americana, la isla de Chuuk, Nueva Zelanda, Hawái, (Oceanía), el Estado de Florida y Puerto Rico (América) (Haysom y Murphy, 2003; LeRoux, et al., 2008).

La isla Santa Cruz o Seymour, pese a que no fue la primera en colonizarse, actualmente es la más poblada y visitada de Galápagos. Cuenta con una importante actividad ganadera y agrícola, y con la mayor cantidad de especies introducidas en todo el archipiélago (Descubriendo Galápagos, s.f.; Parque Nacional Galápagos, 2007). Según el estudio de Trueman et al. (2014), casi la mitad del territorio de la parte alta y húmeda de la isla Santa Cruz está cubierta por vegetación invasora. Esto tiene sentido considerando que la mayor parte de este territorio, está ocupado por la zona agrícola, fuera de los límites del PNG. Este lugar cuenta con zonas altamente intervenidas y alteradas, con las condiciones propicias para las plantas invasoras (Alvear y Lewis, 2016; Trueman, et al., 2014). Pero no solo la zona

agrícola está afectada, pues el territorio adyacente de la parte húmeda que ya está dentro del PNG, también está ocupado en su mayoría por plantas invasoras (Trueman, et al., 2014). Entre las especies invasoras más recurrentes en la parte alta de Santa Cruz, están la cascarilla (*Cinchona pubescens*), la tupirrosa (*Lantana camara*), la mora (*Rubus niveus*), el pasto elefante (*Pennisetum purpureum*), y el cedro (*Cedrela odorata*) (Tye, et al., 2007).

En la parte húmeda y alta de Santa Cruz, especialmente en la zona agrícola, existen también extensos bosques monoespecíficos de *P. guajava* (Figura 1). Esta planta invasora estuvo presente en esta isla desde la primera mitad del siglo XX (Lundh, 2006; Tye, 2001). Algunos individuos de *P. guajava* han llegado a territorio del PNG, donde compiten intensamente con las especies nativas por la luz, el agua y los nutrientes. La presencia de *P. guajava* en estas zonas es en especial preocupante, pues aquí habita también su cercano pariente endémico *P. galapageium* ante el riesgo de una posible hibridación entre la especie invasora y la endémica (Charles Darwin Foundation, 2017; Ponce, 2016).

La erradicación de una población de planta invasora solo es posible cuando su distribución es limitada o cuando ha pasado poco tiempo desde la colonización inicial (Carvajal, 2016; Hagenblad, et al., 2015). Sin embargo, con una invasora agresiva y bien establecida como *P. guajava*, la erradicación es prácticamente imposible además de costosa. Lo mejor que se puede hacer en estos casos, es establecer planes de control para permitir una regeneración de la vegetación nativa, o al menos para evitar que la invasión se extienda. Aunque el control puede ser laborioso y poco efectivo, para el 2008 en Santa Cruz se logró controlar hasta 180 ha de *R. niveus* y 310 de *C. pubescens*. Sin embargo, los pocos planes de control establecidos para *P. guajava* no han tenido tal éxito, por lo cual han sido dejados a un lado (Parque Nacional Galápagos, 2012).

1.2 Importancia de la diversidad genética y la información que puede brindar

La diversidad genética, es uno de los componentes de la diversidad biológica definida como la variabilidad de genes (o loci en general) y alelos dentro de una población y entre poblaciones (IUCN, 1996; Hughes, et al., 2008). Algunos componentes de la diversidad genética son claramente distinguibles, y permiten caracterizarla y compararla entre distintas poblaciones y especies. Los más útiles de estos componentes, incluyen las diferencias en las secuencias de ADN, la diversidad de nucleótidos, el número de alelos distintos para un mismo locus encontrados en una población, la distribución de los alelos, la heterocigosidad, la riqueza de genotipos, y el porcentaje de loci polimórficos (Hughes, et al., 2008; Ramanatha y Hodkin, 2002).

La diversidad genética se ha convertido en un tema de enorme interés para los biólogos evolucionistas, ecólogos, y también para los mejoradores de plantas y animales de importancia agrícola y ganadera (Fisher, 1930; Ramanatha y Hodkin, 2002). Para los biólogos evolucionistas, es de interés el hecho de que la diversidad genética constituye la materia prima para el cambio evolutivo por selección natural así como para los procesos de especiación (Fisher, 1930; Hickman, et al., 2008).

La información más importante que da la diversidad genética de una población, es sobre la respuesta de ésta a cualquier perturbación o cambio ambiental. Mientras mayor es la diversidad genética, más resistencia tendrá una población a los cambios ambientales, a las enfermedades, las plagas, los depredadores y competidores (Jump, et al., 2008; Fridley, et al., 2007). Ya se ha demostrado experimentalmente que una diversidad genética más alta está vinculada con una mayor diversidad de comportamientos (y por ende adaptabilidad) y una mejor respuesta ante las alteraciones y perturbaciones del medioambiente; esto en microorganismos, plantas y animales (e.g. Boles, et al., 2004; Reusch, et al., 2005).

Asimismo se ha demostrado que la diversidad genética tiene grandes implicaciones a nivel ecológico. Después de todo, características de importancia ecológica como las tasas de crecimiento, la competitividad, la virulencia y las funciones inmunitarias están determinadas al menos en parte por los genes (Hughes, et al., 2008). Como se detallará más adelante, la diversidad genética también tiene que ver con el éxito de invasión de una especie introducida a un nuevo ecosistema (Hughes, et al., 2008).

1.2.1. Patrones de la diversidad genética de poblaciones insulares y las fuerzas detrás de éstos

Como ya se revisó, las poblaciones insulares son naturalmente vulnerables. Generalmente, las islas son colonizadas solo por muestras o subconjuntos de poblaciones ancestrales más grandes provenientes de masas de tierra más grandes, generalmente los continentes (Stuessy, et al., 2014). Estas muestras primeramente van a ser reducidas, con un número de individuos menor al de la población ancestral. Asimismo, los individuos que se separan de la población ancestral para colonizar la isla, son “tomados” aleatoriamente. De este modo, por azar, quedarán atrás varios alelos, disminuyéndose de paso la probabilidad de tener individuos heterocigotos (Piry, et al., 1999). Así, mucha de la diversidad genética de la población ancestral se pierde en el momento de la colonización de la isla. A este proceso se lo conoce como cuello de botella, específicamente originado por un efecto fundador (Frankham, 1997; Hickman, et al., 2009). Por esta razón, las poblaciones insulares suelen presentar una diversidad genética reducida, lo cual según varios ecólogos, implica respuestas evolutivas débiles, menor adaptabilidad frente a cambios ambientales, menor competitividad y menor resistencia a competidores, enfermedades y plagas (Jump, et al., 2008). En los eventos de cuello de botella, es importante considerar el tamaño de la población colonizadora. Cuando ésta es más pequeña, habrá una mayor pérdida de diversidad genética con respecto a la población ancestral del continente. Más aun, estas poblaciones pequeñas son

altamente susceptibles a continuar perdiendo diversidad genética con el pasar de las generaciones por efecto de la deriva génica (Frankham, et al., 2010). Aquí, varios alelos se pueden perder solo por efectos del azar. Asimismo, de mantenerse la población reducida en tamaño, la heterocigosidad de la población se pierde exponencialmente a medida que transcurren más generaciones desde el momento de la colonización (Stuessy, et al., 2014).

Los efectos fundadores son los determinantes iniciales del pool genético de las poblaciones insulares. Sin embargo, existen otros factores importantes para explicar sus niveles de diversidad genética una vez que se han establecido definitivamente en una isla. Stuessy et al. (2014) proponen los siguientes factores que explican, además de los efectos fundadores, los patrones de diversidad genética observados en las poblaciones de plantas insulares: 1) La geografía y características físicas de las islas, 2) La naturaleza y la ecología de la especie en cuestión, sobre todo los mecanismos reproductivos de ésta. 3) El tipo de especiación que originó a la especie, en el caso de especies endémicas. 4) Los eventos de hibridización. 5) Las alteraciones humanas. Otros factores como los tamaños poblacionales, el número de introducciones o colonizaciones a partir de la población ancestral, y las tasas de mutación, son de importante consideración también (Hamrick y Godt, 1997).

Las características físicas y geográficas de la isla son uno de los factores más importantes para determinar la variabilidad genética de una población insular. MacArthur y Wilson (1967) plantearon la teoría de la biogeografía de las islas, la cual señala que mientras más extensa es una isla y más cercana está a una fuente de diversidad como el continente, tendrá una mayor diversidad de especies. Stuessy et al. (2014), sugieren que la diversidad genética de una población de una especie en particular puede funcionar de manera análoga. Islas más extensas tendrían una mayor diversidad de hábitats de modo que la misma selección natural favorece en este caso al mantenimiento de la diversidad genética. Las islas más cercanas a un continente, tienen mayores probabilidades de recibir nuevos genotipos por

la inmigración de nuevos individuos, elevando así la diversidad genética de las poblaciones de aquellas islas (Hughes, et al., 2008; Stuessy, et al., 2014). La edad de las islas y eventos como desastres naturales o el fenómeno de El Niño que afectan directamente la geografía de las islas, también deben ser tomados en cuenta para explicar la diversidad genética de una población insular (Stuessy, et al., 2014; Walsh, et al., 2008).

Las características naturales de la especie colonizadora, como sus mecanismos de dispersión y reproducción, también son importantes para explicar la diversidad genética de una población insular. Aquellas especies que tienen mecanismos de dispersión eficientes, como las que tienen varias especies de plantas invasoras, tienen mayor probabilidad de tener flujo génico y de seguir recibiendo nuevos genotipos desde las poblaciones fuente del continente y/o de tener más colonizaciones e introducciones exitosas (Crawford, et al., 2009). En cuanto a los mecanismos de reproducción, la capacidad de una especie de reproducirse asexualmente en los estadios iniciales de la colonización, y sexualmente una vez que se estableció, contribuye marcadamente en mantener el potencial invasor de esa especie (Carlquist, 1974; Crawford, et al., 2009). El tiempo que ha pasado desde la colonización, también explica la diversidad genética de una población. Tras la colonización inicial la diversidad genética de la población suele ser baja (Stuessy, et al., 2006).

La hibridación interespecífica y la introgresión es otro factor que puede explicar una diversidad genética alta en poblaciones insulares. Esto ya ha sido reportado para especies de plantas endémicas en archipiélagos grandes como Hawái y Las Canarias (Carr, 2003; Francisco-Ortega, et al., 1996). En estos casos, la evidencia genética señala que existe flujo génico entre las poblaciones de dos especies distintas. Sin embargo, la selección natural actuaría fuertemente en unos pocos genes específicos, manteniendo ambas especies concretamente distintas una de la otra desde el punto de vista morfológico (Friar, et al.,

2007). La hibridación interespecífica es más probable que se dé entre taxones cercanamente emparentados (Stuessy, et al., 2014).

También son importantes para explicar la diversidad genética de las poblaciones insulares, aquellas actividades humanas que pueden alterar las características físicas de las islas (Sakai, et al., 2001; Whittaker, 1998). Estos cambios generan diferentes presiones selectivas y afectan positiva o negativamente al flujo génico (Stuessy, et al., 2014). La movilidad humana y el comercio también pueden intervenir en el flujo génico entre poblaciones de distintas islas o entre islas y los continentes, teniendo esto incidencia directa en la diversidad genética de las poblaciones insulares, sobre todo de especies introducidas como se detallará a continuación (Sakai, et al., 2001; Whittaker, 1998).

1.2.2. Patrones de la diversidad genética de especies vegetales invasoras

Para explicar los patrones de diversidad genética observados en poblaciones de plantas introducidas en ecosistemas insulares, aplican básicamente los mismos factores planteados en la sección anterior. Sin embargo, es el efecto fundador el factor que más debe ser tomado en cuenta (Stuessy, et al., 2014). De igual modo, las características biológicas de la especie, sobre todo el mecanismo de reproducción, son fundamentales para explicar los patrones de diversidad genética de una planta introducida (Baker, 1974; Stuessy, et al., 2014).

Como se mencionó anteriormente, toda población que coloniza una isla pasa por un efecto fundador. En consecuencia de este evento, casi siempre se espera que la población introducida en el ecosistema insular presente una diversidad genética notablemente menor a la de la población fuente o de origen (Hagenblad, et al., 2015; Stuessy, et al., 2014). Este hecho, nos conduce a una paradoja con respecto a las plantas invasoras en un ecosistema insular. Ya se mencionó que la adaptabilidad, la competitividad y la plasticidad fenotípica son características importantes para que la invasión sea exitosa (Baker, 1974; Hughes, et al., 2008). La paradoja está en que en teoría, todas estas características no son compatibles con

una población que presenta una diversidad genética baja. Sin embargo, varias plantas invasoras tienen éxito a pesar de tener diversidades genéticas bajas, no solo en ecosistemas insulares si no en continentales también. Un caso extremo, es el de *Miconia calvescens* en la isla de Tahití, donde la diversidad genética es tan baja, que presumiblemente toda la población provino de un solo individuo (LeRoux, et al., 2008).

Considerando casos como estos, Xu et al. (2015) mencionan que la diversidad genética, al menos aquella estimada en base a marcadores neutros (ver sección 1.3), no sería del todo importante para explicar el éxito de invasión de una población de plantas introducida. De mayor importancia lo sería la capacidad de esta población para evolucionar rápidamente con el fin de adaptarse al nuevo ecosistema (ver también Dlugosch y Parker, 2008; LeRoux, et al., 2008). Con respecto a esto, otros autores destacan la importancia de la plasticidad fenotípica, de características preadaptadas, y de genotipos generalistas (Baker, 1974; Clark, et al., 2013; Parker, et al., 2003; LeRoux, et al., 2007). Estas características explicarían el éxito de una población de plantas introducidas en convertirse en invasoras agresivas, puesto que les otorga una mayor adaptabilidad a cualquier hábitat nuevo al que lleguen. Esto incluso si su diversidad genética es baja (Baker, 1974; Hughes, et al., 2008).

Novak y Mack (2005) por su parte, no restan importancia a la diversidad genética. En su revisión, ellos señalan en primer lugar que son minoría los casos de plantas invasoras exitosas con una diversidad genética baja. Más bien, la mayoría de poblaciones invasoras mantendrían niveles moderadamente altos de diversidad genética tras la colonización a pesar de los efectos fundadores. Esto incluso si llegan a una isla de espacio restringido o si el tamaño efectivo de las poblaciones colonizadoras es bajo. La conservación de la diversidad genética tras la colonización se vería facilitada por eficientes mecanismos de dispersión y la reproducción entrecruzada, pero principalmente por múltiples eventos de introducción de la especie invasora en el hábitat nuevo (Barrett y Husband, 1990; Hagenblad, et al., 2015;

Stuessy, et al., 2014). De hecho, en la mayoría de casos de invasiones de plantas exóticas, hay evidencia de que hubo más de una introducción. Esto también puede explicar algunos de los casos en los que la diversidad genética de las poblaciones introducidas iguala o supera a la de las poblaciones presentes en el rango de distribución natural (Hagenblad, et al., 2015).

1.3. Marcadores moleculares

Durante años, los marcadores morfológicos eran la única manera de caracterizar la variabilidad genética en y entre las poblaciones. Aunque son fáciles de observar, estos marcadores cuentan con notables desventajas. La principal es que los genes que se expresan en características morfológicas son poco polimórficos y representan un porcentaje extremadamente bajo del total del genoma, de modo que estos marcadores no son representativos ni informativos (DeVienne, 2003). Además, no todas las características morfológicas son notables a lo largo de todo el ciclo de vida del individuo, y son pocas de estas características las que se pueden estudiar (Cubero, 2002).

Por estas razones, es que actualmente se estudia la diversidad genética de una población utilizando marcadores moleculares. Estos son loci o secuencias de ADN polimórficas, es decir, que varían entre individuos de una misma población o especie (DeVienne, 2003; Nicholl, 2008). Esto permite determinar los genotipos de los distintos individuos que se están estudiando para los loci empleados como marcadores, y así calcular algunos de los indicadores de diversidad genética de la población incluyendo frecuencias y número de alelos y de genotipos, la distribución de los mismos, y heterocigosidades, en el caso de los marcadores codominantes (Hughes, et al., 2008). Los marcadores moleculares deben cumplir otras características a parte de un elevado polimorfismo para ser informativos y prácticos. Estas incluyen: 1) Que su detección sea fácil o rápida. 2) Que no haya interacciones epistáticas ni pleotrópicas entre el locus marcador y otros loci. 3) Que puedan ser detectados en cualquier etapa del ciclo de vida e independientemente de las condiciones

ambientales. 4) Que se distribuyan dispersa y homogéneamente a lo largo del genoma, 5) Que no se requiera de grandes cantidades de una muestra de ADN de los individuos estudiados, y 6) Que sean neutrales, es decir que el locus marcador no esté afectado por la selección natural ni efectos fenotípicos. Casi todo el polimorfismo del genoma a nivel molecular es neutral (Cubero, 2002; DeVienne, 2003). Por esta razón, a la diversidad genética estimada en base a marcadores moleculares se la llama diversidad genética neutra (Holderegger, et al., 2006)

Los marcadores moleculares pueden determinar la diversidad genética al mostrar un patrón de bandas específico tras el uso de enzimas de restricción o bien tras ser amplificados por PCR (reacción en cadena de la polimerasa). Algunos de estos marcadores basados en la amplificación por PCR como los AFLPs, los minisatélites, los RAPDs (Random amplified polymorphic DNA) y los AFLPs (Amplified fragment length polymorphism) son marcadores dominantes, que cuentan con la desventaja de no permitir distinguir individuos homocigotos y heterocigotos, perdiéndose los índices de heterocigosidad, uno de los más importantes indicadores de diversidad genética. Por otro, los marcadores codominantes como los SNPs (single nucleotide polymorphism) y los Microsatélites o SSRs (Simple Sequence Repeats) sí permiten hacer esta distinción, lo que los hace más informativos (DeVienne, 2003).

Como se mencionó, la diversidad genética inferida a partir de marcadores moleculares es neutra. Esto significa que la selección natural no actúa sobre los loci marcadores, lo cual implica que esta variación por definición no debería tener consecuencias ecológicas directas ni tampoco un efecto directo en el éxito reproductivo de los individuos (Holderegger, et al., 2006; Hughes, et al., 2008). La ventaja de esto, es que estos loci han acumulado libremente mutaciones y cambios que realmente reflejan la distancia genética entre individuos y entre poblaciones que se van acumulando en el tiempo (DeVienne, 2003). Gracias a esto, los marcadores moleculares neutros son excelentes para hacer estimaciones de procesos

randómicos como la deriva génica (Stuessy, et al., 2014). Además, resultan ideales para obtener caracterizaciones y patrones del flujo génico, migración y dispersión de la población estudiada que se ha dado a corto o largo plazo. (Holderegger, et al., 2006). Todo esto gracias a que los loci que no están afectados por las presiones selectivas se intercambian más fácilmente entre individuos y poblaciones que los que sí están afectados. Por esta misma razón, los marcadores neutros también permiten determinar si se está dando hibridación entre dos especies cercanamente emparentadas (Kane, et al., 2009; Ponce, 2016). En todo caso, para tener resultados informativos se deben considerar múltiples loci marcadores en estos estudios (mínimo alrededor de una decena en los SSRs) dado a que un número más limitado de marcadores no cubrirían representativamente la diversidad de todo el genoma (Hagenblad, et al., 2015; Kirk y Freeland, 2011).

Por el hecho de no estar sujetos a selección, los marcadores moleculares neutros no resultan ideales para obtener directamente información del potencial evolutivo y adaptativo de la población estudiada. Para esto, el estudio de diversidad genética debe estar centrado en genes directamente vinculados a una característica de importancia ecológica (Holderegger, et al., 2006; Stuessy, et al., 2014). De todos modos, como los marcadores moleculares neutros cubren ampliamente el genoma y acumulan todos los cambios y la variabilidad entre individuos y poblaciones, se pensó que existía una fuerte correlación entre la diversidad genética neutra y la de los loci de importancia adaptativa (Holderegger, et al., 2006; DeVienne, 2003). Reed y Frankham (2001) encontraron que esto sí era cierto para algunas características de relevancia ecológica y adaptativa, pero no para muchas otras. De este modo, se concluyó que la variabilidad neutra no ofrece una aproximación confiable a la diversidad de todos los genes involucrados en características de importancia adaptativa. Sin embargo, se encontró que un indicador de diversidad neutra, la heterocigosidad, sí estaba fuertemente correlacionada con el fitness (supervivencia y éxito reproductivo) individual

dentro de la población estudiada (Reed y Frankham, 2002). En cuanto al tema de las poblaciones invasoras, la diversidad genética neutra también ha demostrado ser de importancia, pues existe una correlación entre ésta y el éxito de la invasión (Genton, et al., 2005; LeRoux, et al., 2008)

1.3.1. Marcadores microsatélites

Los microsatélites o SSRs, son loci no codificantes, empleados comúnmente como marcadores moleculares neutros. Están constituidos por repeticiones en tándem de secuencias de uno a 5 nucleótidos. A cada una de estas secuencias de nucleótidos que se repiten se los denomina motivos (Powell, et al., 1996). El número de veces que se repite un motivo puede variar entre unas pocas unidades hasta decenas de repeticiones. Los microsatélites son abundantes y bien repartidos en el genoma de los eucariotas. Así se espera que cubran representativamente toda la diversidad del genoma. En las plantas superiores, se estima que en promedio, existe un locus microsatélite cada 30 a 100 kb (Morgante y Olivieri, 1993). Serían más comunes los motivos dinucleótidos, sobre todo (AT) n en el caso de las plantas (Powell, et al., 1996).

Además de estar presentes en todos los eucariotas, de estar bien repartidos por todo el genoma, y de su elevado polimorfismo, la técnica empleada para analizar los microsatélites es relativamente sencilla. Básicamente, se emplean primers complementarios a las regiones que flanquean el locus microsatélite que se desea analizar, el cual es luego amplificado por PCR. Lo único complicado del uso de microsatélites, es el diseño de estos primers, cosa que requiere conocer la secuencia del genoma del organismo (DeVienne, 2003; Picó y Pérez de Castro, 2012). Sin embargo, actualmente existen publicados cientos de primers ya estandarizados para amplificar microsatélites de múltiples especies de animales y plantas, incluida *P. guajava*. Para esta planta en particular, están publicados más de 100 pares de primers para amplificar regiones microsatélites (Risterucci, et al., 2005; Guavamap, 2008).

Adicionalmente, se ha demostrado que primers para microsatélites específicos para una especie, pueden ser empleados para amplificar los mismos microsatélites homólogos en otras especies cercanamente emparentadas (e.g. Nogueira, et al., 2015; Ponce, 2016).

En el presente trabajo, se emplearon 13 pares de primers homólogos específicos para regiones microsatélites de *P. guajava* (Risterucci, et al., 2005), con el fin de evaluar la diversidad genética de la población de esta especie invasora en la isla Santa Cruz, Galápagos.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo General

Determinar la diversidad genética de la población de *P. guajava* de la isla Santa Cruz, Galápagos, empleando microsatélites como marcadores moleculares.

2.2. Objetivos Específicos

- a) Estandarizar la amplificación por PCR de SSRs de *P. guajava* , empleando primers homólogos y aplicando el sistema descrito por Blackett, et al. (2012).
- b) Analizar la estructura genética y la distribución de la diversidad genética en la población de *P. guajava* en la isla Santa Cruz, Galápagos.
- c) Evaluar los efectos de ciertas fuerzas evolutivas (e.g. flujo génico y migración, deriva génica, efecto fundador, endogamia) en la población de *P. guajava* en la isla Santa Cruz, Galápagos.
- d) Comparar la diversidad genética de la población de *P. guajava* de la isla Santa Cruz con la de la isla San Cristóbal. Compararla también con la diversidad genética de otras poblaciones continentales e insulares de *P. guajava*, así como con la de otras poblaciones de plantas invasoras en el mundo.
- e) Sugerir patrones de la introducción y colonización de *P. guajava* en las islas San Cristóbal y Santa Cruz.

3. JUSTIFICACIÓN

La introducción de especies exóticas que se tornan invasoras, es considerada como una de las mayores amenazas a la biodiversidad en el mundo, siendo su impacto especialmente fuerte en los ecosistemas isleños como las Islas Galápagos (Sakai, et al., 2001; Whittaker, 1998). La isla Santa Cruz, es la más poblada del Archipiélago de Galápagos. Aquí se ha llevado a cabo una importante actividad agrícola y ganadera, sobre todo en el siglo XX (Carvajal, 2016). Por esta razón, cientos de especies introducidas llegaron a esta isla, incluyendo invasoras agresivas como *P. guajava* (Walsh, et al., 2008) La proliferación de esta planta invasora en las zonas elevadas y húmedas Santa Cruz, se le vincula con la reducción en la riqueza y abundancia de especies nativas y con el impedimento de la regeneración de la vegetación autóctona en zonas alteradas (Trueman, et al., 2014; Weber, 2003). Además, *P. guajava* se convirtió una plaga en los campos restando espacio a los cultivos, tornándose un perjuicio para los agricultores de Santa Cruz (Carvajal, 2016).

Aunque permanece abierta la pregunta de qué tan importante es la diversidad genética para explicar la adaptabilidad de una población, el analizarla puede brindar información valiosa. En el caso de la población de *P. guajava* de Santa Cruz, nos dice qué tan buena competidora es esta población, qué tan amenazante es para las especies nativas y endémicas de la isla y qué tan problemática podría ser en el futuro (Jump, et al., 2008; Novak y Mack, 2005; Xu, et al., 2015). De igual modo, se puede deducir a partir de información genética si se dieron una, pocas o múltiples introducciones de *P. guajava* en la isla (Novak y Mack, 2005). También se puede conocer la dinámica y la expansión geográfica de la invasión y el como ésta puede ser facilitada por la presencia del ser humano y sus actividades (Hagenblad, et al., 2015; Sakai, et al., 2001).

Conocer la diversidad genética de la población de *P. guajava* de Santa Cruz, nos puede dar pautas sobre su capacidad de respuesta ante cambios ambientales (Primack, 2014). De igual manera, conociendo la diversidad genética, se puede inferir la probabilidad del éxito de una estrategia de control (Gaskin, et al., 2005; Shaik, et al., 2016). En el caso de *P. guajava* en Santa Cruz, esta información permitirá optimizar e implementar mejores estrategias para controlar la invasión de esta planta, o al menos determinar si vale la pena o no invertir esfuerzo y recursos en esta causa (Prentis, et al., 2008; Sakai, et al., 2001; Shaik, et al., 2016). La consideración de factores geográficos, sociales y ecológicos en este estudio, ayudará también a identificar aquellos elementos clave que facilitan el flujo génico así como la dispersión y la invasión de *P. guajava* (Richardson, et al., 2016). De este modo, se podrán plantear estrategias enfocadas a estos elementos, con el fin de combatir la amenaza que representa esta especie invasora para la biota nativa de Santa Cruz.

4. ÁREA DE ESTUDIO

La isla Santa Cruz, es la más poblada y la segunda en extensión del archipiélago de Galápagos (Carvajal, 2016). Esta isla contiene 7 zonas distintas, que son: 1) la zona costera, 2) la zona árida, 3) la zona de transición, 4) la zona de Scalesia, 5) la zona marrón, 6) la zona de Miconia, y 7) la zona de pampas (Kricher, 2006).

La zona árida ocupa las tierras bajas de la isla y una buena parte del norte de la misma. La zona de pampa por su parte, se sitúa en la parte más alta y lluviosa. En el sur de la isla, por debajo de la zona de pampa, se sitúan la zona de Miconia (dominada por la endémica *M. robinsoniana* en donde no ha habido intervención humana), y la zona marrón, que también son lluviosas (Kricher, 2006). En Santa Cruz, estas dos zonas, sobre todo la marrón, están ocupadas en gran parte por la zona agrícola. Por lo tanto, son las más afectadas por plantas invasoras como *P. guajava*, *C. pubescens* y *R. niveus*, así como por animales domésticos (Kricher, 2006; Trueman, et al., 2014). Por debajo de la zona marrón en el sur de la isla, y en la parte alta del norte, está la zona de Scalesia (dominada por plantas de este género, sobre todo de la especie *Scalesia pedunculata*), que presenta una humedad moderada. Aunque en menor medida que las zonas más altas, sí se ha visto afectada por animales ferales y plantas invasoras. Por último, entre la zona árida y las tierras húmedas de la zona de Scalesia, está la zona de transición. Aquí coexisten especies de las zonas áridas y de las húmedas, incluidas algunas introducidas (Kricher, 2006).

En el presente estudio, se recogieron muestras de *P. guajava* a lo largo de toda su área de distribución en la isla Santa Cruz, que abarca todas las zonas altas y húmedas de la misma aunque también las zonas de Scalesia y de transición adyacentes (Rivas-Torres, et al., en revisión). El muestreo cubrió un total de 20 localidades (Anexo A; Figura 2) de las que se

recolectaron hojas de 95 individuos de *P. guajava* para la extracción de ADN. Además se recolectaron dos individuos: HBGe1 de la localidad de Los Gemelos y el individuo Psp_SCZ_02 de la localidad de Santa Rosa que por observaciones morfológicas podrían ser potenciales híbridos o pertenecer a la especie *Psidium acutangulum*. que ha sido reportada también para Santa Cruz de acuerdo a muestras que se encuentran en el Herbario Nacional.

La extracción y cuantificación del ADN a partir de las hojas colectadas, se llevó a cabo en el Laboratorio de Biología Molecular del Galapagos Science Center en la ciudad de Puerto Baquerizo Moreno, provincia de Galápagos. La dilución del ADN, la amplificación de microsatélites marcadores, el genotipado y el análisis de datos se lo realizó en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Universidad San Francisco de Quito, en el campus de Cumbayá, provincia de Pichincha. La electroforesis capilar fue llevada a cabo por MacroGen (Seúl, República de Korea).

5. MATERIALES

5.1. Material Vegetal

- Hojas de 95 individuos de *P. guajava* recolectados en 20 localidades de la isla Santa Cruz (Anexo A; Figura 2):
 - Granillo Rojo: 3 muestras
 - Los Gemelos: 1 muestra
 - Salasaca: 5 muestra
 - Primicias: 6 muestras
 - Camote: 6 muestras
 - Cerro Mesa: 6 muestras
 - Cascajo: 6 muestras
 - Vía Garrapatero: 1 muestra
 - Media Luna: 7 muestras
 - Bellavista: 6 muestras
 - Tomás de Berlanga: 4 muestras
 - El Aguacatal: 3 muestras
 - Los Guayabillos: 6 muestras
 - Occidente: 6 muestras
 - Manzanillo: 6 muestras
 - Santa Rosa: 6 muestras
 - Pájaro Brujo 4 muestras
 - Elias Cando: 3 muestras
 - Chato: 6 muestras
 - Caseta: 4 muestras
- Hojas del individuo HBGe1 recolectado en la localidad de Los Gemelos, isla Santa Cruz.
- Hojas del individuo Psp_SCZ_02 recolectado en la localidad de Santa Rosa, isla Santa Cruz, por parte de un investigador asociado.

5.2 Extracción de ADN de hojas

- Mortero y pistilo
- Hojas de los individuos de *P. guajava* muestreados
- Cama de arena Multi-Blok Heater (ThermoScientific)
- Microcentrífuga 5415D (Eppendorf)
- Cloroformo/alcohol isoamílico 24:1
- Buffer de extracción CTAB 2X
- Isopropanol 100% (Merck)
- TE (Tris base 10mM, EDTA 1mM, pH 8.0)
- Tubos Eppendorf 1.5mL
- 2, B-mercaptoetanol
- Etanol 70%

5.3 Cuantificación y dilución de ADN

- ADN extraído de *P. guajava*
- UltraPure™ Distilled Water (GIBCO)
- TE (Tris base 10mM, EDTA 1mM, pH 8.0)
- NANODROP 1000 (Thermo Scientific)

5.4. Amplificación de loci microsatélites por PCR

- ADN diluido de *P. guajava* (concentración de 20ng/μl)
- 13 pares de primers homólogos (Ponce, 2014; Risterucci, et al., 2005)
 - 13 primers *forward* (Anexo B) modificados con el oligonucleótido o cola universal 5'-GCCTCCCTCGCGCCA-3' (Blackett, et al., 2012)
 - 13 primers *reverse* (Anexo B)
- Oligonucleótidos 3'-CGGAGGGAGCGCGGT-5' (complementarios a la cola universal) marcados con fluoróforos VIC, 6FAM, NED o PET.
- Tubos Eppendorf 1.5mL
- Tubos Eppendorf 0.2mL
- Taq Platinum ADN polimerasa 5U/μL (Invitrogen)
- Buffer PCR 10X (Invitrogen)
- MgCl₂ 50mM (Invitrogen)
- UltraPure™ Distilled Water (GIBCO)
- dNTPs 10 mM (Invitrogen)
- Biometra T professional gradient Thermocycler #554-0
- T100 Thermal Cycler (Bio-Rad)

5.5. Electroforesis en geles de agarosa

- Fotodocumentador Biorad Gel Doc XR
- SeaKem® LE Agarose
- SYBR® Safe DNA gel stain (Invitrogen)
- Fuente de Poder EPS -300 II (C.B.S Scientific)
- EC360M Electrophoretic Gel System (Maxicell®)
- MGU-502T Horizontal Midi-Gel Kit (C.B.S Scientific)
- TBE 1X (Tris – Ácido Bórico – EDTA)
- TBE 10X (Tris – Ácido Bórico – EDTA)
- Blue Juice 10X Loading Buffer (Invitrogen)
- Ladder 100bp (Invitrogen)

5.6. Genotipado

- Placas MicroAmp® Optical 96-Well Reaction Plate (Applied Biosystems®)
- 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems®)
- Software GeneMarker® (SoftGenetics LLC, 2012)

5.7. Análisis de datos

- Software R-studio (RStudio Team, 2015), incluyendo:

- Paquete *adegenet* (Jombart, et al., 2016)
- Paquete *ape* (Paradis, et al., 2017a)
- Paquete *pegas* (Paradis, et al., 2017b)
- Paquete *ade4* (Dray, et al., 2017)
- Paquete *diveRsity* (Keenan, 2017)
- Paquete *hierfstat* (Goudet y Jombart, 2015)
- Paquete *ggplot2* (Whickham y Chang, 2016)
- Paquete *ggtree* (Yu, et al., 2017)
- Software HP-RARE 1.0 (Kalinowski, 2005)
- Software STRUCTURE 2.3.4. (Pritchard, et al., 2004)
 - Structure Harvester (Earl y von Holdt, 2014)
 - CLUMPP 1.1.2 (Jakobsson y Rosenberg, 2007)
 - distruct 1.1 (Rosenberg, 2004)
 - Adobe Illustrator®
- Software BOTTLENECK 1.2.02 (Cornuet y Luikart, 1997)
- Software ArcMap 10.2 (ESRI, 2015)
- Software DIYABC 2.1.0 (Cornuet, et al., 2008)
- Microsoft Excel ®

6. MÉTODOS

6.1. Muestreo de *P. guajava* en la isla Santa Cruz

En la salida de campo llevada a cabo entre el 25 y el 29 de mayo de 2015, se muestrearon un total de 95 individuos de *P. guajava* a lo largo de toda su área de distribución en la isla Santa Cruz. Éstos provinieron de 20 localidades distintas. Los individuos muestreados de una misma localidad, estaban a una distancia mínima de 100 mts. entre sí. En todas las localidades, se intentó muestrear de 3 a 7 individuos distintos. Sin embargo, en la localidad de Los Gemelos y en El Garrapatero, *P. guajava* fue escasa. En estos lugares solo fue posible muestrear un individuo. Como se mencionó antes, en la localidad de Los Gemelos se recolectó también al individuo HBGe1. En Santa Rosa por su parte, se recolectó además al individuo Psp_SCZ_01.

De cada individuo muestreado, se tomaron sus coordenadas con el GPS y se colectaron 4 o 5 hojas jóvenes, las cuales fueron depositadas en fundas Ziploc® y mantenidas en hieleras a 4°C durante la salida de campo. El material vegetal fue mantenido en refrigeración a -20°C en el Laboratorio de Biología Molecular del Galapagos Science Center previo a la extracción de ADN.

6.2. Extracción y cuantificación de ADN de *P. guajava*

A partir de las hojas jóvenes recolectadas de cada individuo muestreado, se extrajo el ADN siguiendo el protocolo de Shagai-Marroof et al. (1984). En primer lugar, se tomaron 25mg de hoja, y se maceró con ayuda del pistilo en el mortero previamente desinfectado con etanol al 70%. El material vegetal macerado de cada individuo se lo colocó en diferentes tubos eppendorf de 1.5 mL. En éstos se añadió el detergente catiónico CTAB y el β -mercaptoetanol. Estos componentes, respectivamente precipitaron y desnaturalizaron (por

medio de la reducción de los enlaces disulfuro) las proteínas presentes en el material vegetal. Esta solución se dejó incubando en la cama de arena a 62°C durante una hora, con periódicas agitaciones de los tubos cada 15 minutos. Posteriormente, se añadió la solución de cloroformo-alcohol isoamílico 24:1, se dejó reposar 20 minutos y luego se centrifugó igualmente 20 minutos a 13800 RPM. Este proceso separó las proteínas ya denaturadas y precipitadas, de los ácidos nucleicos que permanecieron en fase acuosa. Se recuperó esta fase acuosa y se lo pasó a nuevos tubos eppendorfs de 1.5mL. En éstos se vertió el alcohol isopropílico y luego se los agitó suavemente. Este reactivo precipitó el ADN tras una centrifugación de 5 minutos a 5000 RPM, dando lugar al pellet que contiene al ADN extraído. Este pellet fue recuperado tras descartar el sobrenadante y lavarlo con etanol al 70%. Luego se descartó el etanol y se dejó secar en la cámara de flujo laminar, permaneciendo el pellet íntegro en una de las paredes del tubo. Finalmente, el ADN del pellet fue resuspendido en 50 µl de TE. Éste fue conservado en refrigeración a -20°C.

La cuantificación del ADN extraído así como su pureza con respecto a contaminantes proteicos y fenólicos se la determinó por espectrofotometría con ayuda del NANODROP 1000. La calidad y la integridad del ADN extraído de cada individuo se lo visualizó en electroforesis en geles de agarosa al 1.5%.

6.3. Amplificación de microsatélites por PCR

De los 95 individuos muestreados, se seleccionaron 80 (Anexo A). Se escogieron por lo menos 4 individuos por cada localidad (o todos los individuos de las localidades donde se muestrearon menos de 4), dando prioridad aquellos cuyo ADN extraído presentaba la mayor concentración y la mejor calidad. También se consideraron para el genotipado a los individuos HBGe1 y Psp_SCZ_02 mencionados anteriormente. El ADN de todos los individuos seleccionados, se diluyó en UltraPure™ Distilled Water de GIBCO (Agua de PCR) a una concentración de 20 ng/µl.

Las reacciones de PCR se las hizo empleando 13 de los pares de primers específicos para microsatélites de *P. guajava* descritos por Risterucci et al. (2005), y que a su vez demostraron ser polimórficos en el trabajo de Ponce (2014). Los primers *forward* de cada par, fueron modificados para incluir una secuencia adicional denominada cola universal, complementaria a otro oligonucleótido marcado con un fluoróforo, necesario para el genotipado (Blackett, et al., 2012).

Una vez diseñados estos primers *forward* modificados, se procedió a evaluar su funcionamiento en 5 de las 80 muestras seleccionadas (las de mayor concentración de ADN extraído), empleando la PCR (siguiendo el protocolo descrito en el siguiente párrafo) con la temperatura de annealing de 55°C reportada por Ponce (2014). En estas PCRs, fue necesario incluir el oligonucleótido complementario a la cola universal de los primers *forward*. Los resultados de estas PCRs se las visualizó en geles de agarosa al 1.5%. En los casos de aquellos pares primers que no amplificaron claramente con esta temperatura o que demostraron inespecificidades, se reestandarizó la temperatura de annealing realizando una gradiente entre los 50 y 63°C en el Biometra T professional gradient Thermocycler #554-0.

Una vez probado el funcionamiento de cada par de primers y estandarizada la temperatura de annealing de las PCRs, se procedió a amplificar los 13 loci microsatélites para las 80 muestras seleccionadas. Los primers así como los oligonucleótidos marcados, fueron diluidos en agua de PCR a partir del stock (1 µl de stock por cada 9 µl de agua) previo a ser incorporados en las reacciones de PCR. Cada una de las reacciones de PCR se efectuaron con un volumen final de 50 µl contenidos en tubos eppendorf de 0.2 mL. El mix de cada reacción constaba de 31,05 µl de agua de PCR, 5 µl de buffer de PCR 10X (concentración final de 1X), 2 µl del MgCl₂ 50mM (concentración final de 2 mM), 1 µl de los dNTPs 10 mM (concentración final de 0.2 mM), 2.5 µl del primer *forward* modificado con la cola universal, 0.75 µl del primer *reverse*, 2.5 µl del oligonucleótido marcado con uno de los fluoróforos

(VIC, 6FAM, NED o PET), 0.2 μ l de Taq Polimerasa Platinum 5U/ μ L (1 U por reacción) y 5 μ l del ADN de cada individuo seleccionado diluido a 20 ng/ μ l (100 ng de ADN por reacción). A cada locus (o par de primers) se le asignó un fluoróforo distinto (Tabla 1). Así, todas las reacciones de un mismo par de primers se efectuó con el mismo fluoróforo.

El ciclado de la PCR se lo efectuó en los termocicladores del Laboratorio de Biotecnología de la Universidad San Francisco. El programa de este ciclado consistió en los siguientes pasos: 1) Denaturación inicial a 95°C durante 15 minutos. 2) Denaturación a 94°C durante 30 segundos. 3) Annealing durante 1 minuto con 30 segundos, a una temperatura dependiente de cuál locus se estaba amplificando (Tabla 1). 4) Elongación a 72°C durante 1 minuto, y 5) Elongación final a 72°C durante 5 minutos. Los pasos 2 al 4 se repitieron por 30 ciclos. La amplificación de los locus deseados en la PCR, fue confirmada en electroforesis en gel de agarosa al 1.5% previo al genotipado. Luego, los amplicones se conservaron en refrigeración a -4°C.

6.4. Genotipado de los individuos de *P. guajava* seleccionados

Tras confirmar la amplificación del microsatélite deseado en el gel de agarosa, los amplicones o productos de PCR fueron transferidos de los tubos Eppendorf de 0.2 mL hacia los pocillos de las placas MicroAmp® Optical. En cada pocillo, se colocaron 20 μ l de producto de PCR de dos reacciones distintas. Obligatoriamente, los productos de PCR de las dos reacciones distintas que compartían el mismo pocillo, debían ser de una misma muestra pero de distintos loci microsatélites marcados con fluoróforos diferentes.

Una vez llenas, las placas fueron enviadas a Macrogen, Korea, para el genotipado. Aquí, se empleó el secuenciador ABI 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems ®) para determinar el genotipo de cada individuo para cada locus microsatélite por medio de electroforesis capilar. Gracias a esta técnica, es posible distinguir diferentes alelos incluso si las diferencias entre éstos son de uno o dos pares de bases (Nicholl, 2008). Una vez

finalizado este proceso, MacroGen envió los archivos .fsa (un archivo para las dos muestras de cada pocillo) que podían ser leídos con el software GenMarker ® (SoftGenetics LLC, 2012). Aquí se pudieron visualizar el o los alelos de cada individuo para los distintos loci microsatélites a manera de picos de las señales de fluorescencia emitidas por los amplicones marcados y captados por el secuenciador ABI. Asimismo, en este software se pudo visualizar el tamaño en pares de bases del o de los alelos de cada individuo, empleando como referencia al ladder 500 LIZ. El criterio para discriminar los picos válidos e individuos verdaderamente heterocigotos, se basó en el protocolo de Luckau (2013) para leer picos.

Con los tamaños de los alelos visualizados en GenMarker, fue posible elaborar la matriz que indica los genotipos de los 80 individuos de *P. guajava* de Santa Cruz analizados para los 13 microsatélites considerados en el estudio (Anexo C). Asimismo, fue posible definir los genotipos de los individuos HBGe1 y Psp_SCZ_02 para los 13 loci microsatélites.

6.5. Análisis de datos

6.5.1. Diversidad genética

La matriz de genotipado de los 80 individuos de *P. guajava* fue modificada para el análisis de datos. En primer lugar, se eliminaron los genotipados de los loci que resultaron ser monomórficos. Luego, se le dio el formato indicado por Jombart (2015) para hacerlo compatible con el paquete *adegenet* (Jombart, et al., 2016) de RStudio (RStudio Team, 2015). Éste fue guardado como un archivo .csv, para ser leído en RStudio con la función *read.csv* y convertido en un objeto *genind* empleando el comando *df2genind* (paquete *adegenet*), y a partir de éste se creó el objeto *genpop* empleando el comando *genind2genpop* (paquete *adegenet*). Los objetos *genpop*, reconocen las poblaciones, o localidades en este caso, de los individuos analizados. A partir del objeto *genind*, empleando el comando *summary*, se obtuvieron los resultados por locus, incluyendo el número de alelos por locus, el número de alelos total en los 80 individuos analizados, así como la heterocigosidad

observada y esperada igualmente por locus. Al aplicar el comando `summary` en el objetivo `genpop`, se obtuvo la información del número de alelos por localidad. La heterocigosidad esperada por localidad se la obtuvo al aplicar el comando `Hs` (paquete *adegenet*) al objeto `genpop` (definiendo `pop=TRUE`). El número de alelos privados para cada localidad fue obtenido con ayuda de los filtros de Microsoft Excel aplicados en la matriz de genotipado. La heterocigosidad esperada para toda la población de *P. guajava* muestreada en Santa Cruz fue obtenida empleando el comando `Hs` (esta vez definiendo `pop=NULL`). La heterocigosidad observada por localidad y para toda la isla (entre otros indicadores de diversidad), se la obtuvo con el comando `divBasic` del paquete *diveRcity* (Keenan, 2017). Este comando como todos de este paquete, reconoce el formato “Genepop”, de modo que fue necesario modificar la matriz de genotipado a este formato (ver Piry, et al., 1999) antes de poder aplicar el comando `divBasic`.

Todos estos comandos se aplicaron a una segunda matriz de genotipado, en la que esta vez los individuos muestreados se agruparon en subpoblaciones. Una subpoblación se definió como el agrupamiento de todas las localidades situadas a 2 km o menos entre sí en un solo conjunto. Así, fueron establecidas un total de 8 subpoblaciones (Tabla 2). El objetivo de este reagrupamiento fue el de visualizar los patrones de diversidad genética a una escala más grande que el de cada localidad individual, pues muchas de ellas están bastante cerca entre sí y fácilmente pueden ser consideradas como un solo grupo. Para no tener una subpoblación con un solo individuo, el único individuo de El Garrapatero fue anexado a la subpoblación más cercana, la de Cascajo, aunque se encontraban a más de 2 km entre sí. Las distancias entre localidades fueron determinadas con la herramienta *Measure* de ArcMap (ESRI, 2015) tras mapear los individuos analizados de *P. guajava* en el mapa “Ecosistemas de Galápagos 2016” provisto por el Instituto de Geografía de la USFQ (Rivas-Torres, et al., en revisión; Figura 2).

Dado a que los tamaños de muestra (número de individuos muestreados, N) de las subpoblaciones variaba considerablemente (Tabla 2), los números de alelos encontrados y alelos privados de cada subpoblación fue corregido empleando la técnica estadística de rarefacción (rarefaction), por medio del software HP-RARE 1.0 (Kalinowski, 2005). Gracias a esta técnica, se pueden obtener valores reales de riquezas alélicas y de alelos privados, tras compensar la disparidad en los tamaños de las muestras de las distintas subpoblaciones. Así, se asegura de que las diferencias de diversidad encontradas, no se deben a los tamaños de muestra diferentes (Kalinowski, 2005). Para proceder con esto, la matriz de genotipado se modificó dándole el formato “Genepop” (Piry, et al., 1999) para hacerlo compatible con HP-RARE. Aquí, se ajustaron los cálculos de Rarefacción para obtener el número de alelos y el número de alelos privados que se habrían obtenido en cada subpoblación si en todas éstas se hubieran muestreado el mismo número de individuos. En este caso se estableció un $N=8$, (la mediana del número de individuos muestreados en todas las subpoblaciones), lo que equivale a 16 “genes” ($8 \text{ individuos } 2n; 8 \times 2=16$) en la nomenclatura empleada por HP-RARE. Lo ideal es establecer un N de rarefacción igual al número de individuos muestreados en la población de la localidad con el tamaño de muestra más pequeño. Sin embargo, de haber seguido esta regla, el N hubiera sido de 4, perdiéndose información sobre todo en las poblaciones con tamaños de muestra más grandes. Al escoger un N de 8 hay un menor remuestreo de los individuos de las subpoblaciones con un tamaño de muestra pequeña, a la vez que se está aprovechando de mejor manera la información obtenida en las subpoblaciones más grandes. Asimismo, se ha demostrado que rarefacción funciona bien con un N superior al de la subpoblación con el menor tamaño de muestreo, siempre y cuando no se lo pretenda extrapolar a tamaños por encima del número total de individuos muestreados (Bashalkanov, et al., 2009).

También se crearon los objetos `genind` y `genpop` a partir de una matriz en la que se incluyeron además del genotipado de los 80 individuos de *P. guajava* de Santa Cruz, los 94 individuos provenientes de la isla San Cristóbal analizados en la tesis de Ponce (2014). Esto con el fin de comparar la diversidad genética de las poblaciones de *P. guajava* de las dos islas. En todos los análisis donde se consideraron los individuos de San Cristóbal además de los de Santa Cruz, también se tomaron en cuenta únicamente los 9 loci polimórficos para la población de ésta última. Dado a que en San Cristóbal (N=94) se muestrearon más individuos que en Santa Cruz (N=80), para la comparación de la diversidad entre islas también se corrigieron los valores de número de alelos y alelos privados de cada isla con rarefacción. En este caso, se ajustaron los cálculos de rarefacción para obtener el número de alelos y número de alelos privados que se habrían tenido en cada isla, si en ambas se hubieran muestreado 80 individuos.

6.5.2. Distribución de la diversidad genética y estructura poblacional

6.5.2.1. Distancias genéticas euclidianas y de Nei: PCoA y Dendrograma Neighbor Joining

A partir de la matriz que contenía solo el genotipado de los 80 individuos de Santa Cruz, y también de la que incluía además a los 94 de San Cristóbal, se elaboraron las respectivas matrices de distancias genéticas, una por individuos y otra considerando las localidades (incluyendo las localidades muestreadas en San Cristóbal por Ponce, 2014). La primera fue calculada aplicando al comando `dist` (para calcular distancias euclidianas, `method="euclidean"`) al objeto `genind` correspondiente. La segunda, fue calculada aplicando el comando `dist.genpop` (paquete *adegenet*) al objeto `genpop`, empleando el método 1 (`method=1`) correspondiente al cálculo de las distancias de Nei. En la matriz de distancias por localidades se muestra, para cada par de localidades, la

distancia genética promedio entre todos los individuos muestreados en ese par de localidades en cuestión.

A partir de la matriz de distancias genéticas por individuos, se elaboraron dos PCoAs (Principal Coordinate Analysis), uno indicando solo los individuos analizados de Santa Cruz , y otro indicando los individuos de ambas islas, tanto de Santa Cruz como de San Cristóbal. Esto se lo hizo empleando el comando `dudi.pco` (paquete *ade4*; Dray, et al., 2017) sobre las matrices de distancias genéticas correspondientes. La versión final del PCoA fue ploteada mediante el comando `autoplot` (paquete *ggplot2*; Whickham y Chang, 2016). De igual modo, se elaboró un dendrograma Neighbor Joining (NJ) sin raíz, al aplicar el comando `bionj` (paquete *ape*; Paradis, et al., 2017a) a la matriz de distancias genéticas por localidades, proveniente del set de datos conjunto de los individuos de Santa Cruz y San Cristóbal. Un segundo dendrograma NJ sin raíz se elaboró empleando el comando `ggtree` (paquete *ggtree*) sobre el dendrograma ya creado con el comando `bionj`. En este dendrograma, se normalizaron las longitudes de las ramas (empleando el argumento `branch.length="none"`) para poder apreciar agrupamientos de las localidades de ambas islas de acuerdo a la distancia genética promedio entre los individuos albergados en dichas localidades. Los valores de sustento estadístico para cada nodo del dendrograma se estimaron mediante un procedimiento de bootstrapping (100 bootstraps) con el comando `boot.phylo` (paquete *ape*).

6.5.2.2. Estructura poblacional de acuerdo a DAPC

Empleando el set de datos de ambas islas se efectuó un DAPC (Discriminant Analysis of Principal Components) para establecer si existe o no una estructura poblacional definida en las poblaciones analizadas. Este método busca separar a los individuos analizados en grupos (o clústers) de acuerdo a los genotipos que presentan para los loci analizados y a la variación que presentan en estos genotipos. El DAPC es una alternativa

a los análisis bayesianos de STRUCTURE, que resulta ideal para individuos clonales o parcialmente clonales como *P. guajava* (Binggeli, et al., 1998; Grunwald, et al., s.f.; Jombart y Collins, 2015). Asimismo, a diferencia de los análisis bayesianos, no asume equilibrio Hardy-Weinberg, desligamiento de los loci marcadores, ni poblaciones panmíticas (Hagenblad, et al., 2015). El DAPC se lo efectuó empleando las funciones `find.clusters` y `dapc` (paquete *adegenet*) aplicadas sobre el objeto `genind` con los datos de las poblaciones de las dos islas. Esto arrojó el agrupamiento de los individuos analizados en diferentes clústers. Estos clústers luego fueron graficados empleando el comando `scatter`.

6.5.2.3. Diferenciación entre localidades y subpoblaciones

Para determinar si la diversidad genética de la población de *P. guajava* de Santa Cruz se explica mayormente por la diversidad entre distintas localidades o subpoblaciones, o bien por la diversidad dentro de éstas, se calcularon los valores globales de F_{ST} y F_{IT} . Para esto, se aplicó el comando `fstat` (paquete *hierfstat*; Goudet y Jombart, 2015) sobre el objeto `genind` derivado de la matriz que contenía los genotipados únicamente de los 80 individuos de Santa Cruz.

De igual modo, se estimó la diferenciación genética entre distintas subpoblaciones (definidas en la sección 6.5.1) por medio del cálculo de los F_{ST} para cada par de subpoblaciones (*pairwise* F_{ST} ; Weir y Cockerham, 1984). Aquí también se consideraron a los individuos muestreados en San Cristóbal (como un solo conjunto), con el fin de establecer el nivel de diferenciación entre las poblaciones de San Cristóbal y Santa Cruz. En este caso se aplicaron los comandos `fstat` y `pairwise.fst` (paquete *hierfstat*) al objeto `genind` que contenía la información del genotipado de los individuos de *P. guajava* de Santa Cruz y San Cristóbal. Del uso de estos comandos, se obtuvo una matriz que indica los F_{ST} entre todas las subpoblaciones definidas en Santa Cruz y la población

de San Cristóbal. Estos mismos comandos fueron empleados para obtener los *pairwise* F_{ST} entre los clústers en los que los individuos de *P. guajava* de Santa Cruz y San Cristóbal fueron agrupados de acuerdo al DAPC.

6.5.2.4. Estructura poblacional de acuerdo a STRUCTURE

La matriz con el genotipado de los 80 individuos de Santa Cruz fue modificada para hacerla compatible con el software STRUCTURE. Éste al igual que el DAPC determina si existe o no una estructura poblacional definida, pero esta vez determinando el posible número de agrupaciones genéticas mediante inferencia bayesiana (Pritchard, et al., 2004). Aquí, los individuos fueron agrupados en las subpoblaciones definidas anteriormente. Primeramente, se realizó una corrida evaluando un número de linajes o grupos ancestrales (K) de entre 1 (asumiendo un solo linaje o grupo ancestral) hasta 20 (asumiendo que cada localidad sería un linaje o grupo ancestral independiente), con un MCMC (Markov Chain Monte Carlo) de 10 000 pasos, un *burnin* de 100 pasos, y generando 5 réplicas por cada posible valor de K . Los resultados de esta corrida preliminar fueron analizados en STRUCTURE Harvester (Earl y von Holdt, 2014) para obtener el valor óptimo de K . En base a estos resultados, se efectuó una segunda corrida, esta vez limitando los valores de K entre 1 y 5 (abarcando al K óptimo arrojado en la corrida preliminar). En esta segunda corrida el MCMC fue de 1 000 000 pasos, el *burnin* de 10 000 pasos, y se generaron 10 réplicas por cada valor de K . Ambas corridas, tanto la preliminar como la segunda, se las hizo siguiendo un Modelo *Admixture* y empleando como *prior* la subpoblación de dónde provino cada individuo. Este análisis fue replicado en un segundo set de datos que incluyó a los 80 individuos de Santa Cruz (agrupados por localidades) más los 94 individuos analizados de San Cristóbal. Esto una vez más para determinar diferenciaciones entre las poblaciones de *P. guajava* de las dos islas.

Los resultados de las segundas corridas de ambos casos fueron corridos en STRUCTURE Harvester para determinar los valores óptimos de K definitivos. Del mismo Harvester se obtuvieron los archivos CLUMPP (.indfile y .popfile) de los dos mejores valores de K . Luego, se empleó el programa CLUMPP (Jakobsson y Rosenberg, 2007) que alinea y resume todas las iteraciones para esos valores de K a partir de los archivos .indfile y .popfile. Aquí se hicieron 1000 corridas siguiendo el método “Greedy”. Por último, se empleó el programa distruct (Rosenberg, 2004) para generar los gráficos finales de STRUCTURE a partir de las alineaciones de CLUMPP.

6.5.3. Efecto de las fuerzas evolutivas en la población de *P. guajava* de Santa Cruz

Se determinó si los loci microsatélites empleados como marcadores se encontraban en equilibrio Hardy-Weinberg (HWE), empleando el comando `hw.test` (paquete *pegas*; Paradis, et al., 2017b) sobre el objeto `genind` con el genotipado de los 80 individuos provenientes de Santa Cruz. Este comando, arrojó un valor-p para cada locus, en base el cual se determinaron diferencias significativas o no de las frecuencias alélicas encontradas con respecto a lo esperado bajo HWE. Los valores-p para determinar HWE por subpoblación, ya se los obtuvo a partir de los resultados del uso del comando `divBasic` del paquete *diveRsity* anteriormente aplicado a la matriz en formato “Genepop” del genotipado de los individuos de *P. guajava* de Santa Cruz agrupados por subpoblaciones.

También se efectuó un análisis en el software BOTTLENECK (Cornuet y Luikart, 1997) para buscar evidencia de un cuello de botella (como el que pudo darse por un efecto fundador) en la población de *P. guajava* de Santa Cruz y en la de San Cristóbal. Primeramente, fue necesario darle a las matrices de genotipado de las poblaciones de cada isla, el formato “Genepop”, con el fin de que BOTTLENECK lo pueda reconocer (Piry, et al., 1999). Posteriormente, se analizó este archivo “Genepop” corriendo el

programa a 1000 iteraciones, considerando los modelos mutacionales SMM (stepwise mutation model) y TPM (two-phase model), adecuados para microsatélites (Sainudiin, et al., 2004). Se tomaron en cuenta los resultados (valores-p) arrojados por la prueba no paramétrica de Wilcoxon, prueba estadística apropiada para el número de loci microsatélites analizados en este trabajo (Hagenblad, et al., 2015).

Para evaluar el flujo génico que se ha dado (en un pasado reciente) entre las distintas subpoblaciones analizadas, se calculó en Microsoft Excel el Nm (número de migrantes intercambiados entre poblaciones por generación) a partir de las matrices de *pairwise* F_{ST} para cada par de subpoblaciones siguiendo la siguiente ecuación (Holderegger, et al. 2006):

$$Nm = (1 - F_{ST}) / 4F_{ST}$$

Por último, se estimó el nivel de endogamia (inbreeding) en la población de *P. guajava* de Santa Cruz calculando los índices F_{IS} tanto a nivel de subpoblaciones como de localidades, y empleando la estimación basada en *likelihood* (Likelihood-based estimation). Los índices F_{IS} resultaron de la aplicación del comando `fstat` (paquete *hierfstat*) a los objetos `genind` respectivos, mismo que dio también los valores F_{ST} y F_{IT} mencionados anteriormente (sección 6.5.2.3). Para realizar las estimaciones basadas en *likelihood*, se empleó el comando `inbreeding` (paquete *adegenet*) sobre el objeto `genind` con la información del genotipado de los 80 individuos de Santa Cruz. Esta función arroja una distribución de coeficientes de endogamia (F) para cada individuo, de los que se obtuvo el promedio. Estos valores promedio de F fueron graficados para comparar estos coeficientes entre cada individuo analizado. Asimismo, se obtuvo un histograma para visualizar si existe una mayor proporción de individuos con coeficientes F altos (que tiendan a 1), o si por lo contrario, la mayor parte de individuos tienen coeficientes F bajos (que tiendan a 0). Si en las estimaciones de endogamia basadas en *likelihood* un individuo

presenta un valor de F que tiende a 1, significa que el genotipo de dicho individuo se explica con mayor probabilidad por medio de cruces endogámicos entre sus antepasados (Loeschcke, et al., 1994).

6.5.4. Patrones de introducción y colonización de *P. guajava* en Santa Cruz y San Cristóbal

Para encontrar patrones de la colonización y de la historia de la introducción de *P. guajava* en las islas Santa Cruz y San Cristóbal, se llevó a cabo un ABC (Approximate Bayesian Computations) en el software DIYABC (Cornuet, et al., 2008). Los ABC, permiten básicamente comparar distintos escenarios de colonización o introducción, y determinar cuál de estos es el más probable, es decir, el que mejor explica los datos obtenidos en el genotipado de las muestras analizadas (Cornuet, et al., 2015).

Para proceder con los ABC, se abrió con DIYABC el archivo “Genepop” con los datos de genotipado de los individuos de Santa Cruz y San Cristóbal. Para simplificar estos análisis, las poblaciones de cada isla fueron divididas en dos grupos. La de San Cristóbal fue separada en un grupo que contenía a las localidades del sur de la zona de estudio en la isla (Cerro Gato y Socavón) y en otro con las localidades del norte (El Junco, La Soledad, El Progreso y Cerro Verde). Por otro lado, la población de Santa Cruz fue dividida en un grupo con los individuos de las localidades en donde se encontró una importante penetración del linaje de San Cristóbal de acuerdo al gráfico de STRUCTURE (este fue denominado grupo Santa Cruz 1, incluidas las localidades de Bellavista, Cascajo, El Garrapatero, Los Gemelos, Granillo Rojo, Media Luna, Salasaca, Tomás de Berlanga, El Chato, Pájaro Brujo y Santa Rosa), y en otro grupo con los individuos del resto de localidades (grupo Santa Cruz 2, incluidas las localidades de Camote, Cerro Mesa, Primicias, El Aguacatal, Elías Cando, Los Guayabillos, Caseta, Manzanillo y Occidente).

Posteriormente, se establecieron los 5 escenarios a comparar mediante ABCs (Figura 3). Considerando que San Cristóbal fue colonizada por los humanos antes de Santa Cruz (Lundh, 2004), los escenarios 1 y 2 sugieren una introducción inicial de *P. guajava* en San Cristóbal. Luego, a partir de la población establecida en San Cristóbal, descendería la población de Santa Cruz (siendo más reciente la divergencia del grupo Santa Cruz 1, más emparentada a la de San Cristóbal). Las diferencias entre los escenarios 1 y 2, es que el primero plantea que la población de Santa Cruz desciende de la población San Cristóbal Norte y el segundo establece que la población de Santa Cruz desciende de la población San Cristóbal Sur. Opuesto a los dos primeros escenarios, el escenario 3 consiste en una introducción inicial en Santa Cruz, donde la población de esta isla diverge inicialmente en los grupos Santa Cruz 1 y Santa Cruz 2. Posteriormente, este escenario plantea que a partir del grupo Santa Cruz 1, surgen ambas poblaciones de San Cristóbal. Los escenarios 4 y 5 por su parte, consisten en una divergencia inicial del linaje del grupo Santa Cruz 2 (divergencia hipotéticamente anterior a la llegada de *P. guajava* a Galápagos, cuando los ancestros de los individuos de las islas todavía estaban en el continente), seguida de una posterior colonización en San Cristóbal, de la cual desciende el grupo Santa Cruz 1. Así, de acuerdo a estos dos escenarios, el grupo Santa Cruz 1 desciende de la población de San Cristóbal, mientras que el grupo Santa Cruz 2 fue introducido independientemente, proviniendo de otros linajes continentales diferentes a los que dieron lugar a la población de San Cristóbal. Una vez más, los dos escenarios, 4 y 5, difieren en que el primero menciona que Santa Cruz 1 deriva del grupo San Cristóbal Norte, y el segundo de San Cristóbal Sur.

Una vez definidos los escenarios a comparar, se corrieron 2 000 000 de simulaciones (cada simulación genera set de datos distinto), siguiendo el modelo de mutación SMM y fijando las tasas de mutación establecidas por defecto en DIYABC (Tasas de mutación

medias de entre $1.00E-4$ y $1.00E-3$ siguiendo una distribución uniforme, y tasas de mutación de cada locus de entre $1.00E-5$ y $1.00E-2$). Posteriormente, para determinar cuál fue el escenario más probable (i.e. el que mejor explica los datos obtenidos), se computaron las probabilidades posteriores (probabilidades a posteriori del análisis bayesiano) relativas de los 5 escenarios propuestos, mediante 2 000 000 de simulaciones y seleccionando para la estimación directa los 500 sets más cercanos al set de datos observado en el genotipado de las muestras analizadas, y los 1 000 sets más cercanos para la estimación por regresión logística. Asimismo, se estimaron las distribuciones posteriores de los parámetros (básicamente de los tiempos de divergencia de los distintos grupos, t_1 , t_2 y t_3 , medidos en número de generaciones) del escenario más probable, empleando una transformación *logit* para estos parámetros y utilizando el número de simulaciones y sets de datos establecidos por defecto. De igual modo, se obtuvieron las medidas de tendencia central (media, mediana y moda) de las distribuciones de los diferentes parámetros. Finalmente se calcularon los sesgos y la precisión de estas estimaciones de las distribuciones posteriores de los parámetros (Tabla 3).

7. RESULTADOS

7.1 Extracción y cuantificación de ADN

Se logró extraer el ADN de los 95 individuos de *P. guajava* muestreados en Santa Cruz así como de los individuos HBGe1 y Psp_SCZ_02 con el protocolo descrito anteriormente (sección 6.2). En general se logró extraer una buena cantidad de ADN de las muestras (una media de 901 ng/ μ L), habiendo individuos de los que se logró extraer hasta más de 2500 ng/ μ L. Solo hubo una muestra de la que se logró extraer menos de 100 ng/ μ L (Anexo A). También se confirmó la pureza del ADN extraído mediante espectrofotometría empleando el NANODROP 1000 (Termo Fisher Scientific), el cual arrojó los valores esperados en los radios de absorbancia 260/230 (alrededor de 2.0) y 260/280 (alrededor de 1.8) para la gran mayoría de muestras (datos no mostrados). Asimismo, se confirmó una buena calidad e integridad del ADN genómico extraído, en los geles de agarosa, pues en todos los casos se logró evidenciar una banda clara con un tamaño esperado para el ADN genómico (Figura 4).

7.2 Amplificación de regiones microsatélites con primers homólogos y genotipado

Se logró obtener una amplificación exitosa con los 13 pares de primers homólogos considerados en este estudio (e.g. Figura 5). Las temperaturas de annealing estandarizadas para las reacciones de PCR, fue de 55°C para la mayoría de pares de primers, con solo dos excepciones (Tabla 1). Todos los individuos de *P. guajava* seleccionados pudieron ser exitosamente genotipados para los 13 loci.

De acuerdo a Ponce (2014), los 13 pares de primers amplificaban loci microsatélites polimórficos para la población de *P. guajava* de la isla San Cristóbal más 18 individuos del

continente. Sin embargo, solo 9 de estos 13 loci demostraron ser polimórficos para la población muestreada de Santa Cruz, pues los loci mPgCIR26, mPgCIR25, mPgCIR22 y mPgCIR13 resultaron ser monomórficos (Anexo D; Tabla 1). En la población de *P. guajava* de Santa Cruz, se encontraron un total de 36 alelos contando los alelos únicos de los 4 loci monomórficos. Este número se reduce a 32 considerando solo los 9 loci polimórficos. Dos de éstos, mPgCIR11 y mPgCIR18, manifestaron solo dos alelos (Anexo E). Por otro lado, los loci donde más alelos se encontraron, fueron el mPgCIR17 y mPgCIR05 (Anexo F), con un total de 5. En aquellos loci donde se reportaron más de 3 alelos, existieron algunos que fueron infrecuentes en la población, encontrándose solo en uno o dos de los 80 individuos genotipados (Anexo C). En promedio, se encontraron 2.77 alelos para los 13 loci analizados.

De acuerdo al genotipado realizado, el individuo HBGe1 tendría una ploidía de al menos $4n$ (tetraploide), pues 3 loci (mPgCIR05, mPgCIR17 y mPgCIR21; Anexo G) presentaron 4 alelos distintos. El locus mPgCIR09, fue el único de los 13 que no pudo ser amplificado en este individuo. En total, se encontraron 32 alelos para el individuo HBGe1, de los cuales 10 (31%) se encontraron también en la población de *P. guajava* de la isla Santa Cruz (Tabla 4). El individuo Psp_SCZ_02 también demostró tener una ploidía $4n$, pues al menos en un locus (mPgCIR05; Anexo H) se encontraron 4 alelos. Un total de 24 alelos se encontraron en el individuo Psp_SCZ_02 a lo largo de 12 loci distintos. El locus mPgCIR08 no pudo ser amplificado en este caso. De los 24 alelos de este individuo, 3 (13%) se encontraron también en la población de *P. guajava* de Santa Cruz (Tabla 5).

7.3 Análisis de Datos

7.3.1. Diversidad genética

A lo largo de las localidades de muestreo, el número de alelos presentó un rango amplio (entre 9 y 22), explicado sobre todo por tres localidades que presentaron un número de alelos excepcionalmente bajo (Los Gemelos, El Garrapatero y El Aguacatal; Tabla 6). El

bajo número de alelos de estas localidades puede estar justificado en el pequeño tamaño de muestra (N) de éstas, sobre todo en el caso de Los Gemelos y El Garrapatero (N=1). Por otro lado, las localidades donde más alelos se encontraron, fue en Las Primicias (N=5) y Santa Rosa (N=5), un total de 22. Sin embargo, a pesar de estos valores elevados, el número de alelos no presentó una variación marcada a lo largo de las distintas localidades, tal como refleja la baja desviación estándar en este indicador de diversidad ($s=3.64$). De las 20 localidades, 8 presentaron un solo alelo privado cada una.

Eliminando a las localidades donde solo se muestreó un individuo (donde las heterocigosidades esperadas y observadas no son estimables), las localidades con las heterocigosidades observadas (H.obs) más bajas, por debajo de 0.100, fueron Cascajo (N=5), Caseta (N=4) y Occidente (N=5). Por otro lado, las H.obs más altas, por encima de 0.300, se encontraron en las localidades de Granillo Rojo (N=3), Elías Cando (N=3), Salasaca (N=4) y Santa Rosa (N=5). Los valores de H.obs sí fueron algo variables ($s=0.11$). Las localidades con las heterocigosidades esperadas (H.esp) más bajas, por debajo de 0.300, fueron Los Guayabillos (N=5), Pájaro Brujo (N=4), Caseta (N=4) y El Aguacatal (N=3). Por otro lado, 7 localidades presentaron una H.esp por encima de 0.400, siendo Primicias, Santa Rosa y Bellavista, las tres con la H.esp más alta. Incluso con estos casos, los valores de H.esp fueron variables pero en una magnitud relativamente pequeña ($s=0.08$), sobre todo en comparación a la H.obs. Con excepción de Santa Rosa, en todas las localidades la H.esp fue mayor a la H.obs (Tabla 6). Eliminando las localidades donde se muestreó solo un individuo, no se detectaron correlaciones significativas entre N y el número de alelos encontrados ($p>0.05$, $\rho=0.29$, $n=18$), entre N y H.obs ($p>0.05$, $\rho=0.29$, $n=18$) ni entre N y H.esp ($p>0.05$, $\rho=0.21$, $n=18$).

Al realizar el análisis de diversidad a nivel de subpoblaciones (definidas en la sección 6.5.1), el número de alelos y alelos privados fueron corregidos por rarefacción (para 8

individuos) para compensar los tamaños de muestra desiguales. El número de alelos encontrados y el número de alelos corregido, fue diferente solo para 2 de las 8 subpoblaciones. Éste número de alelos corregido fue poco variable a lo largo de las subpoblaciones establecidas ($s=1.49$), con un rango estrecho de entre 19 y 22. Un total de 5 de las 8 subpoblaciones presentaron alelos privados (datos corregidos por rarefacción), siendo las subpoblaciones PASO (Parte alta Santa Cruz - suroeste) y PANE (Parte alta - noreste) las que más alelos exclusivos mostraron (dos alelos cada una). Las subpoblaciones donde no se encontraron alelos privados, fueron aquellas en las que no se encontraron más de 20 alelos en total. Las H_{obs} de las subpoblaciones variaron entre sí pero en pequeña magnitud ($s=0.09$). En todo caso, el rango de estos valores fue amplio, entre 0.074 a 0.333. Las H_{esp} por su parte fueron notablemente menos variables ($s=0.03$). Los valores más bajos de H_{esp} , por debajo de 0.400, estuvieron en las subpoblaciones CASGAP (El Cascajo y El Garrapero; $N=6$) y TPNG (Territorio del PNG; $N=4$). Por otro lado, la subpoblación con la H_{esp} más alta, fue PACI (Parte alta – centro de la isla). En todas las 8 subpoblaciones, la H_{esp} fue siempre mayor que la H_{obs} (Tabla 2). No hubo correlación significativa entre N y H_{obs} ($p>0.05$, $\rho=-0,30$) ni entre N y H_{esp} ($p>0.05$, $\rho=0.65$, $n=8$).

En la comparación de las poblaciones de *P. guajava* de Santa Cruz y San Cristóbal, el número de alelos y el número de alelos privados no variaron al ser corregidos por rarefacción (para 80 individuos). En los 9 loci polimórficos analizados, la población de Santa Cruz ($N=80$) presentó un total de 32 alelos, valor superior a los 22 alelos que presentó la población de San Cristóbal ($N=94$). Las poblaciones de ambas islas tuvieron alelos privados, pero la de Santa Cruz presentó un mayor número de éstos (14 alelos privados) en comparación a la de San Cristóbal (4 alelos privados). La H_{obs} de la población de San Cristóbal fue levemente mayor a la de la población de Santa Cruz. Por el contrario, la H_{esp} de la población de Santa Cruz fue notablemente superior a la de San Cristóbal. En ambas islas, la H_{esp} fue mayor a la

H.obs, siendo en la población de Santa Cruz, donde mayor fue la diferencia entre estos valores (Tabla 7).

7.3.2. Distribución de la diversidad

7.3.2.1. Distancias genéticas euclidianas y de Nei: PCoA y Dendrograma Neighbor Joining

En el PCoA elaborado en base a las distancias genéticas euclidianas entre los individuos de *P. guajava* de Santa Cruz, se observó que estos individuos no se agruparon definidamente. Al contrario, todos estuvieron mezclados y dispersos a lo largo de los ejes de la gráfica (Figura 6). En el PCoA que incluye a los individuos de *P. guajava* de San Cristóbal y de Santa Cruz, sí se puede distinguir que éstos se agrupan claramente en regiones distintas del gráfico según la isla de procedencia correspondiente. De todos modos, se distinguieron también dos individuos de Santa Cruz (GR2 y Be5) situados en el medio de los grupos de las dos islas (Figura 7).

Lo observado en los PCoA fue respaldado por el dendrograma NJ, el cual refleja el promedio de las distancias genéticas de Nei que existe entre todos los individuos de cada par de localidades, tanto de Santa Cruz como de San Cristóbal. En el dendrograma con las longitudes de las ramas normalizadas (Figura 8a), se distinguieron tres agrupaciones concretas. Sin embargo, dos de éstas agrupaciones, el Grupo 1 (G1 de la Figura 8a) y el Grupo 2 (G2 de la Figura 8a) contienen individuos de localidades dispersas por todo el área de estudio en Santa Cruz. Los únicos individuos agrupados cercanamente en el dendrograma y que a la vez se encontraron geográficamente próximos, fueron aquellos de las localidades de Granillo Rojo y Los Gemelos. El Grupo 3 (G3 de la Figura 8a) no solo contuvo individuos de localidades distribuidas por toda Santa Cruz, sino también a los de las localidades de San Cristóbal. Si bien los individuos de todas las localidades de San Cristóbal fueron agrupados juntos, también se agruparon cercanamente aquellos de las

localidades de Bellavista y Pájaro Brujo, ambos de Santa Cruz (Grupo 3b de la Figura 8a). El dendrograma NJ mostró valores de bootstrap de 100 en casi todos los nodos que están dentro de los grupos, pero asimismo se observaron valores de 0 en los nodos basales del dendrograma, entre las tres agrupaciones distinguidas. De este modo, el agrupamiento de localidades encontrado en el dendrograma NJ es confiable, no así las relaciones entre estos grupos. Asimismo, con un valor de bootstrap de 100, está sustentado el agrupamiento de los individuos de todas las localidades de San Cristóbal cercanos entre sí. Lo mismo para el agrupamiento de los individuos de la localidad de Bellavista junto a los de las localidades de San Cristóbal.

En el dendrograma NJ en el que la longitud de las ramas refleja la magnitud de la distancia genética de Nei entre individuos de diversas localidades (Figura 8b), se aprecia que existe una considerable distancia entre los individuos de las localidades de San Cristóbal y de Santa Cruz. A la vez, se evidencia que los individuos de las localidades de San Cristóbal son poco distantes entre sí al juzgar por la corta longitud de las ramas que separan estas localidades. En contraste, dentro de Santa Cruz se evidencian casos como el de los individuos de Los Gemelos, Granillo Rojo y El Garrapatero, que presentan ramas marcadamente largas. Esto significa que en promedio los individuos de estas localidades serían genéticamente distantes a los de las demás localidades con las que se agrupan cercanamente. También se aprecia que los individuos de Pájaro Brujo, Santa Rosa y especialmente Bellavista, mantienen distancias genéticas en promedio más cortas con los individuos de San Cristóbal, en comparación a cualquier individuo de otra localidad de Santa Cruz. En particular, la rama correspondiente a los individuos de Bellavista aparece como intermedia entre el grupo de San Cristóbal y las demás localidades de Santa Cruz.

7.3.2.2. Estructura poblacional de acuerdo a DAPC

El DAPC agrupó a los individuos de *P. guajava* muestreados en Santa Cruz y San Cristóbal en tres clústers. Los individuos de Santa Cruz se repartieron entre los Clústers 1 y 2. En el primero se agruparon 46 individuos y en el segundo los otros 34. En el Clúster 3 se agruparon todos los 94 individuos de San Cristóbal. Al graficar los resultados de las distribuciones del DAPC, el Clúster 3 aparece alejado de los otros dos. Por otro lado, los Clústers 1 y 2 están cercanos entre sí, al punto de solaparse ligeramente (Figura 9).

Por lo general, en las mismas localidades de Santa Cruz se pueden encontrar individuos agrupados en los dos clústers, pero existen excepciones. Por ejemplo, todos los individuos de Salasaca, El Aguacatal y de Media Luna están agrupados en el Clúster 1, así como 4 de los 5 individuos muestreados en Cascajo y Cerro Mesa. Por otro lado, todos los individuos de Elías Cando están agrupados en el Clúster 2. De igual modo, se observa una importante concentración de individuos del Clúster 2 en las localidades vecinas de El Chato y Primicias (Figura 10).

7.3.2.3. Diferenciación entre localidades y subpoblaciones

Una mínima cantidad de la variación genética hallada en la población de *P. guajava* de Santa Cruz, se encontró entre localidades (F_{ST} global = 0.024) o entre subpoblaciones (F_{ST} global = 0.034). Esto quiere decir, que no hubo diferenciación entre los individuos de las distintas localidades y subpoblaciones de muestreo. La mayor parte de la variación encontrada se explicó más bien por la variación presente entre individuos (F_{IT} global = 0.542).

Los *pairwise* F_{ST} entre la población de San Cristóbal y las subpoblaciones de Santa Cruz fueron en la mayor parte de casos, superiores a 0.090, alcanzando valores tan altos como 0.211. Al observar los F_{ST} de la subpoblación TPNG con las demás subpoblaciones de Santa Cruz, se tienen valores siempre por encima de 0.054, hasta un máximo de 0.134.

Por otro lado, los F_{ST} entre todas las demás subpoblaciones de Santa Cruz son bajos, no superan el valor de 0.053, alcanzando valores tan bajos 0.010 (Tabla 8). El F_{ST} entre los Clústers 1 y 2 del DAPC, ambos conformados solo por individuos de Santa Cruz, fue más bajo en comparación a los F_{ST} encontrados entre estos dos clústers y el Clúster 3, donde fueron agrupados los individuos de San Cristóbal (Tabla 9).

7.3.2.4. Estructura poblacional de acuerdo a STRUCTURE

En el análisis de STRUCTURE que consideró solo a los individuos de Santa Cruz (Figura 11), el número más probable linajes o grupos ancestrales (K), fue de 4 ($\Delta K=59.52$). El segundo mejor K fue de 3 ($\Delta K=31.28$). Tanto en $K=4$ como en $K=3$, no se distingue una estructura poblacional definida. Todos los linajes estuvieron representados en todas las subpoblaciones, los cuales además mantendrían flujo génico entre sí.

Al considerar también en el análisis de STRUCTURE a los 94 individuos de San Cristóbal, se aprecia una notable estructura genética. El K óptimo fue de 2 ($\Delta K=1419.83$), separando claramente a los individuos de Santa Cruz de los de San Cristóbal en los dos linajes sugeridos. De todas maneras, se observa algo de penetrancia entre los dos linajes de las dos islas. La penetrancia del linaje de Santa Cruz en el de San Cristóbal es mínimo. Por otro lado, la penetrancia del linaje de San Cristóbal en el de Santa Cruz es más notable, sobre todo en las localidades de Bellavista, El Garrapatero y Santa Rosa. El segundo mejor K , de 3, fue notablemente menos eficiente en explicar los datos que el valor de K óptimo de 2 ($\Delta K=3.44$). Sin embargo, este ya admite la existencia de un segundo linaje en Santa Cruz, si bien continúa sin verse una estructura poblacional definida dentro de esta isla. Por otro lado, la población de San Cristóbal se sigue presentando como un solo linaje claramente distinguible de los dos de Santa Cruz. Para $K=3$, se mantuvo el mismo patrón de penetrancia entre los linajes de Santa Cruz y el de San Cristóbal observado para $K=2$ (Figura 12).

7.3.3. Efectos de las fuerzas evolutivas en la población de *P. guajava* de Santa Cruz

Globalmente, ninguno de los 9 loci microsatélites polimórficos analizados en este estudio demostró estar en equilibrio Hardy-Weinberg (HWE), encontrándose diferencias significativas (valores- p extremadamente bajos) entre las frecuencias alélicas esperadas para HWE y las observadas en todos los loci (Tabla 10). A nivel de las subpoblaciones de *P. guajava* definidas en Santa Cruz, se encontró que las subpoblaciones ASR (Área de Santa Rosa), SA y TPNG se encuentran en HWE ($p=0.681$, $p=0.829$ y $p=0.368$ respectivamente). Todas las demás subpoblaciones, así como globalmente toda la población de Santa Cruz, se alejan significativamente del HWE (Tabla 11).

Los resultados arrojados por el análisis en BOTTLENECK, no sustentan la ocurrencia de un cuello de botella en la población de *P. guajava* de Santa Cruz, ya sea siguiendo el modelo SMM o el TPM ($p>0.05$). No hubo sustento ni para exceso ni para deficiencia de heterocigotos en esta población según ambos modelos mutacionales. En la población de San Cristóbal, siguiendo el modelo SMM, no hubo sustento para un cuello de botella ni tampoco para exceso o deficiencia de heterocigotos. Sin embargo, siguiendo el modelo TPM, sí se encontró evidencia de que la población de *P. guajava* de esta isla pasó por un cuello de botella ($p<0.05$). Este cuello de botella estaría explicado por un exceso de heterocigotos, no por una deficiencia de los mismos (Tabla 12).

Entre la población de *P. guajava* de San Cristóbal y la de Santa Cruz, ha existido flujo génico, aunque notablemente limitado. Esto argumentado en primer lugar en los bajos valores Nm (número de migrantes intercambiados entre poblaciones por generación) encontrados entre los dos clústers del DAPC que agrupan a los individuos de *P. guajava* de Santa Cruz (Clústers 1 y 2) y el clúster donde están agrupados los individuos de San Cristóbal (Clúster 3). El Nm entre los dos clústers de Santa Cruz, fue superior (Tabla 13). Otro argumento para sustentar un limitado flujo génico en el pasado entre las poblaciones de las islas San Cristóbal

y Santa Cruz, está en los relativamente bajos Nm existentes entre la primera comparada con las subpoblaciones de la segunda. Estos van entre 0.93 y 3.58. Dentro de Santa Cruz, el flujo génico que ha habido entre subpoblaciones es más elevado. Si bien los Nm entre la subpoblación TPNG y las demás de Santa Cruz tampoco alcanzan valores altos (manteniéndose tan bajos como 1.62 hasta un máximo de 4.38), entre el resto de las subpoblaciones de Santa Cruz existen valores Nm elevados, no menores a 4.47 y llegando a un máximo de 24.75 (Tabla 14).

En la población de *P. guajava* de Santa Cruz, los índices de endogamia (F_{IS}) fueron notablemente mayores a cero, tanto dentro de las localidades ($F_{IS}=0.531$) como dentro de las subpoblaciones ($F_{IS}=0.541$). En cuanto a las estimaciones mediante *likelihood*, se encontró que la mayoría de individuos de Santa Cruz presentaron un coeficiente F (promedio) de entre 0.3 a 0.6 en una distribución cercana a la normal. Sin embargo, esta distribución normal se altera abruptamente en valores más altos de F , debido a que 20 de los 80 individuos muestreados, presentaron un F más alto, de entre 0.7 y 0.8. Así, estos individuos generan una distribución binomial, sugiriendo que una porción (no mayoritaria) de la población presenta altas tasas de endogamia (Figura 13). Aparentemente, no existe ninguna correlación visible entre los valores de los coeficientes F y la localidad de muestreo, ya que en todas las localidades se pueden encontrar individuos con coeficientes altos, intermedios y bajos (Figura 14).

7.3.4. Patrones de introducción y colonización de *P. guajava* en Santa Cruz y San Cristóbal

Con una probabilidad posterior de 1.00 según el cálculo directo y el de regresión logística, el escenario 3 (Figura 3c) fue significativamente el mejor sustentado de los 5 escenarios evaluados. Las probabilidades posteriores de los demás escenarios fue de 0.00, quedando éstos descartados. De acuerdo a las estimaciones computadas en DIYABC, la

divergencia de los dos grupos de Santa Cruz en el escenario 3 (t_3 de la Figura 3c), data de hace 5230 generaciones de *P. guajava*. El surgimiento de las dos poblaciones de San Cristóbal a partir del grupo Santa Cruz 1 (t_2 de la Figura 3c) se estimó de hace 2250 generaciones. La separación de los dos grupos de San Cristóbal (t_1 de la Figura 3c) sería más reciente, de hace 44 generaciones. Para la estimación de todos estos tiempos de divergencia, se tomó en cuenta la mediana de las distribuciones posteriores de estos parámetros, determinadas por DIYABC. Se trabajó con la mediana ya que ésta demostró por lo general, tener un menor sesgo y mayor precisión en comparación a la media de las distribuciones de los tiempos de divergencia (Tabla 3).

8. DISCUSIÓN

8.1 ¿Qué tan diversa es *P. guajava* en la isla Santa Cruz?

En la población de *P. guajava* de Santa Cruz, se encontró un total de 32 alelos, y una H.esp de 0.444 en 80 individuos y 9 loci microsatélites polimórficos analizados. Esta es una diversidad genética superior a la encontrada en la población de San Cristóbal, donde con estos mismos 9 loci, se encontraron solo 22 alelos y una H.esp de 0.352 (Tabla 7). El número de alelos y de alelos privados de las poblaciones de las dos islas no varió al ser corregidos con rarefacción (para un N=80), de modo que el diferente tamaño de muestra no afectó a la caracterización de la diversidad genética de éstas. Esto permite concluir que la población de *P. guajava* de Santa Cruz sí es genéticamente más diversa a la de San Cristóbal. De todas maneras, las comparaciones entre las poblaciones de Santa Cruz y San Cristóbal presentadas en este trabajo deben manejarse con cuidado debido a que se emplearon distintas metodologías para el genotipado de los individuos de estas islas. En el caso de San Cristóbal, esto se hizo con geles de poliacrilamida (Ponce, 2014), un método que puede ser menos preciso que el genotipado con electroforesis capilar, sobre todo para distinguir alelos entre los cuales hay solo un par de bases de diferencia (Johnson, 1978; Nicholl, 2008).

Otra población insular de *P. guajava* donde la diversidad genética está caracterizada, es la de Cuba. Aquí, en solo 34 individuos analizados para 7 loci microsatélites se encontraron 34 alelos (Valdés-Infante, et al., 2007). Éste es un número superior a lo encontrado en Santa Cruz pese a que en el estudio de Cuba se incluyeron pocos individuos y se analizaron menos loci. De este modo, en base al número de alelos, la población de la isla de Cuba vendría a ser más diversa a las poblaciones de Galápagos. Estos resultados serían coherentes en primer lugar, porque Cuba está dentro del rango de distribución nativo de *P.*

guajava (Conabio, s.f.). Además, Cuba es una isla más grande que Santa Cruz y San Cristóbal, y con una mayor heterogeneidad de hábitats (Carvajal, 2016; Marrero y Canet, 1950), por lo que se esperaría una mayor diversidad (MacArthur & Wilson, 1967). Desafortunadamente, en el estudio de Cuba no se reporta la H.esp. que es un importante indicador de diversidad genética puesto que no solo es una función del número de alelos, sino también de la abundancia relativa y la paridad de dichos alelos (DeVienne, 2003). Así, la H.esp. resulta también más adecuada para comparaciones de los resultados de distintos estudios (Hagenblad, et al., 2015).

Existen asimismo caracterizaciones de la diversidad genética de colecciones de germoplasma de *P. guajava* de diversos países continentales, incluidos los Estados Unidos, Brasil e India (Kanupriya, et al., 2011). La colección de germoplasma de los Estados Unidos analizada por Sitther et al. (2014), estuvo conformada por cultivares autóctonos de ese país pero también de otros provenientes de África, Asia, Centro y Sudamérica. Con 20 loci microsatélites polimórficos analizados, en esta colección se encontró una H.esp global de 0.700 y un número de alelos promedio de 8.9 entre todos los loci analizados. La colección de germoplasma de *P. guajava* de Brasil, país donde esta planta es nativa, presentó una diversidad genética ligeramente más alta, con una H.esp de 0.733 para 13 loci microsatélites polimórficos (Da Costa y Santos, 2013). La diversidad genética de *P. guajava* más alta reportada en la literatura, estuvo en la colección de germoplasma de la India (Kanupriya, et al., 2011). Aquí, se encontró una H.esp. global de 0.824, con 23 loci microsatélites analizados, todos ellos polimórficos.

Todas estas colecciones de germoplasma, equivalentes a poblaciones continentales de *P. guajava*, presentaron una diversidad genética notablemente superior a aquella encontrada en las islas Santa Cruz y San Cristóbal, en Galápagos. Se debe prestar especial atención a la diversidad encontrada en la colección de germoplasma de Brasil, no solo porque *P. guajava*

es nativa en este país, si no también porque sería lo más cercano de lo encontrado en la literatura a las poblaciones fuente de aquellas presentes en Santa Cruz y San Cristóbal, que muy posiblemente estarían en el Ecuador continental (Latorre, 2002; Lundh, 2004). La H_{sp} de la colección de germoplasma de Brasil fue considerablemente superior a la encontrada en la población de Santa Cruz. Además, en la colección brasileña, los 13 loci analizados por Da Costa y Santos (2013) fueron polimórficos, todos con no menos de 7 alelos. Contrario a esto, en la población de *P. guajava* de la isla Santa Cruz, solo 9 de los 13 loci analizados resultaron ser polimórficos, encontrándose en cada uno de éstos no más de 5 alelos. Considerando esto, se cumple lo esperado teóricamente, en cuanto a que las poblaciones introducidas en islas presenten una diversidad genética inferior a la de las poblaciones continentales (Frankham, 1997; Stuessy, et al., 2014).

Considerando 25 estudios que tratan sobre la diversidad genética de poblaciones de plantas invasoras en ecosistemas insulares y continentales empleando como marcadores moleculares a los microsatélites (incluidos 17 estudios de la revisión de Hagenblad, et al., 2015, más otras referencias incluyendo: Genton, et al., 2005; Hagenblad, et al., 2015; Houliston y Goeke, 2016; LeRoux, et al., 2008; LeRoux, et al., 2010; Thompson, et al., 2016; Xu, et al., 2015), se observa que estas poblaciones invasoras presentan una H_{sp} promedio de 0.399. Cabe mencionar que este dato está sujeto a una notable variación ($s=0.290$), explicada más que nada por los múltiples factores de los que depende la diversidad genética de una población introducida (Stuessy, et al., 2014). En todo caso, la diversidad genética de la población de *P. guajava* de Santa Cruz mantendría un valor cercano al promedio, de hecho mayor a éste (0.444). Considerando solo a los estudios que analizaron casos de invasiones en ecosistemas insulares, la diversidad promedio no cambia, permaneciendo en 0.453, presentando también una importante variación ($s=0.284$). La población de *P. guajava* de Santa Cruz en este caso se mantiene alrededor del promedio. Además, supera a la diversidad

genética encontrada en otras poblaciones insulares de plantas invasoras de características semejantes a *P. guajava*, como es el caso de las poblaciones de la también leñosa y arbustiva *Miconia calvescens* en Nueva Caledonia (H.esp=0.128) o en las isla Grande de Hawái (H.esp=0.117) (LeRoux, et al., 2008).

8.2 Explicaciones biológicas de los niveles de diversidad genética encontrada en la población de *P. guajava* de la isla Santa Cruz

Stuessy et al. (2014) mencionaron que para explicar la diversidad genética de una especie insular introducida como *P. guajava* en Santa Cruz, es de marcada importancia el considerar las características biológicas de la especie, sobre todo el mecanismo de reproducción, y el efecto fundador al momento de la colonización. Tampoco hay que dejar a un lado la geografía del lugar y la historia humana en Santa Cruz.

En las colecciones de germoplasma continentales de *P. guajava*, como aquella en el Brasil, se encontraron diversidades genéticas elevadas. Por lo tanto, con esta información limitada, hay evidencia de que las poblaciones de esta planta son altamente diversas en su rango de distribución natural (Da Costa y Santos, 2013). Con esto se espera también que las poblaciones del Ecuador continental, que serían las primeras candidatas a ser las fuentes de la población de Galápagos, mantengan una diversidad genética alta. De ser esto cierto, sería una de las explicaciones al por qué se encontró una diversidad genética más alta de lo esperado en la población de *P. guajava* de Santa Cruz. Teóricamente, el subconjunto de una población fuente que coloniza un nuevo ecosistema, como una isla, tendrá mayores probabilidades de contener una mayor diversidad si la población fuente también es más diversa (Frankham, 1997). Así, considerando que las poblaciones continentales de *P. guajava* tienen una diversidad genética elevada, los subconjuntos de éstas que llegaron a Galápagos habrían tenido también mayores posibilidades de llevarse consigo una mayor diversidad incluso después de pasar por los efectos fundadores.

La biología de *P. guajava* es la clave para explicar su nivel de diversidad alta y su notable capacidad de mantener esa diversidad como se ha visto tras la colonización de Santa Cruz. Adaptaciones para sobrevivir en un amplio rango de condiciones, tiempos de generación cortos, una excelente capacidad de dispersión y un sistema reproductivo eficiente serían de importante consideración para el caso (Stuessy, et al., 2014). Estas características también permiten mantener números poblacionales altos, lo cual da más probabilidades de mantener una mayor variación genética. Esto debido a que las poblaciones numerosas son significativamente menos susceptibles a perder diversidad genética ante los efectos de la deriva génica (Frankham, et al., 2010; Stuessy, et al., 2014). La estimación del tamaño efectivo de la población de *P. guajava* de Santa Cruz así como su densidad poblacional ayudarían a soportar esta idea para el caso del presente estudio (Hedrick, 2011).

El mecanismo de reproducción, es uno de los factores biológicos críticos para explicar la diversidad genética de una población. Con respecto a esto, una clara tendencia que se observó en la población de *P. guajava* en Santa Cruz, fue que en 19 de las 20 localidades muestreadas, la H_{esp} fue siempre mayor a la H_{obs} . Esto principalmente se atribuye a la endogamia, que aumenta el número de homocigotos a expensas de los heterocigotos (Loeschcke, et al., 1994). En la población de *P. guajava* de Santa Cruz, sí habría endogamia de acuerdo a los elevados valores F_{IS} encontrados dentro de localidades ($F_{\text{IS}}=0.531$) y subpoblaciones ($F_{\text{IS}}=0.541$; ver definición de subpoblaciones en la sección 6.5.1). Asimismo, según las estimaciones de endogamia basadas en *likelihood*, habría una importante proporción de individuos de *P. guajava* a lo largo de todas las localidades de Santa Cruz, cuyos genotipos para los microsatélites analizados, estarían explicados por endogamia (Figura 13 y Figura 14). Pero más que el entrecruzamiento de individuos emparentados, estas estimaciones por *likelihood* y el F_{IS} podrían estar reflejando el hecho de que *P. guajava* puede autopolinizarse (pues poseen flores perfectas) y reproducirse vegetativamente

(Binggeli, et al., 1998; Genton, et al., 2005). La autopolinización de todos modos, puede tomarse en cuenta como un caso extremo de endogamia que hace que el 50% de la descendencia de un heterocigoto sea homocigótica. Esto tiene efectos claramente negativos sobre la diversidad genética de la población. De hecho, Hagenblad et al. (2015) en su revisión, encontraron que las poblaciones de plantas invasoras con las diversidades genéticas más bajas, son aquellas que son apomícticas o que se autofecundan con tasas elevadas.

P. guajava se autopoliniza y reproduce clonalmente con una frecuencia relativamente alta, de hasta un 60% (Sittler, et al., 2014). Sin embargo, el restante 40% en el que hay reproducción cruzada, habría sido suficiente como para que la población de *P. guajava*, de Santa Cruz haya mantenido niveles de diversidad más altos de los esperados para una especie introducida en una isla pequeña. Por supuesto, esta diversidad es superior también a lo observado en plantas exclusivamente apomícticas o en las que se autofecundan con un porcentaje mayor (Hagenblad, et al., 2015). De todos modos, lo más destacable en este caso, es que la capacidad que tiene *P. guajava* de reproducirse sexual y asexualmente a la vez, explica el notable potencial invasor de que tiene esta especie. En los estadios tempranos de la colonización, la capacidad de reproducirse asexualmente o de autofecundarse, le habría dado a *P. guajava* la ventaja de poder mantener elevadas tasas de reproducción y de poder propagarse rápidamente en la isla Santa Cruz. Sin embargo, con el pasar del tiempo o ante condiciones desfavorables en la isla, el poder entrecruzarse y reproducirse sexualmente, ayudaría a la ya ampliamente distribuida población de *P. guajava* en mantener una diversidad genética alta, haciéndola más adaptable, resistente y duradera en el tiempo (Carlquist, 1974; Crawford, et al., 2009).

En todo caso, las estimaciones de endogamia por *likelihood* determinaron que la endogamia no se presenta en la mayoría de la población de *P. guajava* de Santa Cruz. De hecho, existe reproducción al azar y un entrecruzamiento notable (Figura 13 y Figura 14).

Así, otros factores también pueden explicar esta diferencia entre H_{obs} y H_{esp} . Principalmente, esta observación puede ser el resultado de que la población de *P. guajava* de Santa Cruz es una mezcla de distintas poblaciones fuente, introducidas hace un tiempo relativamente reciente, y que no han alcanzado el equilibrio en las frecuencias genotípicas (Genton, et al., 2005). Cabe mencionar que este desequilibrio sí está comprobado en la población de Santa Cruz, puesto que todos los 9 microsatélites analizados (Tabla 10) y la población en sí globalmente (Tabla 11), demostraron una desviación significativa del HWE. Nótese también que en la población de San Cristóbal, la H_{obs} es asimismo inferior a la H_{esp} . Sin embargo, en este caso la diferencia entre estos dos valores es notablemente menor a lo visto en Santa Cruz (Tabla 7), y por tanto la idea de una mezcla de distintas poblaciones fuente en la población de esta isla es menos robusta.

El hallazgo de un importante número de alelos privados en la población de *P. guajava* de Santa Cruz, que además supera a lo hallado en San Cristóbal (Tabla 7), también sugiere que en la primera habría habido una mayor diversidad de orígenes con respecto a la segunda (Genton, et al., 2005; Hangenblad, et al., 2015). Si bien esto último debe ser corroborado con los análisis genéticos de las poblaciones fuente (del continente), el mayor número de alelos privados hallados en la población de Santa Cruz, junto con las notables diferencias entre H_{esp} y H_{obs} mencionadas anteriormente, son los primeros indicios de múltiples introducciones de *P. guajava* en esta isla.

8.3. Abundante flujo génico y múltiples introducciones: Claves para explicar los patrones y la distribución de la diversidad genética de la población de *P. guajava* de Santa Cruz.

8.3.1. Múltiples introducciones y la ausencia de un cuello de botella por efecto fundador

Los efectos fundadores y los cuellos de botella genéticos derivados de éstos, serían de acuerdo a Stuessy et al. (2014) la fuerza más importante (si bien no la única) para explicar la

diversidad genética encontrada en una población de plantas introducidas en un ecosistema insular.

Si bien la población de *P. guajava* de Santa Cruz presentó un nivel de diversidad inferior al de poblaciones continentales como la de Brasil (Da Costa y Santos, 2013), los análisis de BOTTLENECK no sustentaron un exceso de heterocigosidad (no confundir con exceso del número de heterocigotos observados) en el caso de Santa Cruz (Tabla 12). El exceso de heterocigosidad es una evidencia directa de la reducción abrupta en el tamaño efectivo de la población debido a un posible evento de cuello de botella como el que se puede dar producto del efecto fundador (Estoup y Angers, 1998). Aun así, los resultados de BOTTLENECK deben interpretarse con cuidado. En primer lugar, el limitado número de individuos y loci analizados podría afectar a los resultados obtenidos (Cornuet y Luikart, 1997). Además, el exceso de heterocigotos puede perderse con el pasar de las generaciones, una vez que la población introducida comienza a alcanzar un nuevo equilibrio genotípico después de la colonización (Estoup y Angers, 1998). Así, el método empleado por BOTTLENECK detecta cuellos de botella recientes pero puede tener problemas en detectar eventos más antiguos. De todas maneras, la introducción de *P. guajava* en Santa Cruz fue reciente, dada apenas a principios del siglo pasado. Asimismo, la población de esta isla estaría lejos de alcanzar un equilibrio genotípico (Tabla 10 y Tabla 11). Adicionalmente, BOTTLENECK sí encontró un significativo exceso de heterocigosidad y un posible evento de cuello de botella en la población menos diversa de *P. guajava* de San Cristóbal, bajo el modelo mutacional TPM (Tabla 12). Esto con el mismo número de loci analizados que en Santa Cruz. Por lo tanto, debe haber otra explicación de por qué en la población de Santa Cruz no encontró un cuello de botella por medio de BOTTLENECK, como sí se observó en San Cristóbal.

Novak y Mack (2005) señalan que múltiples introducciones independientes pueden explicar por qué muchas poblaciones de plantas introducidas en islas pueden mantener una diversidad genética elevada pese a los efectos fundadores. En su revisión, Hagenblad et al. (2015) encontraron resultados concordantes con esta idea, puesto que en la mayoría de casos de invasiones exitosas de plantas exóticas, hay evidencia de que hubo más de una introducción al ecosistema invadido. Asimismo, se habrían dado múltiples introducciones en la mayoría de los casos en los que la diversidad genética de las poblaciones introducidas iguala o supera a la de las poblaciones presentes en el rango de distribución natural. Así, los múltiples eventos de introducción contrarrestan los efectos fundadores y las consecuencias genéticas de los cuellos de botella (Barrett y Husband, 1990). Aunque en cada introducción independiente sí se dé un efecto fundador, en conjunto todas las introducciones establecen una población con un pool genético más diverso a través de la recombinación, y por lo tanto más resistente a los efectos negativos que los cuellos de botella tienen sobre la diversidad genética (Barrett y Husband, 1990; Novak y Mack, 2005; Rosenthal, et al., 2008). Un elevado número de propágulos tendría un efecto similar al de las múltiples introducciones. Con respecto a esto, *P. guajava* sería una especie que produciría una gran cantidad de propágulos gracias a su capacidad de reproducirse clonalmente y de generar frutos con numerosas semillas (Novak y Mack, 2005; Thompson, et al., 2016).

En este trabajo, sí se encontraron evidencias de posibles introducciones múltiples de *P. guajava* en Santa Cruz. Por ejemplo, ya se mencionó a las notables diferencias entre H.esp y H.obs y al elevado número de alelos privados encontrados en esta isla en comparación a lo encontrado en San Cristóbal. La ausencia de diferenciación genética entre las distintas localidades y subpoblaciones (ver definición en la sección 6.5.1) de muestreo, tal como se encontró en Santa Cruz ($F_{ST} = 0.024$), también son un indicio de que la población de *P. guajava* de esta isla es el resultado de una mezcla de poblaciones fuente distintas que no han

alcanzado equilibrio entre la migración (flujo génico entre dichas poblaciones fuente) y la deriva génica (Genton, et al., 2005).

Los análisis de estructura poblacional también sustentan esta idea. En STRUCTURE, el K más probable para el set de datos de la población de Santa Cruz fue de 4, sugiriendo que la población de esta isla provendría de 4 linajes distintos (Figura 11). Estos linajes, pueden representar distintas poblaciones fuente de diversos orígenes. En contraste, Ponce (2014) encontró solo dos linajes para la población de San Cristóbal. En cuanto al DAPC, este agrupó a los individuos de Santa Cruz en dos clústers distintos, mientras que los de San Cristóbal solo fueron agrupados en uno (Figura 9). Así, pese a las diferencias metodológicas, STRUCTURE y DAPC arrojaron resultados concordantes, pues ambos sugieren múltiples introducciones independientes de *P. guajava* en Santa Cruz, donde en cada introducción llegaron individuos de una población fuente diferente, de una procedencia en particular. En contraste, en San Cristóbal se habrían dado solo una o un par de introducciones de la planta invasora (Ponce, 2014). De todos modos, cabe mencionar que si bien el número de K s de STRUCTURE puede interpretarse como el número de linajes ancestrales, no es la única interpretación de este número. El valor de K en sentido estricto, es el número de grupos que mejor explican los datos (genotipos) obtenidos mediante inferencia bayesiana (Pritchard, et al., 2004).

8.3.2. Abundante flujo génico dentro de la población de *P. guajava* de Santa Cruz

La diversidad genética neutra es una condición favorable para hacer estimaciones y establecer patrones sobre el flujo génico y las migraciones en una población (Stuessy, et al., 2014). Gracias a esto, ha sido posible determinar con certeza que existe un importante flujo génico entre las distintas localidades y subpoblaciones de *P. guajava* en Santa Cruz. Esto, pese a que se hubiera esperado en un principio que las múltiples introducciones de distintas fuentes de esta planta invasora, hayan más bien diferenciado genéticamente a los individuos

de distintas subpoblaciones y localidades de muestreo (Nagy y Korpelainen, 2014; Rosenthal, et al., 2008).

En este trabajo se soporta la idea de un abundante flujo génico dentro de la población de *P. guajava* estudiada. En primer lugar, ya se mencionó que en el análisis de STRUCTURE se distinguieron 4 linajes distintos. Sin embargo, no se evidenció que estos se agrupen en una estructura poblacional definida (Figura 11). Asimismo, el DAPC señala que en Santa Cruz los individuos se agrupan en dos clústers distintos. Sin embargo, con excepción de unas pocas localidades, todas tienen una mezcla de individuos de ambos clústers (Figura 10). La mezcla de distintos grupos se hace más visual en el PCoA de los individuos de Santa Cruz (Figura 6) y en el dendrograma NJ (Figura 8), donde no existe ningún agrupamiento geográfico de los individuos muestreados, estando todos más bien dispersos y entremezclados. Por último, los F_{ST} globales bajos (0.024 para localidades y 0.034 para subpoblaciones) y el elevado F_{IT} (0.542) encontrados, sugieren que los individuos de las distintas localidades y subpoblaciones no están genéticamente diferenciados, si no que más bien la diversidad está homogéneamente distribuida dentro de toda la población, entre sus individuos (Frankham, et al., 2010). El flujo génico sería precisamente el factor que explica estas observaciones, pues homogeniza la diversidad genética dentro de las poblaciones, anulando la diferenciación genética entre los individuos de distintas subpoblaciones (o también localidades en este caso) (Holderegger, et al. 2006).

Tomando en cuenta solo a las subpoblaciones de Santa Cruz, sobre todo a las ubicadas en la zona agrícola y sus alrededores, los *pairwise* F_{ST} fueron siempre cercanos a cero (Tabla 8). Esto sugiere una escasa diferenciación genética y un notable flujo génico entre todas estas subpoblaciones, incluso entre SA y CASGAP, situadas en extremos distintos de la zona agrícola (Figura 2). Este abundante flujo génico entre individuos de distintas partes de la isla, también se encontró en la población de *P. guajava* de San Cristóbal (Ponce, 2014).

Asimismo, los valores Nm encontrados entre las subpoblaciones de la zona agrícola de Santa Cruz y sus alrededores son elevados, siempre por encima del valor de 1.00. Este valor en una población numerosa como la de *P. guajava* en Santa Cruz, es suficiente como para que las subpoblaciones mantengan conectividad genética (Lowe, et al., 2009). Cabe mencionar que los valores Nm no necesariamente reflejan el flujo génico que se da actualmente entre las subpoblaciones en cuestión. Éstos más bien reflejan el flujo génico pasado, que data de cuando se fertilizaron y dispersaron las semillas que dieron lugar a los individuos muestreados. Así, la conectividad entre las distintas subpoblaciones de *P. guajava* en la isla Santa Cruz, ya habría existido desde hace varias décadas en el pasado (Holderegger, et al., 2006)

Los *pairwise* F_{ST} de las subpoblaciones de la zona agrícola de Santa Cruz y su borde con respecto a la subpoblación TPNG, más alejada hacia el norte de la zona agrícola en territorio del PNG (Figura 2), siguen siendo cercanos a cero, aunque sí son mayores a los observados solo entre las subpoblaciones de la zona agrícola y sus alrededores (Tabla 8). Asimismo, todos los Nm en estos casos superan el valor de 1.00, pero tampoco alcanzan valores altos como se apreció entre las subpoblaciones de la zona agrícola (Tabla 14). Esto quiere decir que sí existe y existió flujo génico y conectividad entre éstas y TPNG, aunque tal vez en menor medida a lo evidenciado solo entre dichas subpoblaciones de la zona agrícola y sus alrededores.

El análisis de STRUCTURE en el que se tomaron en cuenta a los individuos Santa Cruz y de San Cristóbal (Figura 12), sugiere que las poblaciones de estas dos islas provienen de linajes distintos y que casi no mantienen flujo génico entre sí, por lo que están genéticamente diferenciadas. Los resultados del DAPC (Figura 9), así como las grandes distancias genéticas entre individuos de las dos islas, ilustradas en el PCoA y el dendrograma NJ (Figura 7 y Figura 8b), fueron concordantes con los resultados de STRUCTURE en este

aspecto. De igual manera, lo fueron los *pairwise* F_{ST} y Nm encontrados entre los clústers en los que el DAPC separó a los individuos de Santa Cruz y San Cristóbal. El F_{ST} entre los dos clústers de Santa Cruz fue bajo, pero se tuvieron valores más altos en los F_{ST} observados entre el clúster de San Cristóbal y los dos de Santa Cruz (Tabla 9). En cuanto a los Nm , se obtuvo un valor superior a 1.00 entre los dos clústers de Santa Cruz. Sin embargo, entre éstos y el clúster de San Cristóbal se obtuvieron valores Nm inferiores a 1.00 (Tabla 13), sugiriendo que no habría conectividad genética entre los clústers de las diferentes islas.

Los *pairwise* F_{ST} entre la población de San Cristóbal y las subpoblaciones de Santa Cruz, también tendieron a ser más altos que los valores encontrados solo entre las subpoblaciones de Santa Cruz (con dos excepciones) (Tabla 8). Por lo tanto, estos *pairwise* F_{ST} continúan sugiriendo un flujo génico más limitado entre las poblaciones de ambas islas en comparación al encontrado dentro de Santa Cruz. De todos modos, cabe notar que el valor de los *pairwise* F_{ST} entre San Cristóbal y las subpoblaciones de Santa Cruz, son relativamente bajos en general. De hecho, entre San Cristóbal y las subpoblaciones SA y TPNG se encontraron valores de F_{ST} bajos, comparables a los encontrados entre las subpoblaciones de Santa Cruz. Asimismo, la población de San Cristóbal mantuvo un Nm superior a 1.00 con 7 de las 8 subpoblaciones de Santa Cruz. De este modo, se tiene evidencia de que hubo algo de conectividad y flujo génico entre las poblaciones de *P. guajava* de estas dos islas al menos en un pasado relativamente reciente (Holderegger, et al., 2006). Considerando las estrictas regulaciones que existen actualmente en Galápagos sobre el transporte de animales (potenciales dispersores de semillas) y productos vegetales entre islas (Bigue, et al., 2012), sería difícil que en el presente exista flujo génico entre las poblaciones de *P. guajava* de Santa Cruz y San Cristóbal. Sin embargo, antes de los años 90 no existían estas regulaciones de modo que en esta época sí pudo existir conectividad genética entre las poblaciones de las dos islas. Además, cabe resaltar que los Nm reflejan el flujo génico pasado. Lo más reciente

que pueden captar, es el flujo génico dado cuando los individuos muestreados eran semillas (Holderegger, et al., 2006). Así, considerando que un individuo de *P. guajava* puede vivir hasta 40 años (Agroforestry Database, 2009), los *Nm* obtenidos pudieron captar este flujo génico anterior a los años 90. De hecho, dado a que los *Nm* integran los efectos evolutivos que actuaron sobre varias generaciones en periodos largos de tiempo, podrían incluso estar captando el flujo génico dado entre los antepasados continentales de los individuos muestreados en Santa Cruz y San Cristóbal (Holderegger, et al., 2006).

El notable flujo génico encontrado entre los individuos de todas las subpoblaciones de *P. guajava* de Santa Cruz es algo concordante con el pequeño tamaño de la isla, que no cuenta con más de 1000 km² de extensión (Carvajal, 2016). En este espacio reducido, es fácil que los individuos de las diversas subpoblaciones se entrecrucen y que las semillas se dispersen de una subpoblación a otra. Lo mismo aplicaría para San Cristóbal, que de hecho tiene una extensión menor a Santa Cruz (Herrera, 2013; Stuessy, et al., 2014). Sin embargo, independientemente del tamaño de la isla, el flujo génico de la población de *P. guajava* de Santa Cruz estaría facilitado principalmente por su eficiente dispersión. La dispersión de esta planta invasora es eficiente gracias al elevado número de diminutas semillas presentes en cada fruto. Gracias a su pequeño tamaño, estas semillas no solo se dispersan con mayor facilidad, sino que también son más resistentes a la digestión mecánica de los animales dispersores (Conabio, s.f.; GISD, 2005). Gracias a esto, *P. guajava* se ha convertido en una de las especies invasoras que más rápido se ha dispersado en la parte alta y húmeda de Santa Cruz (Trueman, et al., 2014). Ya para el 2008, estimaciones de la Dirección del PNG (DPNG) señalaban que en toda esta isla, *P. guajava* ocupaba hasta 3000 ha (Carvajal, 2016).

El fruto de *P. guajava* resulta sumamente atractivo para varias especies de animales en Galápagos, los cuales dispersan las semillas que vienen en los frutos contribuyendo al flujo génico de la especie invasora (GISD, 2005). Las aves paseriformes endémicas,

incluyendo cucuveas (*Nesomimus sp.*), papamoscas (*Myiarchus magnirostris*) y pinzones (e.g. *Geospiza sp.*), son unos de los animales que han demostrado una notable preferencia por el consumo del fruto de *P. guajava* (GISD, 2005; Jewell, C, 2006). Sin embargo, estos animales tienen una digestión rápida y áreas de vida reducidas, que no tienen más de 1 ha. Por lo tanto, estas aves serían incapaces de dispersar semillas a más de 100 mts. Del individuo parental, por lo que no explicarían en totalidad el importante flujo génico observado en *P. guajava* a lo largo de toda la parte alta y húmeda de Santa Cruz (Jewell, C, 2006).

Las tortugas galápagos de Santa Cruz (*Chelonoidis porteri*), serían otro notable agente dispersor de *P. guajava* en esta isla. En su estudio, Blake et al. (2012) encontraron que las semillas más comunes en las excretas de estos reptiles, eran justamente las de esta planta invasora. Además de esto, las tortugas galápagos tienen una digestión más lenta que el de las aves, pudiendo retener las semillas que ingieren durante 12 días en promedio. En ese tiempo, Blake et al. (2012) estimaron que una tortuga podía movilizarse entre 394 y un máximo de 3262 mts, siendo estas las distancias que una tortuga podría dispersar a una semilla de *P. guajava* con respecto a la planta parental. Así, a pesar de moverse notablemente más lento, las tortugas serían dispersores más eficientes que las aves, superándolas significativamente en las distancias a las que dispersan semillas. Se conoce que las tortugas se movilizan grandes distancias a lo largo de la gradiente altitudinal de Santa Cruz, en dirección norte-sur (Blake, et al. 2012). Así, estos animales explicarían el flujo génico entre individuos de *P. guajava* que se encuentran en este trayecto, como por ejemplo el flujo génico existente entre los individuos de la subpoblación TPNG con los demás en la zona agrícola. Sin embargo, los patrones de movimiento de las tortugas galápagos no explicarían el flujo génico entre subpoblaciones orientales y occidentales, como el caso de SA y CASGAP (Figura 2). Así, pese a su eficiencia como dispersores, estos reptiles tampoco explicarían la totalidad del flujo génico evidenciado en toda la población de *P. guajava* de la isla Santa Cruz.

Los frutos de *P. guajava* también son atractivos para los animales domésticos. Estos animales, principalmente el ganado, los cerdos, los caballos y las cabras, serían otros de los dispersores clave de la planta invasora en Santa Cruz, y Galápagos en general (Herrera, 2013). Varias de las numerosas semillas de *P. guajava* sobrevivirían a la digestión química de estos animales domésticos. Además de esto, el ganado que se moviliza hacia los pastizales alejaría a las semillas de la sombra de los árboles parentales, ayudando su dispersión e incrementando sus posibilidades de supervivencia. El estiércol en el que terminan las semillas, también ayudaría a evitar su desecación, y además contribuiría a debilitar las raíces de los pastos, facilitando así el anclaje de las plántulas invasoras (Diong, 1982; Somarriba, 1986). Se cree también que la digestión de las semillas de *P. guajava* por parte de animales domésticos, y el estiércol de éstos, aumenta el éxito de germinación de la semilla y las posibilidades de supervivencia de la plántula (Herrera, 2013; Huenneke y Vitousek, 1989; Somarriba, 1986). Sin embargo, esto no pudo ser demostrado experimentalmente en el caso de la pariente cercana de *P. guajava*, *P. cattleianum* (Huenneke y Vitousek, 1989). Sin embargo, Herrera (2013) comprobó que el estiércol de caballo, rico en nitrógeno, sí ofrece un sustrato beneficioso para la germinación de las semillas de *P. guajava*, y que asimismo promueve un mayor crecimiento de las plántulas.

Independientemente de si la digestión y el estiércol de los animales domésticos representan un beneficio para la germinación o no, el papel de estos animales como dispersores de *P. guajava* es importante. Por ejemplo, se ha demostrado que el ganado y los caballos pueden dispersar miles de semillas de esta planta invasora al día por medio de sus excretas (Herrera, 2013; Somarriba, 1986). Aparte de esto, a diferencia de las aves, los ungulados domésticos retienen las semillas en su aparato digestivo durante un tiempo prolongado. Asimismo, estos animales pueden moverse más, ya sea por su cuenta o por acción de los humanos. Los finqueros conducen su ganado y resto de animales domésticos

entre diferentes zonas dentro de sus propiedades para que éstos se alimenten y descansen. Pero además, gracias al empleo de vehículos motorizados y a la habilitación de vías de acceso, el ganado puede ser movilizadado a lo largo de toda la zona agrícola y poblada de la isla en cuestión de algunos minutos. A parte de animales domésticos, se movilizan también productos agrícolas, frutos incluidos. Esto constituye también una fuente de dispersión y flujo génico para *P. guajava* (Lundh, 2004; Stuessy, et al., 2014). Así, los animales domésticos (sobre todo el ganado y los caballos), y el comercio humano como agentes dispersores, explican el notable flujo génico en la población de esta planta invasora a lo largo de toda la zona agrícola de Santa Cruz en todas las direcciones posibles.

A parte de las tortugas galápagos, los animales ferales que aún existen en Santa Cruz (Charles Darwin Foundation, 2017) explicarían el flujo génico dado entre las subpoblaciones de la zona agrícola, y la alejada subpoblación TPNG, establecida en territorio del PNG (Figura 2). Las cabras y burros ferales sobre todo, son capaces de sobrevivir en hábitats secos como los que dominan la zona donde está establecida la subpoblación TPNG. Por lo tanto, estos animales pueden transitar libremente entre estas áreas protegidas secas y las tierras agrícolas más húmedas del sur, llevando consigo semillas de plantas invasoras como *P. guajava* y promoviendo su flujo génico dentro de los límites del PNG (Carrión, et al., 2007).

Para finalizar el tema del flujo génico en la población de *P. guajava* de Santa Cruz, cabe hacer una mención a la posibilidad de flujo génico interespecífico, entre esta planta invasora, y su pariente endémico *P. galapageium*. Sí se han encontrado casos en los que dos especies insulares endémicas, distintas pero del mismo género, se cruzan entre sí dando lugar a híbridos. Por medio de estos híbridos y de un proceso de introgresión, intercambian material genético y mantienen en niveles estables sus diversidades genéticas (Carr, 2003; Francisco-Ortega, et al., 1996). Sin embargo, cuando una especie invasora y abundante como *P. guajava* comienza a cruzarse con una especie nativa menos abundante y con distribución

restringida como *P. galapageium*, la extinción de esta última puede darse rápidamente. Esto es debido a que la especie nativa deja de producir descendencia de su propia especie para dar lugar a híbridos con la especie invasora con el pasar de las generaciones (Huxel, 1999; Levin, et al., 1995). Adicionalmente, por medio de la introgresión, la especie invasora podría adquirir material genético de su pariente nativo, incrementando así su pool genético, su variabilidad genética y su adaptabilidad al hábitat invadido. Esto ya ha sido observado en varias ocasiones, sobre todo en plantas de familias como Poaceae, Asteraceae, Brassicaceae y Violaceae (Ellstrand y Schierenbeck, 2000).

Aunque los análisis realizados en STRUCTURE señalaron que no hay hibridación entre estas dos plantas en San Cristóbal (Ponce, 2016), se han encontrado en esta isla y en Santa Cruz individuos que morfológicamente poseen características tanto de *P. guajava* como de *P. galapageium*, por lo que sería posible que se trate de híbridos entre las dos especies (observación personal). En este trabajo, se genotipó uno de esos individuos, HBGe1. En éste, se encontró que comparte 10 de sus 32 alelos, un 31% de ellos, con la población de *P. guajava* de Santa Cruz para los 13 microsatélites analizados (Tabla 4). Este es un porcentaje alto de alelos compartidos, de modo que con esta información limitada sí se mantiene la posibilidad de que este individuo sea un híbrido, siendo *P. guajava* una de sus especies parentales (Turchetto, et al., 2015). De todas maneras, quedaría pendiente encontrar el porcentaje de alelos compartidos con la población de *P. galapageium*, para plantear con certeza que HBGe1 es un híbrido entre la planta endémica y la invasora. Aun así, la información de un solo individuo continúa siendo insuficiente para llegar a conclusiones sólidas. Esta idea de la hibridación se tendría que sustentar además por el genotipado de más individuos posiblemente híbridos como HBGe1, así como por análisis bayesianos de estructura poblacional tal como Ponce (2016) realizó en el caso de San Cristóbal.

En cuanto al individuo Psp_SCZ_02, éste compartió menos del 13% de sus alelos (3 de 24 encontrados) con la población de *P. guajava* de Santa Cruz (Tabla 5). El bajo porcentaje de alelos que comparte Psp_SCZ_02 con la población de *P. guajava*, junto con su tetraploidía (Anexo H), podrían sugerir que este individuo podría pertenecer a una especie diferente, *P. acutangulum*. Justamente, al igual que Psp_SCZ_02, la especie *P. acutangulum* sería tetraploide (Da Costa y Forni-Martins, 2006). Este y otros individuos de semejante apariencia presentes en Santa Cruz deben ser analizados a mayor profundidad tanto genética como morfológicamente. De llegarse a confirmar que éstos pertenecen a la especie *P. acutangulum*, habría un nuevo registro de especie introducida en Galápagos, que afortunadamente no ha demostrado ser una invasora agresiva como su pariente *P. guajava* (Charles Darwin Foundation, 2017).

8.4 Análisis de la diversidad genética de las localidades y subpoblaciones de *P. guajava* muestreadas en Santa Cruz

La población de *P. guajava* de Santa Cruz muestra una distribución uniforme de la diversidad genética a lo largo de las localidades y subpoblaciones muestreadas, las cuales prácticamente no presentan diferenciación genética entre sí. El notable flujo génico evidenciado en esta población explicaría estas observaciones (Holderegger, et al., 2006). La escasa variación interpoblacional (entre subpoblaciones y localidades en el caso de este trabajo), sería algo común entre las poblaciones de plantas invasoras, no solo en los hábitats invadidos sino también en su rango de distribución natural (Hagenblad, et al., 2013; Novak y Mack, 2005). Posiblemente, la excelente capacidad de dispersión que tienen las plantas invasoras por definición, como ya se observó en la población de *P. guajava* de Santa Cruz, expliquen esta tendencia (Baker, 1974; Vitousek, 1989).

La homogeneidad en la diversidad genética es en especial notoria a nivel de las subpoblaciones (Tabla 2). Para empezar, entre éstas se obtuvo poca variación ($F_{ST}=0.034$).

En cuanto al número de alelos, las subpoblaciones no muestran diferencias de más de tres alelos entre sí. Los alelos privados tampoco se encuentran concentrados en ninguna subpoblación en particular. Por lo tanto, la riqueza alélica es uniforme a lo largo de todas las subpoblaciones. Otro importante indicador de diversidad es la H_{sp} , que mantiene su confiabilidad para efectos de comparaciones gracias a que no demostró tener una correlación con el tamaño de muestra de las subpoblaciones. Al igual que el número de alelos, los valores de H_{sp} mantuvieron una notable homogeneidad a lo largo de las subpoblaciones de *P. guajava* muestreadas en Santa Cruz.

Las H_{sp} de las subpoblaciones PACI, CASGAP y TPNG muestran una desviación con respecto a la media superior a las que tienen las demás subpoblaciones. PACI muestra una H_{sp} más alta, mientras CASGAP y TPNG, muestran H_{sp} más bajas. Evidentemente, estas desviaciones no serían lo suficientemente grandes como para alterar la uniformidad en la distribución de la diversidad genética en la población de *P. guajava* de la isla Santa Cruz (Hagenblad, et al., 2015). De todos modos, sí es posible identificar algunos factores que explicarían la ligeramente menor variabilidad genética de CASGAP y TPNG. Básicamente, en estas subpoblaciones, *P. guajava* tendría números poblacionales y densidades poblacionales más bajos en comparación al resto de la población. De este modo, dichas subpoblaciones serían más susceptibles a sufrir una reducción de diversidad ante los efectos de la deriva génica (Frankham, et al., 2010). En el caso de TPNG, los bajos números poblacionales de *P. guajava* estarían explicados por factores como la baja pluviosidad, la menor abundancia de dispersores clave, y la importante elevación sobre el nivel del mar sobre la que se asienta la subpoblación TPNG. Factores que a su vez estarían vinculados con una menor supervivencia y éxito reproductivo de la especie invasora en esta zona (Blake, et al., 2012; Carrión, et al., 2007; Huenneke y Vitousek, 1989). En la subpoblación CASGAP por su parte, habría una menor cantidad de individuos de *P. guajava* debido a que en la

localidad de El Cascajo (que alberga a 5 de los 6 individuos muestreados de la subpoblación CASGAP), los finqueros se esforzarían para al menos intentar evitar la proliferación de esta planta invasora, ya que esta es considerada como una plaga para la pequeña horticultura, principal actividad económica de los habitantes de esta localidad (Carvajal, 2016; Parque Nacional Galápagos, 2016). En contraste, en el resto de la zona agrícola, la principal actividad económica es la ganadería, de modo que aquí el control de *P. guajava* se torna algo intrascendente (Parque Nacional Galápagos, 2016).

A una escala más pequeña, a nivel de localidades, se repite aquello observado en las subpoblaciones en cuanto a la homogeneidad en los indicadores de diversidad genética. Las H_{sp} entre las distintas localidades, variaron pero no considerablemente. Esto pese a la presencia de valores extremos bajos como aquellos en las vecinas localidades de El Aguacatal y Los Guyabaillos, así como en Pájaro Brujo y Caseta. Una introducción reciente de los individuos de estas localidades en Santa Cruz es una de las posibles explicaciones a sus valores de diversidad bajos y heterogéneos con respecto a los de las demás localidades (Holderegger, et al., 2006). En cuanto al número de alelos, estos variaron aún menos de localidad a localidad. De igual manera, la mayoría de localidades no tuvieron ningún alelo privado, y las que los tenían tuvieron máximo uno (Tabla 6). Todo esto sugiere nuevamente una distribución uniforme de la diversidad genética y una escasa diferenciación genética entre las distintas localidades (Hagenblad, et al., 2015). Esto fue en concordancia con el F_{ST} global bajo (0.024) obtenido a nivel de localidades. La ausencia de una correlación significativa entre el tamaño de muestra de las localidades, y el número de alelos y la H_{sp} encontrados en éstas, hace a los dos indicadores de diversidad confiables para efectuar comparaciones entre lo observado en distintas localidades.

Fueron pocos los casos en los que los individuos de localidades geográficamente cercanas, fueron agrupados juntos en el dendrograma NJ. En primer lugar, está en el caso de

los individuos de Pájaro Brujo y Santa Rosa, ambas localidades pertenecientes a la subpoblación ASR. La especulativa introducción reciente de los individuos de Pájaro Brujo, podría explicar su cercanía con los de la Santa Rosa. Al haber tenido poco tiempo para homogeneizar su pool genético con los demás individuos de la población, los de Pájaro Brujo recién comenzarían a mezclarse con los de la localidad más próxima, Santa Rosa en este caso (Stuessy, et al., 2014). Otro caso en el que individuos de localidades de la misma subpoblación se agruparon cercanamente, fue Granillo Rojo y el de Los Gemelos, ambas localidades pertenecientes a la subpoblación TPNG. Dado a que son pocos los animales dispersores de semillas que logran llegar a la zona de TPNG desde la zona agrícola, el individuo de Los Gemelos tiene una mayor probabilidad de estar relacionado con los individuos de Granillo Rojo que con los de cualquier otra localidad de la zona agrícola, tal como se reflejó en el dendrograma NJ (Charles Darwin Foundation, 2017; GISD, 2005). De todos modos, continua existiendo flujo génico entre los individuos de estas dos localidades con los de la zona agrícola (Tabla 14), de modo que se mantiene distante la posibilidad de que los individuos de la subpoblación TPNG diverjan genéticamente de los demás.

8.5 Planteamientos sobre la historia de la introducción y colonización de *P. guajava* en Santa Cruz y San Cristóbal.

Pese a contar con los mejores suelos cultivables de Galápagos, la isla Santa Cruz fue la última isla habitable en colonizarse debido a la ausencia de fuentes de agua estables. Los primeros asentamientos estables en esta isla, habrían sido dos pequeñas fincas, una en la localidad de Salasaca y otra en torno al manantial de Santa Rosa. Para 1926, estas fincas fueron reportadas como abandonadas. Sin embargo, también se reportó que en éstas estaban creciendo plantas cultivables como naranjas, caña de azúcar y plátanos (Lundh, 2004). Tye (2001) menciona que *P. guajava* llegó a Santa Cruz entre los años 30 y los años 40 del siglo pasado. Sin embargo, como se analizará más adelante, algunos hechos históricos y los

resultados de este trabajo, sugieren que *P. guajava* pudo ya haber acompañado a los cultivos de las pequeñas fincas de Santa Rosa y Salasaca a principios del siglo XX (Lundh, 2004).

Algunos afirman que estas fincas fueron establecidas por piratas. Sin embargo, otra historia señala que éstas fueron establecidas por parte de Manuel Cobos para alimentar a los trabajadores que él enviaba eventualmente a Santa Cruz (Lundh, 2004). Cobos, fue un terrateniente y colonizador de Galápagos, quien logró establecer amplios campos agrícolas en San Cristóbal en el siglo XIX, para cuando *P. guajava* ya estaba bien establecida en ésta isla (Brewington, 2011). De este modo, si la planta invasora ya estaba en estas pequeñas fincas, seguramente provino de las propiedades de Cobos en San Cristóbal. Esto es compatible con el hallazgo en el análisis de STRUCTURE de un notable aporte del linaje de San Cristóbal en los individuos de *P. guajava* muestreados en Santa Rosa, y en menor medida en los de Salasaca (Figura 12), así como con el agrupamiento cercano de las localidades de la subpoblación ASR (Santa Rosa y Pájaro Brujo) con las localidades de San Cristóbal en el dendrograma NJ (Figura 8a). El importante flujo génico, reflejado en un F_{ST} cercano a cero (0.066) y en un Nm mayor a 1.00 (3.54), entre la población de San Cristóbal y la subpoblación SA (cuya única localidad es Salasaca), también podría estar explicado por estos sucesos históricos (recordando que Nm captura el flujo génico del pasado).

Otra de las primeras fincas establecidas en Santa Cruz, habría sido la del mexicano Felipe Lastre, establecida en la actual Bellavista a inicios del siglo XX. Lastre habría sido capataz de Cobos en las plantaciones de caña de San Cristóbal (Lundh, 2004). Aunque no existe información comprobada, este hombre pudo traer de San Cristóbal animales domésticos y plantas cultivables, donde posiblemente estaba incluida *P. guajava*, que ya era una plaga en San Cristóbal para esta época. Varios noruegos, también establecieron fincas en las tierras altas de Santa Cruz en el área de Bellavista. Algunos de ellos mantuvieron un importante contacto con San Cristóbal (incluyendo algunos marinos que trabajaban para

Cobos), de modo que también pudieron haber movilizado plantas cultivables como *P. guajava* entre las dos islas de forma intencional o accidental (Latorre, 2002; Lundh, 2004). Estos eventos históricos también estarían reflejados en los resultados de este trabajo. En primer lugar, el dendrograma NJ agrupó a los individuos de Bellavista junto con aquellos de las localidades de San Cristóbal (Figura 8a). El mismo dendrograma NJ que ilustra distancias genéticas en sus ramas (Figura 8b), señala a los individuos de Bellavista como los individuos de Santa Cruz genéticamente menos distantes en promedio a los de San Cristóbal. Asimismo, en el PCoA se evidencia un individuo de Bellavista como intermedio entre el grupo de Santa Cruz y de San Cristóbal (Figura 7). Por último, al igual que los de Santa Rosa, los individuos de Bellavista manifiestan un notable aporte del linaje de San Cristóbal de acuerdo a STRUCTURE (Figura 12).

De este modo, la población de *P. guajava* de San Cristóbal sería una de las fuentes de la población de Santa Cruz (Lundh, 2006). A su vez, la población de San Cristóbal, podría provenir de Loja o del Guayas, de donde Cobos trajo varios empleados, ganado, y plantas cultivables (Latorre, 2002; Lundh, 2004). Esto debe ser confirmado con el análisis genético de individuos de *P. guajava* de estas provincias. De todas maneras, se encontraron en general notables distancias genéticas entre los individuos de Santa Cruz y San Cristóbal, tal como lo ilustran el PCoA y el dendrograma NJ (Figura 7 y Figura 8b). Esto, junto con la evidente separación de individuos en dos linajes distintos de acuerdo a la isla de procedencia, tal como lo señala el análisis de STRUCTURE (Figura 12), sustentan a la idea de que el aporte de la población de San Cristóbal a la de Santa Cruz es relativamente pequeño. Por lo tanto, deben haber otras poblaciones fuente para la población de *P. guajava* de Santa Cruz, distintas a las vinculadas con San Cristóbal.

En cuanto al análisis por ABC, éste tampoco sustentó los escenarios que hablaban de una introducción inicial en San Cristóbal, de donde posteriormente provendría la población

de Santa Cruz o una parte de ella. Al contrario, soportó al escenario donde la población de San Cristóbal proviene de la de Santa Cruz (Figura 3c). Sin embargo, el ABC también determinó que el tiempo en el que la población de San Cristóbal se separa de la de Santa Cruz, data de hace más de 2000 generaciones de *P. guajava*, lo que equivaldría a un tiempo anterior a la llegada de la planta invasora a Galápagos (Agroforestry Database, 2009; Brewington, 2011). Si bien este número no es preciso (Tabla 3), estos tiempos de divergencia sugieren que el ABC en realidad no estaría sustentando la divergencia de la población de San Cristóbal a partir de la de Santa Cruz. En realidad, se estaría encontrando la divergencia de un linaje continental que fue llevado a San Cristóbal en el siglo XIX, a partir de otros linajes continentales que estarían representados en la población de Santa Cruz, más diversa y conformada por más linajes que la de San Cristóbal (sección 8.3.1). Así, el ABC estaría también sustentando la idea de múltiples introducciones de *P. guajava* en Santa Cruz, a partir de distintas poblaciones fuente.

Mientras Cobos monopolizó la agricultura y la colonización de San Cristóbal, durante las primeras décadas de colonización de Santa Cruz, llegaron a esta isla varias personas de múltiples orígenes. Aquí, establecieron pequeñas fincas de no más de 20 ha, sobre todo en el actual área de Bellavista y en las localidades al sur de la parte húmeda de la isla (Lundh, 2004; Parque Nacional Galápagos, 2016). A Santa Cruz, no solo llegó gente relacionada con Cobos, como aquellos que fundarían las pequeñas fincas de Salasaca, Santa Rosa y Bellavista. A principios del siglo XX, llegaron colonos noruegos, alemanes, suecos, un colombiano, y varios ecuatorianos, sobre todo de la costa del Ecuador continental (Guayaquil principalmente) para dedicarse a la ganadería sobre todo (Lundh, 2004). Para los años 40 del siglo XX, se da un auge de la ganadería en Santa Cruz, a la vez que reporta un incremento en el número de migrantes ecuatorianos que llegan a esta isla. Llega más gente de Guayas, y principalmente de Loja, tras las múltiples sequías que afectaron a su población, y de

Tungurahua, a raíz del terremoto de 1949 que afectó seriamente a esta provincia. A San Cristóbal también llegan migrantes de estas provincias, pero en menor medida a lo que llegaron a Santa Cruz (Granda y Chóez, 2013; Wogan, 2009). Con el crecimiento del turismo en Santa Cruz para la segunda mitad del siglo XX, llegan más migrantes, sobre todo de Guayas, Manabí, Tungurahua y Pichincha, así como marines de Esmeraldas (Granda y Chóez, 2013; Gunter Reck, comunicación personal, 2017).

Considerando que durante todo este tiempo la gente podía traer libremente a Galápagos ganado, frutos y semillas desde el continente (Bigue, et al., 2012), es posible que junto con los migrantes, hayan llegado a Santa Cruz individuos de *P. guajava* de todas las provincias mencionadas anteriormente. Si bien no hay registro oficial que corrobore esto, es bastante probable que haya sido así, pues los migrantes que llegaban del continente siempre llevaban consigo plantas de sus tierras de origen como *P. guajava*, a las que estaban acostumbrados (Hollingsworth, 2013). Por lo tanto, mientras a San Cristóbal solo llegaron hipotéticamente individuos de Loja y Guayas en el mejor de los casos, a Santa Cruz potencialmente pudieron llegar individuos no solo de estas dos provincias, sino también de todas las demás de donde vinieron los migrantes. Por supuesto, esto debe confirmarse con el análisis genético de los individuos de todas las provincias en cuestión, y su comparación con lo encontrado en Santa Cruz. De ser confirmados, estos múltiples orígenes podrían explicar la mayor diversidad genética encontrada en la población de *P. guajava* de Santa Cruz en comparación a la de San Cristóbal (Tabla 7), así como la no detección de un cuello de botella en la primera.

La idea de los múltiples orígenes de la población de *P. guajava* de Santa Cruz es compatible también con el replanteamiento del escenario 3 del ABC, en cuanto a que en los linajes de Santa Cruz (grupos Santa Cruz 1 y Santa Cruz 2, Figura 3) estarían representados varios linajes continentales, a partir de los cuales diverge el único linaje que originaría a la

población de San Cristóbal. De todos modos, cabe mencionar que este análisis ABC aún es de carácter exploratorio. Se probaron escenarios simples, con pocos grupos, sin incluir a la población de *P. guajava* de las islas Floreana (la primera en ser colonizada según Lundh, 2004) e Isabela, y sobre todo sin incluir muestras del continente. Por ende, los resultados derivados del análisis efectuado en este trabajo deben manejarse con cuidado y ser considerados como los primeros pasos de análisis más profundos. La probabilidad posterior de 1.00 que tuvo el escenario 3 en el presente ABC, no quiere decir que éste explica definitivamente los patrones de colonización e introducción de *P. guajava* en las islas Santa Cruz y San Cristóbal. Seguramente existen escenarios que expliquen mejor estos sucesos, sobre todo una vez que se incluyan muestras continentales (Hagenblad, et al., 2015).

8.6 Implicaciones de una diversidad genética más alta de lo esperado en la población de *P. guajava* de Santa Cruz

Los resultados de este trabajo sustentan la propuesta de Novak y Mack (2005), con respecto a que las poblaciones de plantas invasoras como la de *P. guajava* en Santa Cruz, son capaces de conservar una buena parte de su diversidad genética tras colonizar un hábitat nuevo. Gracias esto, se incrementaría la probabilidad de éxito y la agresividad de la invasión (Genton, et al., 2005; LeRoux, et al., 2008). Así, se estaría desmintiendo a la paradoja de la genética poblacional de plantas invasoras (sección 1.2.2) sostenida por algunos expertos (e.g. Dlugosch y Parker, 2008; Hughes, et al., 2008; Xu, et al., 2015). De todas maneras, los resultados de este trabajo que no tomó en cuenta genes codificantes de importancia adaptativa, no permiten buscar una relación entre la diversidad genética neutra y la adaptabilidad de *P. guajava* al ecosistema de la isla Santa Cruz (Holderegger, et al., 2006).

Uno de los mayores intereses por conocer la diversidad genética de una población de plantas invasoras como lo es la de *P. guajava* en Santa Cruz, es conocer cómo va a responder ésta a cambios ambientales y a estrategias de control. Reed y Frankham (2001) encontraron

que no había una correlación positiva consistente entre la diversidad genética neutra, y la diversidad de genes involucrados en características de relevancia ecológica y adaptativa. Sin embargo, también encontraron que el nivel de heterocigosidad de un individuo a lo largo de varios loci marcadores, sí estaría relacionado con el fitness de dicho individuo (Reed y Frankham, 2002). Considerando que la H.esp de la población de *P. guajava* de Santa Cruz no es del todo baja, los individuos de las generaciones futuras de esta población tienen un buen potencial para mantener su heterocigosidad (pese a la baja H.obs observada en los individuos muestreados) y por ende su fitness, sobre todo si se mantiene la reproducción cruzada (Carlquist, 1974; Crawford, et al., 2009). Por lo tanto, la población de *P. guajava* de Santa Cruz sí tendría posibilidades de sobrevivir a cambios ambientales que se puedan dar en esta isla y en Galápagos en general, ya sea por un incremento en la actividad humana o por fenómenos como el cambio climático global y las oscilaciones de El Niño y La Niña (Carvajal, 2016; Primack, 2014).

En varias especies invasoras, tanto de plantas como de animales, se ha encontrado que una diversidad genética alta está vinculada con la rápida evolución de resistencia a los mecanismos de control (Garcia-Rossi, et al., 2003; Hufbauer y Via, 1999). Además, considerando la fuerte relación entre el fitness individual y la heterocigosidad de cada individuo (a lo largo de distintos loci), así como la débil pero significativa y positiva correlación entre diversidad genética neutra y la variación fenotípica de una población (Reed y Frankham, 2001), la diversidad genética podría ser empleada como un predictor exploratorio de la respuesta de una población invasora a una estrategia de control. Bajo este concepto, una subpoblación genéticamente diversa, tendrá más probabilidades de contener genotipos resistentes al control biológico o químico (Prentis, et al., 2008). Por otro lado, pueden haber subpoblaciones menos diversas que tengan pocas probabilidades de contener genotipos resistentes al control. De este modo, los esfuerzos de control se enfocarían a las

subpoblaciones menos diversas, pues aquí no solo sería necesario invertir menos recursos y trabajo, sino que también se tendría una mayor probabilidad de éxito (Sakai, et al., 2001; Shaik, et al., 2016).

Al juzgar por lo niveles de diversidad genética encontrados en la población de *P. guajava* en la isla Santa Cruz, cualquier estrategia de control sobre ésta no daría los resultados esperados, sobre todo en las subpoblaciones zona agrícola (Genton, et al., 2005; LeRoux, et al., 2008; Prentis, et al., 2008). Salvo una campaña para controlar manual y químicamente la invasión de *P. guajava* en las fincas (Parque Nacional Galápagos, 2012), no se han efectuado, por parte de las autoridades de Galápagos, mayores esfuerzos de control de esta planta invasora, según Gunter Reck (comunicación personal, 2017). Reck sostiene que los malos resultados de la campaña de las fincas desmotivaron a las autoridades en la realización de nuevos esfuerzos de control de *P. guajava* en las áreas agrícolas. De todas maneras, los individuos de *P. guajava* que generan más preocupación, son los que han llegado fuera de la zona agrícola, a territorios del PNG, como por ejemplo los individuos de la subpoblación TPNG. Si bien se demostró que esta subpoblación fue ligeramente menos diversa que las de la zona agrícola, incluso si ésta se llegase a controlar, en poco tiempo llegarían nuevos individuos desde las incontrolables subpoblaciones de la zona agrícola y sus alrededores, volviendo vano al esfuerzo de control. Cabe mencionar también el riesgo de la aplicación del control biológico considerando la presencia de la endémica *P. galapageium*.y su cercano parentesco con *P. guajava* (Ponce, 2014; Prentis, et al., 2008).

9. CONCLUSIONES

La población de *P. guajava* de la isla Santa Cruz presentó unos niveles de diversidad genética que no son bajos para una población introducida en una isla poco extensa. La diversidad de esta población demostró ser superior a la de la población de *P. guajava* de la vecina isla San Cristóbal, aunque inferior a la de poblaciones continentales.

La posibilidad de combinar la autofecundación y la reproducción vegetativa con el entrecruzamiento, podría haber permitido a la población de *P. guajava* de Santa Cruz, el mantener números poblacionales altos, evitando así la pérdida de diversidad por efectos de la deriva génica.

De acuerdo a los resultados de este trabajo, existe la posibilidad de múltiples introducciones de *P. guajava* en la isla Santa Cruz a partir de diferentes poblaciones fuente ubicadas en distintas localizaciones geográficas. Estas múltiples introducciones, opacaron a la detección de un cuello de botella por efecto fundador en la población de esta isla.

En la población de *P. guajava* de la isla Santa Cruz no se encontró una estructura poblacional definida. Esto sería gracias al notable flujo génico que existe dentro de esta población. Dicho flujo génico a su vez estaría facilitado por el pequeño tamaño y la elevada cantidad de semillas que vienen en los frutos de *P. guajava*, así como por la presencia de múltiples agentes dispersores, incluyendo animales nativos y endémicos, animales introducidos, y el ser humano.

Los resultados de este trabajo sustentan la propuesta de que la diversidad genética no se pierde en demasía una vez que una población introducida, como la de *P. guajava*, coloniza un hábitat nuevo como la isla Santa Cruz.

10. RECOMENDACIONES

Se recomienda trabajar con el mismo fluoróforo para todas las muestras amplificadas con el mismo par de primers, es decir, cuando se vaya a amplificar el mismo locus para todos los individuos muestreados. De esta manera, se evitan diferencias de una o pocas pb en el tamaño del alelo amplificado por el uso de diferentes fluoróforos.

La estandarizaciones de las condiciones de PCR para cada par de primers, se las deben hacer incluyendo el oligonucleótido que va marcado con un fluoróforo. Si este no es considerado, las estandarizaciones arrojan condiciones que no necesariamente van a funcionar cuando ya se hagan las reacciones con los primers modificados con la cola y marcados con fluoróforo.

La población de *P. guajava* de Santa Cruz, demostró tener una diversidad genética superior a la esperada. Por lo tanto, cualquier esfuerzo de control de esta plaga, va a ser sumamente complicado y quizás poco viable, sobre todo en la zona agrícola. El control biológico sería incluso menos recomendable, dado a que además de tener una alta posibilidad de no dar resultados, podría afectar a *P. galapageium*.

Se recomienda sumar al análisis genético, individuos de *P. guajava* del Ecuador continental, con énfasis en las provincias de Guayas, Loja, Pichincha, Tungurahua, Manabí y Esmeraldas. Esto permitirá confirmar el planteamiento de múltiples introducciones, identificar los sitios de origen de las poblaciones fuente en el continente y determinar cuánta de la diversidad genética de *P. guajava* se perdió tras la colonización de las islas Galápagos.

Se recomienda probar nuevos escenarios en DIYABC, que esta vez incluyan la información genética de los individuos de *P. guajava* muestreados en el Ecuador continental y en todas las islas de Galápagos donde llegó esta planta invasora. Así, se logrará obtener un

patrón lo más cercano posible a la realidad, de la colonización de *P. guajava* en Galápagos. La inclusión de individuos de la isla Floreana también podría ser clave para tener completo el patrón de la colonización de *P. guajava*, puesto que esta fue la primera isla del Archipiélago colonizada por el ser humano y probablemente fue también la primera a donde llegó esta planta invasora.

11. BIBLIOGRAFÍA

- Agroforestry Database. (2009). *Psidium guajava* L. *Myrtaceae*. Obtenido el 31 de agosto 2017 de http://www.worldagroforestry.org/treedb/AFTPDFS/Psidium_guajava.PDF
- Alvear, C. & Lewis, G. (2016). *La mitad de la parte alta de Santa Cruz cubierta por plantas invasoras*. Obtenido el 13 de septiembre de 2017 de <http://www.galapagosdigital.com/espanol/2014/09/16/la-mitad-de-la-parte-alta-de-santa-cruz-cubierta-por-plantas-invasoras/>
- Amsellem, L., Noyer, J. L., Le Bourgeois, T., & Hossaert-McKey, M. (2000). Comparison of genetic diversity of the invasive weed *Rubus alceifolius* Poir. (Rosaceae) in its native range and in areas of introduction, using amplified fragment length polymorphism (AFLP) markers. *Molecular Ecology*, 9(4), 443–455.
- Baker, H. G. (1974). The evolution of weeds. *Ann. Rev. Ecol. & Systemat.*, 5, 1-24.
- Baker, H. G. (1986). Patterns of Plant Invasion in North America. En *Ecology of Biological Invasions of North America and Hawaii* (pp. 44–57). New York, Estados Unidos: Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4612-4988-7_3
- Barrett, S.C., & Husband, B.C. (1990). En Brown, A.H., Clegg, M.T., Kahler, A.L., & Weir, B.S. (Eds.), *Plant population genetics, breeding, and genetic resources* (pp. 254–277). Sunderland, Reino Unido: Sinauer Associates Inc..
- Bashalkhanov, S., Pandey, M., & Rajora, O. P. (2009). A simple method for estimating genetic diversity in large populations from finite sample sizes. *BMC Genetics*, 10, 84. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-10-84>
- Bigue, M., Brewington, L., Rosero, O., & Cervantes, K. (2012). La cadena de cuarentena: Estableciendo un sistema eficaz de bioseguridad para evitar la introducción de especies invasoras en las Islas Galápagos. Obtenido el 3 de noviembre 2017 de https://www.wildaid.org/sites/default/files/resources/QuarantineChain_Spanish_FINAL_LR.pdf
- Binggeli, P., Hall, J. B., & Healey, J. R. (1998). A review of invasive woody plants in the tropics. School of Agricultural and Forest Sciences Publication Number 13. Obtenido el 1 de septiembre 2017 de <http://www.safs.bangor.ac.uk/iwpt>
- Blacket, M. J., Robin, C., Good, R. T., Lee, S. F., & Miller, A. D. (2012). Universal primers for fluorescent labelling of PCR fragments--an efficient and cost-effective approach to genotyping by fluorescence. *Molecular Ecology Resources*, 12(3), 456–463. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2011.03104.x>
- Blake, S., Wikelski, M., Cabrera, F., Guezou, A., Silva, M., Sadeghayobi, E., ... Jaramillo, P. (2012). Seed dispersal by Galápagos tortoises. *Journal of Biogeography*, 39(11), 1961–1972. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2011.02672.x>
- Boles, B. R., Thoendel, M., & Singh, P. K. (2004). Self-generated diversity produces “insurance effects” in biofilm communities. *Proceedings of the National Academy of*

- Sciences of the United States of America*, 101(47), 16630–16635.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0407460101>
- Bonilla, L. (s.f.). Cultivo de Guayaba. Boletín técnico No. 8, Fundación de Desarrollo Agropecuario, Inc. pp. 1-13.
- Bramwell, D. (1979). *Plants and Islands*. Londres, Reino Unido: Academic Press. pp.459
- Brewington, L. (2011). *The Politics of Invasion: Defining and Dependind the Natural, Native and Legal in the Galápagos Islands of Ecuador*. Chapel Hill, Estados Unidos: Chapel Hill.
- Buddenhagen, C., & J. Jewell, K. (2006). Invasive plant seed viability after processing by some endemic Galapagos birds. *Ornitología Neotropical*, 17, 73–80.
- Cano, L., Escarré, J., Fleck, I., Blanco-Moreno, J., & Sans, F. (2008). Increased fitness and plasticity of an invasive species in its introduced range: A study using *Senecio pterophorus*. *Journal of Ecology*, 96, 468–476. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2008.01363.x>
- Caraballo, B. M. (2001). Biología floral del guayabo (*Psidium guajava* L.) en la Planicie de Maracaibo, Zulia, Venezuela. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*, 18, 41-55.
- Carlquist, S. (1974). *Island biology*. New York, Estados Unidos: Columbia University Press.
- Carr, G.D. (2003). Hybridization in Madiinae. En Carlquist S., Baldwin, B.G., Carr, G.D. (Ed.), *Tarweeds & silverswords: evolution of the Madiinae (Asteraceae)* (pp. 79–104). St. Louis, Estados Unidos: Missouri Botanical Garden Press.
- Carrión, V., Donlan, C. J., Campbell, K., Lavoie, C., & Cruz, F. (2007). Feral donkey (*Equus asinus*) eradications in the Galápagos. *Biodiversity and Conservation*, 16(2), 437–445. <https://doi.org/10.1007/s10531-005-5825-7>
- Carvajal, C. (2016). *Santa Cruz: Media Luna, Los Gemelos, El Chato, Zona de Pampa, y carretera via a Baltra*. Obtenido el 11 de septiembre 2017 de http://www.carlospi.com/galapagospark/programas/parque_nacional_introducidas_plantas_santa_cruz.html
- Cassini, M. H. (2013). *Distribution Ecology: From Individual Habitat Use to Species Biogeographical Range*. New York, Estados Unidos: Springer Science & Business Media.
- Charles Darwin Foundation. (2017). Lista de Especies de Galápagos. Obtenido el 25 de septiembre 2017 de <http://darwinfoundation.org/datazone/checklists/>
- Chiriboga, R., Fonseca, B., & Maignan, S. (2006). Desarrollo de políticas y estrategias de manejo del sector Agropecuario y su relación con las especies introducidas en la Provincia de Galápagos. Proyecto ECU/00/G31. pp. 1-86.
- Clark, L. V., Evans, K. J., & Jasieniuk, M. (2013). Origins and distribution of invasive *Rubus fruticosus* L. agg. (Rosaceae) clones in the Western United States. *Biological Invasions*, 15(6), 1331–1342. <https://doi.org/10.1007/s10530-012-0369-8>
- Conabio. (s.f.). *Psidium guajava*. Obtenido el 31 de agosto 2017 de http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/52-myrt3m.pdf
- Cornuet, J. M., & Luikart, G. (1996). Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics*, 144(4), 2001–2014.

- Cornuet, J.-M., Santos, F., Beaumont, M. A., Robert, C. P., Marin, J.-M., Balding, D. J., ... Estoup, A. (2008). Inferring population history with DIY ABC: a user-friendly approach to approximate Bayesian computation. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 24(23), 2713–2719. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btn514>
- Crawford, D. J., Lowrey, T. K., Anderson, G. J., Bernardello, G., Santos-Guerra, A., & Stuessy, T. F. (2009). Genetic diversity in Asteraceae endemic to oceanic islands: Baker's Law and polyploidy. En Funk, V.A., Susanna, A., Stuessy, T.F., & Bayer, R.J. (Ed.), *Systematics, evolution, and biogeography of Compositae* (pp. 139–151). Viena, Austria: IAPT.
- Cronk, Q. C., & Fuller, J.L. (1995). *Plant Invaders*. Londres, Reino Unido: Chapman & Hall.
- Crooks, J. A. (2002). Characterizing ecosystem-level consequences of biological invasions: the role of ecosystem engineers. *Oikos*, 97(2), 153–166. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0706.2002.970201.x>
- Cubero, J. I., & Salmerón, J. I. C. (2002). *Introducción a la mejora genética vegetal*. Madrid, España: Mundi-Prensa.
- Cuddihy, L. W., & Pratt, L. W. (1990). *Alteration of Native Hawaiian Vegetation: Effects of Humans, Their Activities and Introductions*. Honolulu, Estados Unidos: University of Hawaii, Cooperative National Park Resources Studies Unit.
- Da Costa, R. & Forni-Martins, E.R. (2006). Chromosome studies in Brazilian species of *Campomanesia* Ruiz & Pavon and *Psidium* L. (Myrtaceae Juss.). *Caryologia*, 59(1), 7–13.
- Da Costa, S. R., & Santos, C. a. F. (2013). Allelic database and divergence among *Psidium* accessions by using microsatellite markers. *Genetics and Molecular Research: GMR*, 12(4), 6802–6812. <https://doi.org/10.4238/2013.December.16.6>
- Descubriendo Galápagos. (s.f.). *Las Estaciones en Galápagos*. Obtenido el 8 de septiembre de 2017 de <http://descubriendogalapagos.ec/descubre/procesos-geograficos/el-tiempo-y-el-clima/las-estaciones-en-galapagos/>
- DeVienne, D. (2003). *Molecular Markers in Plant Genetics and Biotechnology*. Plymouth, Reino Unido: INRA
- Dewalt, S. J., & Hamrick, J. L. (2004). Genetic variation of introduced Hawaiian and native Costa Rican populations of an invasive tropical shrub, *Clidemia hirta* (Melastomataceae). *American Journal of Botany*, 91(8), 1155–1162. <https://doi.org/10.3732/ajb.91.8.1155>
- Diario El Universo. (2013). *Galápagos lucha por erradicar la mora y la guayaba*. Obtenido el 25 de agosto 2017 de <http://www.eluniverso.com/noticias/2013/06/06/nota/998571/galapagos-lucha-vegetacion-autoctona-introducida>
- Diong, C. H. (1982). *Population biology and management of the feral pig (Sus scrofa) in Kipahulu Valley, Maui*. Disertación (PhD), University of Hawaii, Estados Unidos.
- Dirección del Parque Nacional Galápagos (DNPG). (2016). *Proyecto de control y erradicación de especies invasoras prioritarias para la reducción de la vulnerabilidad de especies endémicas y nativas de las islas Galápagos*. Obtenido el 29 de agosto 2017 de http://www.galapagos.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2016/08/Proyecto_control_y_errad.pdf

- Dlugosch, K. M., & Parker, I. M. (2008). Invading populations of an ornamental shrub show rapid life history evolution despite genetic bottlenecks. *Ecology Letters*, *11*(7), 701–709. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2008.01181.x>
- Dray, S. et al (2017). Package ‘ade4’ (Versión 1.7-8) [Software]. Obtenido el 6 de mayo 2017 de <https://cran.r-project.org/web/packages/ade4/ade4.pdf>
- Earl, D. A., & vonHoldt, B. M. (2012). STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources*, *4*(2), 359–361. <https://doi.org/10.1007/s12686-011-9548-7>
- Ellstrand, N. C., & Schierenbeck, K. A. (2000). Hybridization as a stimulus for the evolution of invasiveness in plants? *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *97*(13), 7043–7050.
- Elton, C. S. (1958). *The Ecology of Invasions by Animals and Plants*. Londres, Inglaterra: Methuen Co.
- Environmental Systems Research Institute (ESRI). (2015). ArcGIS Desktop (Versión 10.2.) [Software]. ESRI. Obtenido el 2 de septiembre 2016 de <http://desktop.arcgis.com/es/arcmap/>
- Eviner, V. T., & Hawkes, C. V. (2012). The effects of plant-soil feedbacks on invasive plants: mechanisms and potential management options. En T. A. Monaco & R. L. Sheley (Eds.), *Invasive plant ecology and management: linking processes to practice* (pp. 122–141). Wallingford: CABI. <https://doi.org/10.1079/9781845938116.0122>
- Fisher, R. A. (1930). *The Genetical Theory of Natural Selection*. Oxford, Reino Unido: Oxford University Press.
- Francisco-Ortega, J., Jansen, R. K., & Santos-Guerra, A. (1996). Chloroplast DNA evidence of colonization, adaptive radiation, and hybridization in the evolution of the Macaronesian flora. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *93*(9), 4085–4090.
- Frankham, R. (1997). Do island populations have less genetic variation than mainland populations? *Heredity*, *78* (Pt 3), 311–327.
- Frankham, R. (2005). Resolving the genetic paradox in invasive species. *Heredity*, *94*(4), 385. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800634>
- Frankham, R., Ballou, J. D., & Briscoe, D. A. (2010). *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge, Reino Unido: Cambridge University Press.
- Friar, E. A., Cruse-Sanders, J. M., & McGlaughlin, M. E. (2007). Gene flow in *Dubautia arborea* and *D. ciliolata*: the roles of ecology and isolation by distance in maintaining species boundaries despite ongoing hybridization. *Molecular Ecology*, *16*(19), 4028–4038. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03423.x>
- Fridley, J., Grime, J., & BILTON, M. (2007). Genetic identity of interspecific neighbours mediates plant responses to competition and environmental variation in a species-rich grassland. *Journal of Ecology*, *95*, 908–915. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2007.01256.x>
- Fundación Charles Darwin. (s.f.). Restauración de Los Gemelos. Obtenido el 16 de septiembre de 2017 de

- <http://www.darwinfoundation.org/es/investigacion/sostenibilidad/restauracion-de-los-gemelos/>
- Garcia-Rossi, D., Rank, N., & Strong, D. R. (s. f.). Potential for self-defeating biological control. Variation in herbivore vulnerability among invasive *Spartina* genotypes. *Ecological Applications*, *13*, 1640–1649.
- Gaskin, J. F., Zhang, D.-Y., & Bon, M.-C. (2005). Invasion of *Lepidium draba* (Brassicaceae) in the western United States: distributions and origins of chloroplast DNA haplotypes. *Molecular Ecology*, *14*(8), 2331–2341. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02589.x>
- Genton, B. J., Shykoff, J. A., & Giraud, T. (2005). High genetic diversity in French invasive populations of common ragweed, *Ambrosia artemisiifolia*, as a result of multiple sources of introduction. *Molecular Ecology*, *14*(14), 4275–4285. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02750.x>
- Global Invasive Species Database (GISD). (2005). *Psidium guajava*. Obtenido el 10 de septiembre de 2017 de <http://www.issg.org/database/species/ecology.asp?si=211andfr=1andsts=>, last modified 4.11.06.
- Gordon, D. R. (1998). Effects of Invasive, Non-Indigenous Plant Species on Ecosystem Processes: Lessons from Florida. *Ecological Applications*, *8*(4), 975–989. [https://doi.org/10.1890/1051-0761\(1998\)008\[0975:EOINIP\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/1051-0761(1998)008[0975:EOINIP]2.0.CO;2)
- Goudet, J. & Jombart, T. (2015). Package ‘hierfstat’(Versión 0.04-22) [Software]. Obtenido el 14 de mayo 2017 de <https://cran.r-project.org/web/packages/hierfstat/index.html>
- Granda, M. & Choéz, G. (2013). Sistemas Humanos: Población y Migración en Galápagos. Informe Galápagos 2011-2012. Obtenido el 21 de septiembre 2017 de <https://www.galapagos.org/wp-content/uploads/2013/06/2013-6-HUMAN-SYS-pop-migration.leon-salazar.pdf>
- Grunwald, NJ, Kamvar, ZN y Everhart, SE. (s.f.). *Discriminant analysis of principal components (DAPC)*. Obtenido el 25 de agosto 2017 de https://grunwaldlab.github.io/Population_Genetics_in_R/DAPC.html
- Guavamap. (2008). *Improvement of guava: linkage mapping and QTL analysis as a basis for marker-assisted selection*. Obtenido el 14 de septiembre 2017 de <http://www.neiker.net/neiker/guavamap/>
- Hagenblad, J., Hülskötter, J., Acharya, K. P., Brunet, J., Chabrierie, O., Cousins, S. A. O., ... Graae, B. J. (2015). Low genetic diversity despite multiple introductions of the invasive plant species *Impatiens glandulifera* in Europe. *BMC Genetics*, *16*. <https://doi.org/10.1186/s12863-015-0242-8>
- Hamrick, J. L., & Godt, M.J.W. Effects of life history traits on genetic diversity in plant species. En Silvertown J., Franco, M., Harper, J.L. (Eds.), *Plant life histories – ecology, phylogeny and evolution* (pp. 102–118). Cambridge, Reino Unido: Cambridge University Press.
- Hedrick, P. W. (2011). *Genetics Of Populations*. Boston, Estados Unidos: Jones & Bartlett Publishers.
- Heleno, R., Blake, S., Jaramillo, P., Traveset, A., Vargas, P., & Nogales, M. (2011). Frugivory and seed dispersal in the Galápagos: what is the state of the art? *Integrative Zoology*, *6*(2), 110–129. <https://doi.org/10.1111/j.1749-4877.2011.00236.x>

- Herrera, X. M. (2013). *Posibles dispersores de Psidium guajava en la Isla San Cristóbal, Galápagos – Ecuador*. Disertación (Tesis de grado presentada como requisito para la obtención del título de Licenciada en Ecología Aplicada y Manejo de Recursos Naturales), Universidad San Francisco de Quito, Ecuador.
- Heywood, V. H. (1979). The future of island floras. En D. Bramwell (Ed.) *Plants and Islands* (pp. 431–441). Academic Press, London.
- Hickman C., Larson, A., Eisenhour, D. J., & Anson, H. (2008). *Principios integrales de Zoología* (14ta ed.). Madrid, España: McGraw Hill.
- Holderegger, R., Kamm, U., & Gugerli, F. (2006). Adaptive vs. neutral genetic diversity: implications for landscape genetics. *Landscape Ecology*, 21(6), 797–807. <https://doi.org/10.1007/s10980-005-5245-9>
- Hollingsworth, J. (2013). Living Galapagos: Invasión. Obtenido el 6 de noviembre 2017 de <http://livinggalapagos.org/es/article/invasion/#chapter18>
- Houliston, G., & Goeke, D. (2017). *Cortaderia spp.* In New Zealand: Patterns of genetic variation in two widespread invasive species. *New Zealand Journal of Ecology*, 41, 107–112. <https://doi.org/10.20417/nzjecol.41.13>
- Huenneke, L. F., & Vitousek, P. M. (1990). Seedling and clonal recruitment of the invasive tree *Psidium cattleianum*: Implications for management of native Hawaiian forests. *Biological Conservation*, 53(3), 199–211. [https://doi.org/10.1016/0006-3207\(90\)90086-5](https://doi.org/10.1016/0006-3207(90)90086-5)
- Hufbauer, R. A., & Via, S. (1999). Evolution of an Aphid-Parasitoid Interaction: Variation in Resistance to Parasitism among Aphid Populations Specialized on Different Plants. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 53(5), 1435–1445. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1999.tb05408.x>
- Hughes, A. R., Inouye, B. D., Johnson, M. T. J., Underwood, N., & Vellend, M. (2008). Ecological consequences of genetic diversity. *Ecology Letters*, 11(6), 609–623. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2008.01179.x>
- Huxel, G. R. (1999). Rapid displacement of native species by invasive species: effects of hybridization. *Biological Conservation*, 89(2), 143–152. [https://doi.org/10.1016/S0006-3207\(98\)00153-0](https://doi.org/10.1016/S0006-3207(98)00153-0)
- International Union for Conservation of Nature and Natural Resources (IUCN). (1996). *The Red List of Threatened Species*. IUCN.
- Island Conservation. (2016). *Most Island Species Facing Extinction Can Be Saved*. Obtenido el 5 de septiembre 2017 de <https://www.islandconservation.org/island-species-facing-extinction-can-saved/>
- Jäger, H., Tye, A., & Kowarik, I. (2007). Tree invasion in naturally treeless environments: Impacts of quinine (*Cinchona pubescens*) trees on native vegetation in Galápagos. *Biological Conservation*, 140. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2007.08.014>
- Jakobsson, M., & Rosenberg, N. A. (2007). CLUMPP: a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 23(14), 1801–1806. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm233>
- Jombart, T. (2015). *An introduction to adegenet 2.0.0*. Obtenido el 30 de agosto 2017 de <http://adegenet.r-forge.r-project.org/files/tutorial-basics.pdf>

- Jombart, T. & Collins, C. (2015). *A tutorial for Discriminant Analysis of Principal Components (DAPC) using adegenet 2.0.0*. Obtenido el 25 de agosto 2017 de <http://adegenet.r-forge.r-project.org/files/tutorial-dapc.pdf>
- Jombart, T. et al. (2016). Package ‘adegenet’ (Versión 2.0.1) [Software]. Obtenido el 6 de mayo 2017 de <https://cran.r-project.org/web/packages/adegenet/adegenet.pdf>
- Johnson, G. (1979). Increasing the resolution of polyacrylamide gel electrophoresis by varying the degree of gel crosslinking. *Biochemical Genetics*, *17*(5–6), 499–516. <https://doi.org/10.1007/BF00498886>
- Jump, A. S., Marchant, R., & Peñuelas, J. (2009). Environmental change and the option value of genetic diversity. *Trends in Plant Science*, *14*(1), 51–58. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.10.002>
- Kalinowski, S. T. (2005). HP-RARE 1.0: A computer program for performing rarefacción on measures of allelic richness. *Molecular Ecology Notes*, *5*, 187–189. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00845.x>
- Kane, N. C., King, M. G., Barker, M. S., Raduski, A., Karrenberg, S., Yatabe, Y., ... Rieseberg, L. H. (2009). Comparative genomic and population genetic analyses indicate highly porous genomes and high levels of gene flow between divergent *Helianthus* species. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, *63*(8), 2061–2075. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2009.00703.x>
- Kanupriya, Latha, P. M., Aswath, C., Reddy D C, L., Bommisetty, P., Vasugi, C., & DINESH, M. R. (2011). Cultivar Identification and Genetic Fingerprinting of Guava (*Psidium guajava*) Using Microsatellite Markers. *International Journal of Fruit Science*, *11*, 184–196. <https://doi.org/10.1080/15538362.2011.578521>
- Keenan, K. (2017). Package ‘diveRsity’(Versión 0.04-22) [Software]. Obtenido el 16 de mayo 2017 de <https://cran.r-project.org/web/packages/diveRsity/diveRsity.pdf>
- Kirk, H., & Freeland, J. R. (2011). Applications and Implications of Neutral versus Non-neutral Markers in Molecular Ecology. *International Journal of Molecular Sciences*, *12*(6), 3966–3988. <https://doi.org/10.3390/ijms12063966>
- Kricher, J. C. (2006). *Galápagos: A Natural History*. Princeton, Estados Unidos: Princeton University Press.
- Latorre, O. (2002). Manuel J. Cobos, su vida y su obra. Fundación Charles Darwin para las Islas Galápagos
- Le Roux, J., Wiczorek, A., & Meyer, J.-Y. (2008). Genetic diversity and structure of the invasive tree *Miconia calvescens* in Pacific islands. *Diversity and Distributions*, *14*, 935–948. <https://doi.org/10.1111/j.1472-4642.2008.00504.x>
- Levin, D. A., Francisco-Ortega, J., & Jansen, R. K. (1996). Hybridization and the Extinction of Rare Plant Species. *Conservation Biology*, *10*(1), 10–16.
- Linnaeus, C. (1753). *Species Plantarum* 1: 470. “Guajava”.
- Loeschcke, V., Tomiuk, J., & Jain, S. K. (1994). *Conservation Genetics [symposium on Conservation Genetics Held in May 1993, Aarhus, Denmark]*. Aarhus, Dinamarca: Springer Science & Business Media.
- Loh, C. S., & Rao, A. N. (1989). Clonal propagation of guava (*Psidium guajava* L.) from seedlings and grafted plants and adventitious shoot formation in vitro. *Scientia Horticulturae*, *39*(1), 31–39. [https://doi.org/10.1016/0304-4238\(89\)90035-6](https://doi.org/10.1016/0304-4238(89)90035-6)

- Lowe, A., Harris, S., & Ashton, P. (2009). *Ecological Genetics: Design, Analysis, and Application*. Oxford, Reino Unido: John Wiley & Sons.
- Luckau, T. K. (2013). *Luckau Protocols: Scoring*. Obtenido el 10 de diciembre 2016 de https://openwetware.org/wiki/Luckau_Protocols:Scoring
- Lundh, J. P. (2006). The farm area and cultivated plants on Santa Cruz, 1932-1965, with remarks on other parts of Galápagos. *Galapagos Research*, 64, 12-25.
- Lundh, J.P. (2004). *Galápagos: A Brief History*. Manuscrito no publicado. Obtenido el 20 de septiembre 2017 de <http://galapagos.to/TEXTS/LUNDH1-1.php>
- MacArthur, R., & Wilson, E. O. (1967). *The Theory of Island Biogeography* (REV-Revised). Princeton, Estados Unidos: Princeton University Press. Recuperado a partir de <http://www.jstor.org/stable/j.ctt19cc1t2>
- Maron, J.L., Vila, M.R., Bommarco, S., Elmendorf, P., & Beardsley, P. (2004). Rapid evolution of an invasive plant. *Ecological Monographs* 74: 261–280.
- Mooney, H. A., & Drake, J. A. (Eds.). (1986). *Ecology of Biological Invasions of North America and Hawaii* (Vol. 58). New York, NY: Springer New York. <https://doi.org/10.1007/978-1-4612-4988-7>
- Morgante, M., & Olivieri, A. M. (1993). PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. *The Plant Journal: For Cell and Molecular Biology*, 3(1), 175–182.
- Mueller-Dombois, D. (1975). Some Aspects of Island Ecosystem Analysis (Vol. 11, pp. 353–366). https://doi.org/10.1007/978-3-642-88533-4_23
- Nagy, A.-M., & Korpelainen, H. (2014). Population genetics of Himalayan balsam (*Impatiens glandulifera*): comparison of native and introduced populations. *Plant Ecology & Diversity*, 8, 1–5. <https://doi.org/10.1080/17550874.2013.863407>
- Nava, D. A., González-Hernández, V., Nava Jaimes, M., Hernandez-Castro, E., Vargas-Álvarez, D., Díaz-Villaseñor, G., ... Cruz-Lagunas, B. (2014). Growth Kinetics of Vegetative and Reproductive Organs of Guava (*Psidium guajava* L.) in Iguala Guerrero, Mexico. *Agricultural Sciences*, 05, 1468–1475. <https://doi.org/10.4236/as.2014.514157>
- Nicholl, D.S. 2008. *An Introduction to Genetic Engineering* (3ra ed.). Cambridge, Reino Unido: Cambridge University Press.
- Nogueira, A. M., Ferreira, A., & Ferreira, M. F. da S. (2016). Transferability of Microsatellites from *Psidium guajava* to *Eugenia*, *Myrciaria*, *Campomanesia*, and *Syzygium* Species (Myrtaceae). *Plant Molecular Biology Reporter*, 34(1), 249–256. <https://doi.org/10.1007/s11105-015-0921-7>
- Novak, S.J. & Mack, R.N. (2005). Genetic Bottlenecks in Alien Plant Species, Influence of Mating Systems and Introduction Dynamics. En Sax, D.F., Stachowicz, J.J., & Gaines, S.D. (Ed.), *Species invasions: Insights to ecology, evolution and biogeography* (pp. 201–228.). Sunderland, Estados Unidos: Sinauer.
- Paradis, E. et al. (2017a). Package ‘ape’ (Versión 4.1) [Software]. Obtenido el 6 de mayo 2017 de <https://cran.r-project.org/web/packages/ape/ape.pdf>
- Paradis, E. et al. (2017b). Package ‘pegas’ (Versión 0.10) [Software]. Obtenido el 6 de mayo 2017 de <https://cran.r-project.org/web/packages/ape/ape.pdf>
- Parker, I. M. (1997). Pollinator Limitation of *Cytisus Scoparius* (Scotch Broom), an Invasive Exotic Shrub. *Ecology*, 78(5), 1457–1470. <https://doi.org/10.2307/2266140>

- Parker, I., Rodriguez, J., & Loik, M. (2003). An Evolutionary Approach to Understanding the Biology of Invasions: Local Adaptation and General-Purpose Genotypes in the Weed *Verbascum thapsus*. *Conservation Biology*, 17. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.2003.02019.x>
- Parque Nacional Galápagos. (2007). Informe Galápagos 2006-2007. Obtenido el 13 de septiembre 2017 de http://www.darwinfoundation.org/media/filer_public/19/1b/191b1c56-7644-4294-88ac-777aefd7807b/informe_galapagos_2006-2007_spanish.pdf
- Parque Nacional Galápagos. (2012). *Aumenta el control de plantas "agresivas" no nativas en Galápagos*. Obtenido el 6 de noviembre 2017 de http://www.ecuadorinmediato.com/index.php?module=noticias&func=news_user_view&id=174762&um.
- Parque Nacional Galápagos. (2016). *Un sector en necesidad de renovación*. Obtenido el 30 de septiembre 2017 de http://www.carlospi.com/galapagospark/desarrollo_sustentable_agropecuario.html
- Perry, W., L. Feder, J., Dwyer, G., & Lodge, D. (2007). Hybrid zone dynamics and species replacement between *Orconectes* crayfishes in a northern Wisconsin Lake. *Evolution*, 55, 1153–1166. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2001.tb00635.x>
- Picó, M., & Pérez de Castro, A. (2012). *Marcadores moleculares basados en PCR: Marcadores RAPD*. Valencia, España: Universidad Politécnica de Valencia.
- Piry, S., Luikart, G., & Cornuet, J. M. (1999). BOTTLENECK: A computer program for detecting recent reductions in the effective size using allele frequency data. *J. Hered*, 90. <https://doi.org/10.1093/jhered/90.4.502>
- Ponce, M. J. (2014). *Estudio preliminar de la diversidad genética de la guayaba, Psidium guajava, en 6 localidades de la isla San Cristóbal, Ecuador*. Disertación (Tesis de grado presentada como requisito para la obtención del título de Licenciada en Biotecnología), Universidad San Francisco de Quito, Ecuador.
- Ponce, S. M. (2016). *Determinación de la diversidad genética del guayabillo (Psidium galapegeium) y comparación con la diversidad genética encontrada en la guayaba (Psidium guajava) en la Isla San Cristóbal, Galápagos, Ecuador*. Disertación (Trabajo de titulación presentado como requisito para la obtención del título de Ingeniera en Procesos Biotecnológicos), Universidad San Francisco de Quito, Ecuador.
- Powell, W., C. Machray, G., & Provan, J. (1996). Polymorphism revealed by simple sequence repeat. *Trends in Plant Science*, 1, 215–222. [https://doi.org/10.1016/1360-1385\(96\)86898-1](https://doi.org/10.1016/1360-1385(96)86898-1)
- Prentis, P. J., Wilson, J. R. U., Dormontt, E. E., Richardson, D. M., & Lowe, A. J. (2008). Adaptive evolution in invasive species. *Trends in Plant Science*, 13(6), 288–294. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.03.004>
- Primack, R. B. (2014). *Essentials of Conservation Biology*. Sunderland, Estados Unidos: Sinauer Associates, Incorporated.
- Pritchard, J. (1998). STRUCTURE (Versión 2.3.4) [Software]. Stanford University.
- Rao, V. R., & Hodgkin, T. (2002). Genetic diversity and conservation and utilization of plant genetic resources. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 68(1), 1–19. <https://doi.org/10.1023/A:1013359015812>

- Reed, D., & Frankham, R. (2001). Reed DH, Frankham R. How closely correlated are molecular and quantitative measures of genetic variation? A meta-analysis. *Evolution*, 55, 1095–1103. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2001.tb00629.x>
- Reed D.H., & Frankham R. (2002). Correlation between fitness and genetic diversity. *Conserv. Biol.* 17: 230–237.
- Reichard, S. H., & Hamilton, C. W. (1997). Predicting Invasions of Woody Plants Introduced into North America. *Conservation Biology*, 11(1), 193–203.
- Rejmánek, M., & Richardson, D. M. (1996). What Attributes Make Some Plant Species More Invasive? *Ecology*, 77(6), 1655–1661. <https://doi.org/10.2307/2265768>
- Rentería, J. L., Gardener, M. R., Panetta, F. D., Atkinson, R., & Crawley, M. J. (2012). Possible Impacts of the Invasive Plant *Rubus niveus* on the Native Vegetation of the Scalesia Forest in the Galapagos Islands. *PLOS ONE*, 7(10), e48106. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0048106>
- Reusch, T. B. H. (1998). Native predators contribute to invasion resistance to the non-indigenous bivalve *Musculista senhousia* in southern California, USA. *Marine Ecology Progress Series*, 170, 159–168. <https://doi.org/10.3354/meps170159>
- Reusch, T. B. H., Ehlers, A., Hämmerli, A., & Worm, B. (2005). Ecosystem recovery after climatic extremes enhanced by genotypic diversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(8), 2826–2831. <https://doi.org/10.1073/pnas.0500008102>
- Richardson, J. L., Brady, S. P., Wang, I. J., & Spear, S. F. (2016). Navigating the pitfalls and promise of landscape genetics. *Molecular Ecology*, 25(4), 849–863. <https://doi.org/10.1111/mec.13527>
- Rilov, G., Mant, R., Lyons, D., Bulleri, F., Benedetti-Cecchi, L., Kotta, J., ... Guy-Haim, T. (2012). How strong is the effect of invasive ecosystem engineers on the distribution patterns of local species, the local and regional biodiversity and ecosystem functions? *Environmental Evidence*, 1, 10. <https://doi.org/10.1186/2047-2382-1-10>
- Risterucci, A., Duval, M.-F., Rohde, W., & Billotte, N. (2005). Isolation and characterization of microsatellite loci from *Psidium guajava* L. *Molecular Ecology Notes*, 5, 745–748. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.01050.x>
- Rivas-Torres, G. F., Benítez, F. L., Rueda, D., Sevilla, C., & Mena, C. F. (en revision). A methodology for mapping native and invasive vegetation coverage in archipelagos: An example from the Galápagos Islands. *Progress in Physical Geography*.
- Rosenberg, N. A. (2004). distruct: a program for the graphical display of population structure. *Molecular Ecology Notes*, 4(1), 137–138. <https://doi.org/10.1046/j.1471-8286.2003.00566.x>
- Rosenthal, D. M., Ramakrishnan, A. P., & Cruzan, M. B. (2008). Evidence for multiple sources of invasion and intraspecific hybridization in *Brachypodium sylvaticum* (Hudson) Beauv. in North America. *Molecular Ecology*, 17(21), 4657–4669. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2008.03844.x>
- Roux, J. J. L., Wiczorek, A. M., Tran, C. T., & Vorsino, A. E. (2010). Disentangling the dynamics of invasive fireweed (*Senecio madagascariensis* Poir. species complex) in the Hawaiian Islands. *Biological Invasions*, 12(7), 2251–2264. <https://doi.org/10.1007/s10530-009-9635-9>

- Roux, J. J. L., Wieczorek, A. M., Wright, M. G., & Tran, C. T. (2007). Super-Genotype: Global Monoclonality Defies the Odds of Nature. *PLOS ONE*, 2(7), e590. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000590>
- RStudio Team (2015). RStudio: Integrated Development for R (Versión 3.4.2) [Software]. RStudio, Inc. Obtenido el 5 de mayo 2017 de <https://cran.r-project.org/bin/windows/base/>
- Ruiz, G. M., Rawlings, T. K., Dobbs, F. C., Drake, L. A., Mullady, T., Huq, A., & Colwell, R. R. (2000). Global spread of microorganisms by ships. *Nature*, 408(6808), 49–50. <https://doi.org/10.1038/35040695>
- Saghai-Marooif, M. A., Soliman, K. M., Jorgensen, R. A., & Allard, R. W. (1984). Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 81(24), 8014–8018.
- Sainudiin, R., Durrett, R. T., Aquadro, C. F., & Nielsen, R. (2004). Microsatellite Mutation Models. *Genetics*, 168(1), 383–395. <https://doi.org/10.1534/genetics.103.022665>
- Saitou, N., & Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4(4), 406–425. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454>
- Sakai, A., Allendorf, F., Holt, H., Lodge, D., Molofsky, J., & With, K. A. (2001). The Population Biology of Invasive Species. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 32(1), 305–332. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.32.081501.114037>
- Shaik, R. S., Zhu, X., Clements, D. R., & Weston, L. A. (2016). Understanding invasion history and predicting invasive niches using genetic sequencing technology in Australia: case studies from Cucurbitaceae and Boraginaceae. *Conservation Physiology*, 4(1). <https://doi.org/10.1093/conphys/cow030>
- 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. <https://doi.org/10.1007/s10722-014-0078-5>
- SoftGenetics LLC. (2012). Software GeneMarker® [Software]
- Somarriba, E. (1986). Effects of livestock on seed germination of guava (*Psidium guajava* L.). *Agroforestry Systems*, 4(3), 233–238. <https://doi.org/10.1007/BF02028357>
- Stuessy, T. F., Jakubowsky, G., Gomez, R. S., Pfosser, M., Schluter, P. M., Fer, T., ... Kato, H. (2006). Anagenetic evolution in island plants. *Journal of Biogeography*, 33, 1259–1265.
- Stuessy, T. F., Takayama, K., López-Sepúlveda, P., & Crawford, D. J. (2014). Interpretation of patterns of genetic variation in endemic plant species of oceanic islands. *Botanical Journal of the Linnean Society. Linnean Society of London*, 174(3), 276–288. <https://doi.org/10.1111/boj.12088>
- Sutherland, G., Harestad, A., Price, K., & Lertzman, K. (2000). Scaling of Natal Dispersal Distances in Terrestrial Birds and Mammals. *Conservation Ecology*, 4(1). <https://doi.org/10.5751/ES-00184-040116>
- Thompson, G. D., Richardson, D. M., Wilson, J. R. U., Bellstedt, D. U., & Roux, J. J. L. (2016). Genetic diversity and structure of the globally invasive tree, *Paraserianthes*

- lophantha* subspecies *lophantha*, suggest an introduction history characterised by varying propagule pressure. *Tree Genetics & Genomes*, 12(2), 27. <https://doi.org/10.1007/s11295-016-0984-0>
- Trueman, M., Standish, R., Orellana, D., & Cabrera, W. (2014). Mapping the extent and spread of multiple plant invasions can help prioritise management in Galapagos National Park. *NeoBiota*, 23, 1–16.
- Turchetto, C., Segatto, A. L. A., Beduschi, J., Bonatto, S. L., & Freitas, L. B. (2015). Genetic differentiation and hybrid identification using microsatellite markers in closely related wild species. *AoB Plants*, 7. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plv084>
- Tye, A. (2001). Invasive plant problems and requirements for weed risk assessment in the Galápagos islands. En Groves, R. H., Panetta, F. D., & Virtue, J. G. (Eds.), *Weed risk assessment* (pp. 153–175). Melbourne, Australia: CSIRO Publishing.
- Tye, A., Atkinson, R., & Carrión, V. (2007). Increase in the number of introduced plant species in Galapagos. Galapagos Report 2006-2007. Obtenido el 10 de septiembre 2017 de <https://www.galapagos.org/wp-content/uploads/2012/04/biodiv7-introduced-plants-increase.pdf>
- Valdés-Infante Herrero, J., Rodríguez, N. N., Becker, D., Velázquez, B., Sourd, D., Espinosa, G., & Rohde, W. (2007). Microsatellite characterization of guava (*Psidium guajava* L.) germplasm collection in Cuba. *Cultivos Tropicales*, 28, 61–67.
- Velasco, M. (2002). *Percepciones de la población de Galápagos sobre las especies introducidas y el Sistema de Inspección y Cuarentena para Galápagos (SICGAL)*. Parque Nacional Galápagos y Fundación Charles Darwin.
- Vitousek, P. M. (1988). Diveristy and Biological Invasions of Oceanic Islands. En E. O. Wilson (Ed.), *Biodiversity* (pp.181-189). NAP.edu
- Walsh, S. J., McCleary, A. L., Mena, C. F., Shao, Y., Tuttle, J. P., González, A., & Atkinson, R. (2008). QuickBird and Hyperion data analysis of an invasive plant species in the Galapagos Islands of Ecuador: implications for control and land use management. *Remote Sensing of Environment*, 112(5), 1927–1941.
- Weber, E. (2003). *Invasive Plant Species of the World: A Reference Guide to Environmental Weeds*. CABI Pub.
- Weir, B.S. & Cockerham, C.C. (1984). Estimating F-Statistics for the Analysis of Population Structure. *Evolution*, 38(6), 1358-1370.
- Whickham, W. & Chang, W. (2017). Package ‘ggplot2’ (Versión 2.2.1) [Software]. Obtenido el 18 de septiembre 2017 de <https://cran.r-project.org/web/packages/ggplot2/ggplot2.pdf>
- Whittaker, R. J. (1998). The human impact on islands ecosystems – the lighthouse keeper’s cat and other stories. En Whittaker, R. J & Fernández Palacios, J. M. (Eds.), *Island Biogeography: Ecology, Evolution and Conservation* (pp. 237-265). Oxford, Reino Unido: Oxford University Press.
- Wogan, P. (2009). *Magical Writing In Salasaca: Literacy And Power In Highland Ecuador*. Oxford, Reino Unido: Hachette UK.
- Woitke, M., & Dietz, H. (2002). Shifts in dominance of native and invasive plants in experimental patches of vegetation. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 5(3), 165–184. <https://doi.org/10.1078/1433-8319-00032>

- Xu, C.-Y., Tang, S., Fatemi, M., Gross, C. L., Julien, M. H., Curtis, C., & van Klinken, R. D. (2015). Population structure and genetic diversity of invasive *Phyla canescens*: implications for the evolutionary potential. *Ecosphere*, 6(9), art162. <https://doi.org/10.1890/ES14-00374.1>
- Yu, G., Smith, D. K., Zhu, H., Guan, Y., & Lam, T. T.-Y. (2017). ggtree: an r package for visualization and annotation of phylogenetic trees with their covariates and other associated data. *Methods in Ecology and Evolution*, 8(1), 28–36. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12628>
- Zhu, Y., Strassmann, J. E., & Queller, D. C. (2000). Insertions, substitutions, and the origin of microsatellites. *Genetical Research*, 76(3), 227–236.

12. TABLAS

Tabla 1. Loci microsatélites (Risterucci, et al., 2005) empleados como marcadores moleculares en este estudio, los fluoróforos que se asignaron para marcar los amplicones de cada locus, y la temperatura de annealing con la se amplificó óptimamente cada locus. Asimismo, se indica para cada locus el número de alelos encontrados en la población estudiada de *P. guajava* de la isla Santa Cruz y el rango de los tamaños de estos alelos en pares de bases (pb).

Locus	Fluoróforos asignados	Temp. Annealing¹	No. Alelos	Rango tamaño de alelos encontrado²
mPgCIR05	VIC	55°C	5	256-266
mPgCIR07	VIC	55°C	4	150-164
mPgCIR08	PET	55°C	3	232-248
mPgCIR09	6FAM	55°C	4	170-178
mPgCIR10	VIC	55°C	4	284-324
mPgCIR11	NED	55°C	2	318-320
mPgCIR13	PET	55°C	1	263
mPgCIR17	NED	55°C	5	246-260
mPgCIR18	PET	55°C	2	202-204
mPgCIR21	NED	55°C	3	164-168
mPgCIR22	NED	55°C	1	284
mPgCIR25	NED	54°C	1	136
mPgCIR26	PET	53°C	1	192

¹: Estas temperaturas de annealing, corresponden a las reacciones de PCR en las que el primer *forward* está modificado con la cola universal (ver Blackett, MJ et al, 2012) y donde se añade el oligonucleótido marcado con fluoróforo.

²: Estos tamaños de alelos incluyen los 15 pb que tiene la cola universal.

Tabla 2. Indicadores de diversidad genética para las 8 subpoblaciones de *P. guajava* definidas en la isla Santa Cruz. Para cada subpoblación, se indica el número de individuos muestreados (N), el número de alelos, el número de alelos corregidos por rarefacción, el número de alelos privados, el número de alelos privados corregidos por rarefacción, la heterocigosidad observada (H.obs) y la heterocigosidad esperada (H.esp). También se indican las localidades muestreadas que quedaron incluidas dentro de cada subpoblación.

Subpoblación	Localidades abarcadas	N	No. Alelos	No. Alelos (Rarefacción) ₁	No. Alelos privados	No. Alelos privados (Rarefacción) ¹	H. obs	H. esp
Parte alta – suroeste (PASO)	Chato Primicias Caseta Manzanillo	18	24	22	4	2	0,154	0,437
Área de Santa Rosa (ASR)	Santa Rosa Pájaro Brujo	9	22	22	1	1	0,333	0,405
Salasaca (SA)	Salasaca	4	20	20	0	0	0,333	0,403
Parte alta – sur centro (PASC)	Occidente Los Guayabillos Tomás de B. El Aguacatal Bellavista	22	19	19	0	0	0,152	0,407
Parte alta – centro de la isla (PACI)	Elías Cando Media Luna	7	21	21	1	1	0,270	0,456
Parte alta - noreste (PANE)	Camote Cerro Mesa	10	23	22	2	2	0,256	0,413
Cascajo y El Garrapatero (CASGAP)	Cascajo El Garrapatero	6	20	20	1	1	0,074	0,366
Territorio del PNG (TPNG)	Los Gemelos Granillo Rojo	4	19	19	0	0	0,278	0,361

¹: Valores corregidos por la técnica estadística de Rarefacción para compensar la disparidad en el tamaño de la muestra de cada subpoblación (N). Aquí, se asumió que en todas las subpoblaciones se muestrearon 10 individuos. Para No. de Alelos los valores fueron redondeados.

Tabla 3. Sesgo relativo medio y RMSE (raíz del error cuadrado medio) de la media y la mediana de las distribuciones posteriores de los tiempos de divergencia (t1, t2 y t3) del escenario 3 (el de la probabilidad posterior más alta).

Parámetro	Sesgo relativo medio		RMSE	
	Media	Mediana	Media	Mediana
t1	2,304	1,387	3,318	2,215
t2	1,468	1,273	2,794	2,496
t3	0,470	0,503	1,069	1,084

Tabla 4. Genotipado del individuo HBGe1 para los 13 loci microsatellites considerados en este estudio. Asimismo se indica para cada locus el número de alelos diferentes encontrados en éste individuo, y el número de alelos que coinciden entre éste individuo y la población de *P. guajava* de la isla Santa Cruz (tolerando diferencias de 2 pb entre los alelos de HBGe1 y los de la población de *P. guajava*). Se asumió que HBGe1 era tetraploide basado en el hallazgo de 4 alelos en algunos loci.

Locus	Genotipado de HBGe1	No. de alelos	No. de alelos que coinciden con <i>P. guajava</i> (S. Cruz)
mPgCIR05	208/220/232/264	4	1
mPgCIR07 ¹	158/160/162/x	3	2
mPgCIR08 ²	234/234/234/234	1	1
mPgCIR09	No amplificó	0	-
mPgCIR10 ¹	286/362/364/x	3	1
mPgCIR11 ²	328/328/328/328	1	0
mPgCIR13 ³	227/231/227/231	2	0
mPgCIR17	240/244/256/268	4	2
mPgCIR18 ¹	192/216/226/x	3	0
mPgCIR21	134/136/164/166	4	2
mPgCIR22 ³	280/282/280/282	2	1
mPgCIR25 ¹	114/116/122/x	3	0
mPgCIR26 ³	204/212/204/212	2	0
TOTAL		32	10

¹: En estos loci se reportaron 3 alelos, de modo que permanece uno desconocido (x) considerando la tetraploidía de este individuo

²: En estos loci se reportó solo 1 alelo. Aquí se asumió que el mismo alelo estaría presente en las cuatro copias del locus.

³: En estos loci se reportaron 2 alelos. Aquí se asumió que ambos alelos tendrían dos copias cada uno considerando la tetraploidía del individuo.

Tabla 5. Genotipado del individuo Psp_SCZ_02 para los 13 loci microsatélites considerados en este estudio. Asimismo se indica para cada locus el número de alelos diferentes encontrados en este individuo, y el número de alelos que coinciden entre este individuo y la población de *P. guajava* de la isla Santa Cruz (tolerando diferencias de 2 pb entre los alelos de Psp_SCZ_02 y los de la población de *P. guajava*). Se asumió que Psp_SCZ_02 era tetraploide basado en el hallazgo de 4 alelos en algunos loci.

Locus	Genotipado de Psp_SCZ_02	No. de alelos	No. de alelos que coinciden con <i>P. guajava</i> (S. Cruz)
mPgCIR05 ¹	208/220/232/x	3	0
mPgCIR07 ³	158/158/162/162	2	2
mPgCIR08	No amplificó	0	-
mPgCIR09 ²	182/182/182/182	1	0
mPgCIR10 ²	272/272/272/272	1	0
mPgCIR11 ²	326/326/326/326	1	0
mPgCIR13 ³	227/227/231/231	2	0
mPgCIR17 ¹	240/256/268/x	3	1
mPgCIR18 ¹	192/216/224/x	3	0
mPgCIR21 ³	134/134/136/136	2	0
mPgCIR22 ²	98/98/98/98	1	0
mPgCIR25 ¹	112/114/122/x	3	0
mPgCIR26 ³	204/204/212/212	2	0
TOTAL		24	3

¹: En estos loci se reportaron 3 alelos, de modo que permanece uno desconocido (x) considerando la tetraploidía de este individuo

²: En estos loci se reportó solo 1 alelo. Aquí se asumió que el mismo alelo estaría presente en las cuatro copias del locus.

³: En estos loci se reportaron 2 alelos. Aquí se asumió que ambos alelos tendrían dos copias cada uno considerando la tetraploidía del individuo.

Tabla 6. Indicadores de diversidad genética de *P. guajava* para las 20 localidades muestreadas en la isla Santa Cruz. Se indican para cada localidad el número de individuos muestreados por localidad (N), el número de alelos encontrados, el número de alelos privados, la heterocigosidad observada (H. obs), la heterocigosidad esperada (H. esp).

Localidad	N	No. Alelos	No. Alelos privados	H. obs	H. esp
Bellavista	5	18	0	0,156	0,429
Camote	5	20	1	0,222	0,373
Cascajo	5	17	0	0,089	0,327
Cerro Mesa	5	20	1	0,289	0,398
El Garrapatero	1	9	1	0	N/A
Los Gemelos	1	9	0	0	N/A
Granillo Rojo	3	19	0	0,370	0,407
Media Luna	4	16	0	0,194	0,323
Primicias	5	22	1	0,178	0,496
Salasaca	4	20	0	0,333	0,403
Tomás de Berlanga	4	18	0	0,222	0,410
El Aguacatal	3	12	0	0,111	0,154
Chato	4	19	1	0,139	0,333
Elías Cando	3	20	1	0,370	0,420
Los Guayabillos	5	17	0	0,178	0,289
Caseta	4	16	0	0,083	0,274
Manzanillo	5	19	1	0,200	0,367
Occidente	5	18	0	0,089	0,329
Pájaro Brujo	4	17	0	0,167	0,288
Santa Rosa	5	22	1	0,467	0,453

Tabla 7. Indicadores de diversidad genética para las poblaciones muestreadas de *P. guajava* de las islas Santa Cruz y San Cristóbal. Para cada isla, se indica el número de individuos muestreados (N), el número de alelos, el número de alelos corregidos por rarefacción, el número de alelos privados, el número de alelos privados corregidos por rarefacción, la heterocigosidad observada (H.obs) y la heterocigosidad esperada (H.esp).

Isla	N	No. Alelos	Riqueza Alélica (Rarefacción) ¹	No. Alelos privados	No. Alelos privados (Rarefacción) ¹	H. obs	H. esp
Santa Cruz	80	32	32	14	14	0,206	0,444
San Cristóbal	94	22	22	4	4	0,248	0,352

¹: Valores corregidos por la técnica estadística de Rarefacción para compensar la disparidad en el tamaño de la muestra de cada isla (N). Aquí, se asumió que en todas las subpoblaciones se muestrearon 80 individuos. Para No. de Alelos los valores fueron redondeados.

Tabla 8. Valores de *Pairwise* F_{ST} para todos los pares de subpoblaciones de *P. guajava* de Santa Cruz, incluyendo también a la población de San Cristóbal. SCZ=Santa Cruz.

	PASO (SCZ)	ASR (SCZ)	SA (SCZ)	PASC (SCZ)	PACI (SCZ)	PANE (SCZ)	CASGAP (SCZ)	TPNG (SCZ)
ASR (SCZ)	0,025							
SA (SCZ)	0,023	0,040						
PASC (SCZ)	0,023	0,023	0,010					
PACI (SCZ)	0,024	0,052	0,037	0,026				
PANE (SCZ)	0,042	0,053	0,039	0,023	0,019			
CASGAP (SCZ)	0,060	0,061	0,030	0,025	0,078	0,068		
TPNG (SCZ)	0,057	0,103	0,081	0,054	0,060	0,056	0,134	
San Cristóbal	0,179	0,114	0,066	0,211	0,091	0,142	0,097	0,067

Tabla 9. Valores de *Pairwise* F_{ST} entre los distintos clústers en los que las muestras de *P. guajava* de Santa Cruz (Clústers 1 y 2) y San Cristóbal (Clúster 3) fueron agrupadas de acuerdo al DAPC.

	Clúster 1	Clúster 2
Clúster 2	0,076	
Clúster 3	0,277	0,216

Tabla 10. Estadísticos y valores-p de la prueba de chi cuadrado (chi-sq) para determinar la existencia de equilibrio Hardy-Weinberg (HWE) a nivel de los 9 loci microsatélites analizados en este estudio.

	chi-sq	g.l.	valor-p
mPgCIR05	26,5	10	3,13E-03
mPgCIR07	106,3	6	Insignificante
mPgCIR08	12,9	3	4,89E-03
mPgCIR09	111,6	6	Insignificante
mPgCIR10	47,7	6	1,35E-08
mPgCIR11	48,16	1	Insignificante
mPgCIR17	108,0	10	Insignificante
mPgCIR18	27,5	1	1,55E-07
mPgCIR21	46,8	3	3,77E-10

Tabla 11. Valores-p promediados (de los 9 loci analizados) de la prueba de chi cuadrado para determinar equilibrio la existencia de HWE en las subpoblaciones muestreadas de *P. guajava* en la isla Santa Cruz y en toda la población de la isla en general.

Subpoblación	Valor-p promedio
PASO	Insignificante
ASR	0,618
SA	0,829
PASC	Insignificante
PACI	0,029
PANE	Insignificante
CASGAP	Insignificante
TPNG	0,368
Global Isla Santa Cruz	Insignificante

Tabla 12. Valores-p del test de Wilcoxon (ejecutado en BOTTLENECK) para encontrar evidencia de un cuello de botella en las poblaciones de *P. guajava* de las islas Santa Cruz y San Cristóbal siguiendo los modelos mutacionales SMM y TPM (prueba de dos colas, $\alpha=0.05$). De igual modo, se indican los valores-p correspondientes a las pruebas de una cola que señalan si el cuello de botella se debe a un exceso o a una deficiencia de heterocigosidad.

	Modelo SMM		Modelo TPM	
	Santa Cruz	San Cristóbal	Santa Cruz	San Cristóbal
Deficiencia de heterocigosidad (Prueba de una cola)	0,180	0,809	0,674	0,990
Exceso de heterocigosidad (Prueba de una cola)	0,850	0,230	0,367	0,014
Deficiencia o exceso - Cuello de botella (prueba de dos colas)	0,359	0,461	0,734	0,027

Tabla 13. Número de migrantes intercambiados por generación (Nm), entre los clústers en los que el DAPC agrupó a los individuos de *P. guajava* muestreados en Santa Cruz (Clúster 1 y 2) y San Cristóbal (Clúster 3).

	Clúster 1	Clúster 2
Clúster 2	3,039	
Clúster 3	0,653	0,907

Tabla 14. Número de migrantes intercambiados (Nm) entre las subpoblaciones de *P. guajava* de Santa Cruz (y la población de San Cristóbal) por generación.

	PASO (SCZ)	ASR (SCZ)	SA (SCZ)	PASC (SCZ)	PACI (SCZ)	PANE (SCZ)	CASGAP (SCZ)	TPNG (SCZ)
ASR (SCZ)	9,75							
SA (SCZ)	10,62	6,00						
PASC (SCZ)	10,62	10,62	24,75					
PACI (SCZ)	10,17	4,56	6,51	9,37				
PANE (SCZ)	5,70	4,47	6,16	10,62	12,91			
CASGAP (SCZ)	3,92	3,85	8,08	9,75	2,96	3,43		
TPNG (SCZ)	4,14	2,18	2,84	4,38	3,92	4,21	1,62	
San Cristóbal	1,15	1,94	3,54	0,93	2,50	1,51	2,33	3,48

13. FIGURAS



Figura 1. Bosque monoespecífico de *Psidium guajava* en la localidad de El Chato, isla Santa Cruz. También se aprecia una tortuga galápagos (*Chelonoidis porteri*). Foto de Diego Urquía (Mayo 2016)

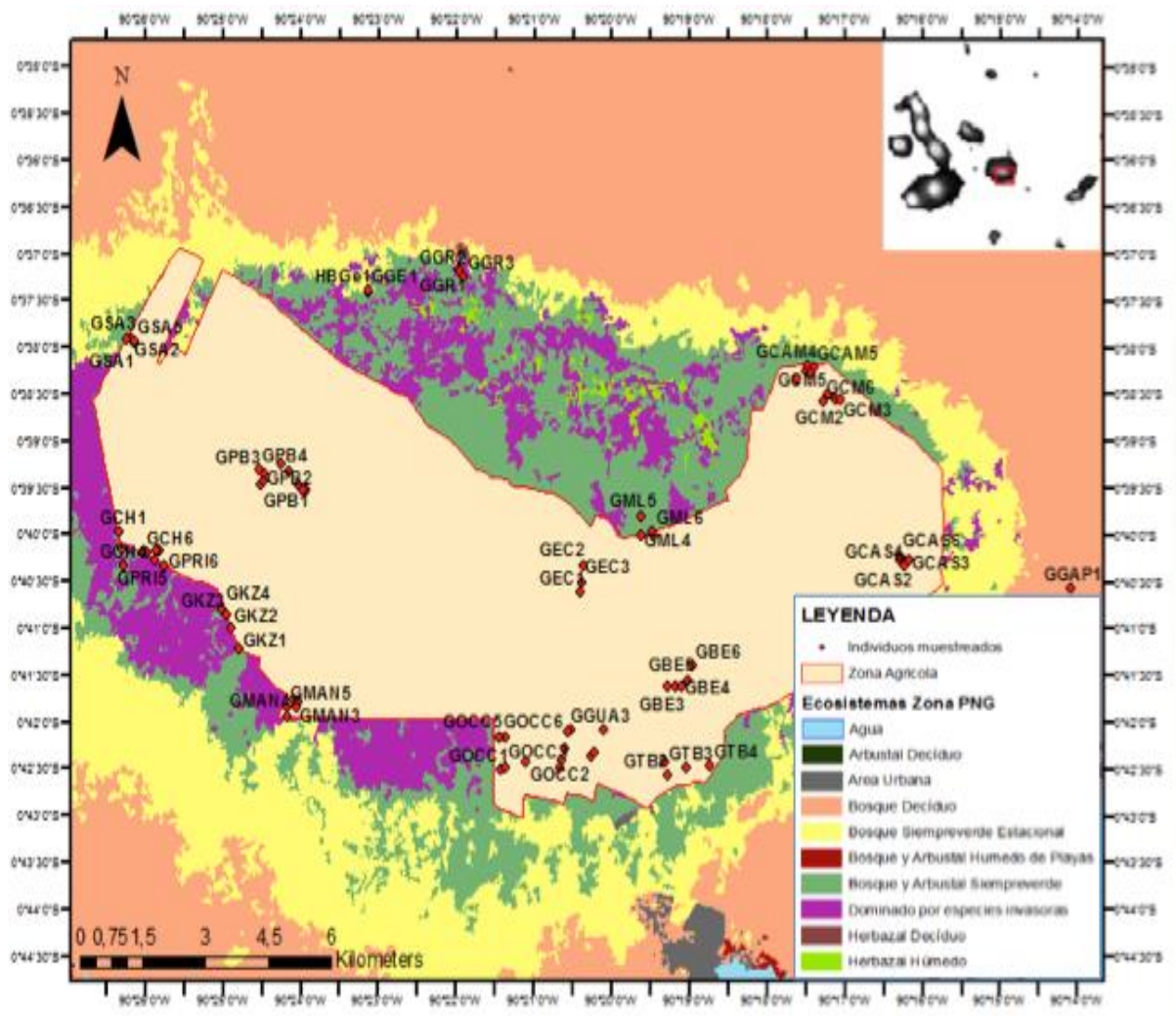


Figura 2. Mapa del área de estudio (parte alta y húmeda de la isla Santa Cruz), indicando la localización de los individuos de *P. guajava* muestreados, más el individuo HBGe1. Asimismo se indica el territorio de la zona agrícola de Santa Cruz y los ecosistemas dominantes en los territorios del Parque Nacional fuera de la zona agrícola, incluyendo aquellos dominados por especies de plantas invasoras. Modificado de Rivas-Torres, et al., en revisión.

Nota: Cada punto rojo en el mapa representa un individuo muestreado. Cada individuo a su vez está rotulado con su código, correspondiente a la localidad a la que pertenece (Anexo A). Los códigos de algunos individuos se omiten en el mapa.

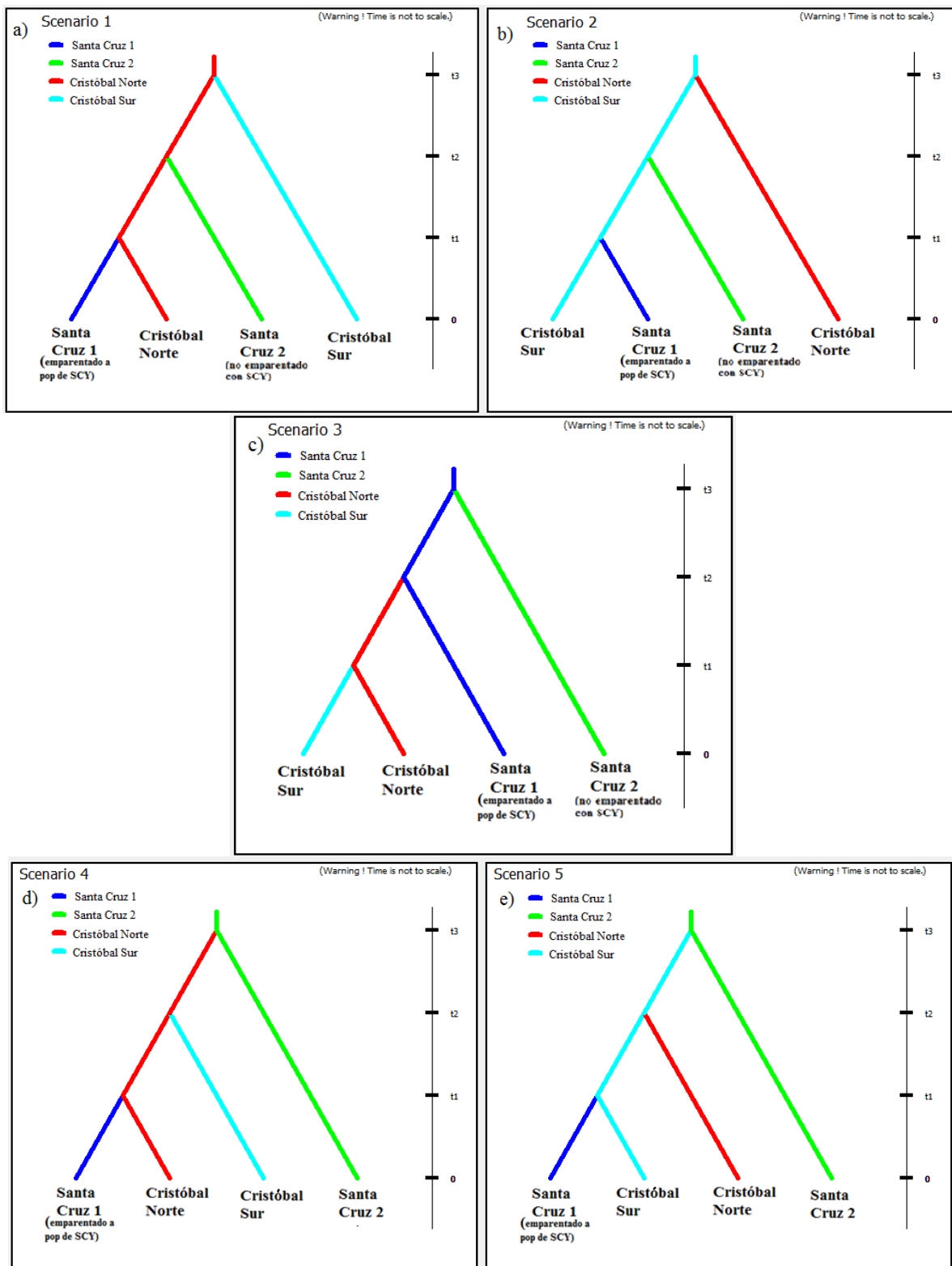


Figura 3. Ilustración de los 5 escenarios de introducción y colonización de *P. guajava* en Santa Cruz y San Cristóbal, evaluados mediante el ABC ejecutado en el software DIYABC. a) Escenario 1. b) Escenario 2. c) Escenario 3. d) Escenario 4. e) Escenario 5. Nota: Los tiempos de divergencia (0, t_1 , t_2 y t_3) no están a escala.

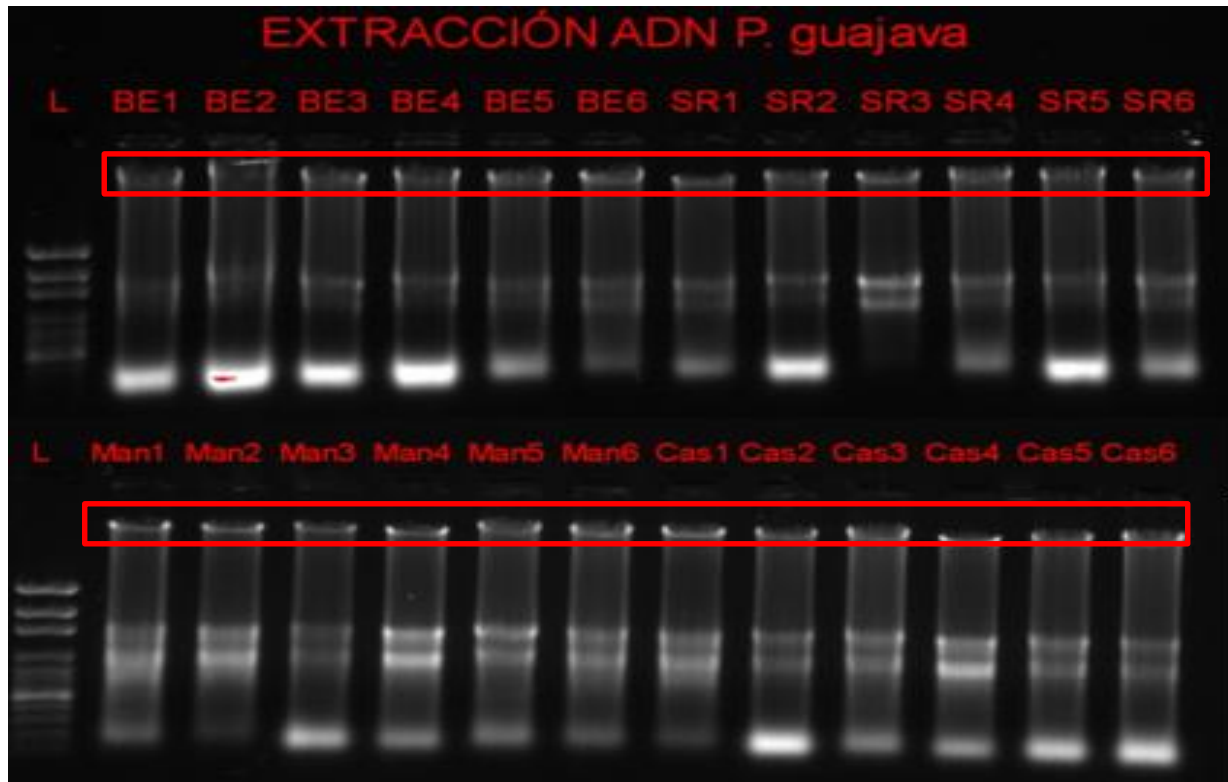


Figura 4. Visualización en electroforesis en gel de agarosa (1.5%) del ADN extraído de los individuos de *P. guajava* muestreados en las localidades de Bellavista (BE), Santa Rosa (SR), Manzanillo (Man) y Cascajo (Cas), isla Santa Cruz. Las bandas esperadas para el ADN genómico extraído se resalta en un rectángulo rojo. L= Ladder de 100 pb (Invitrogen).

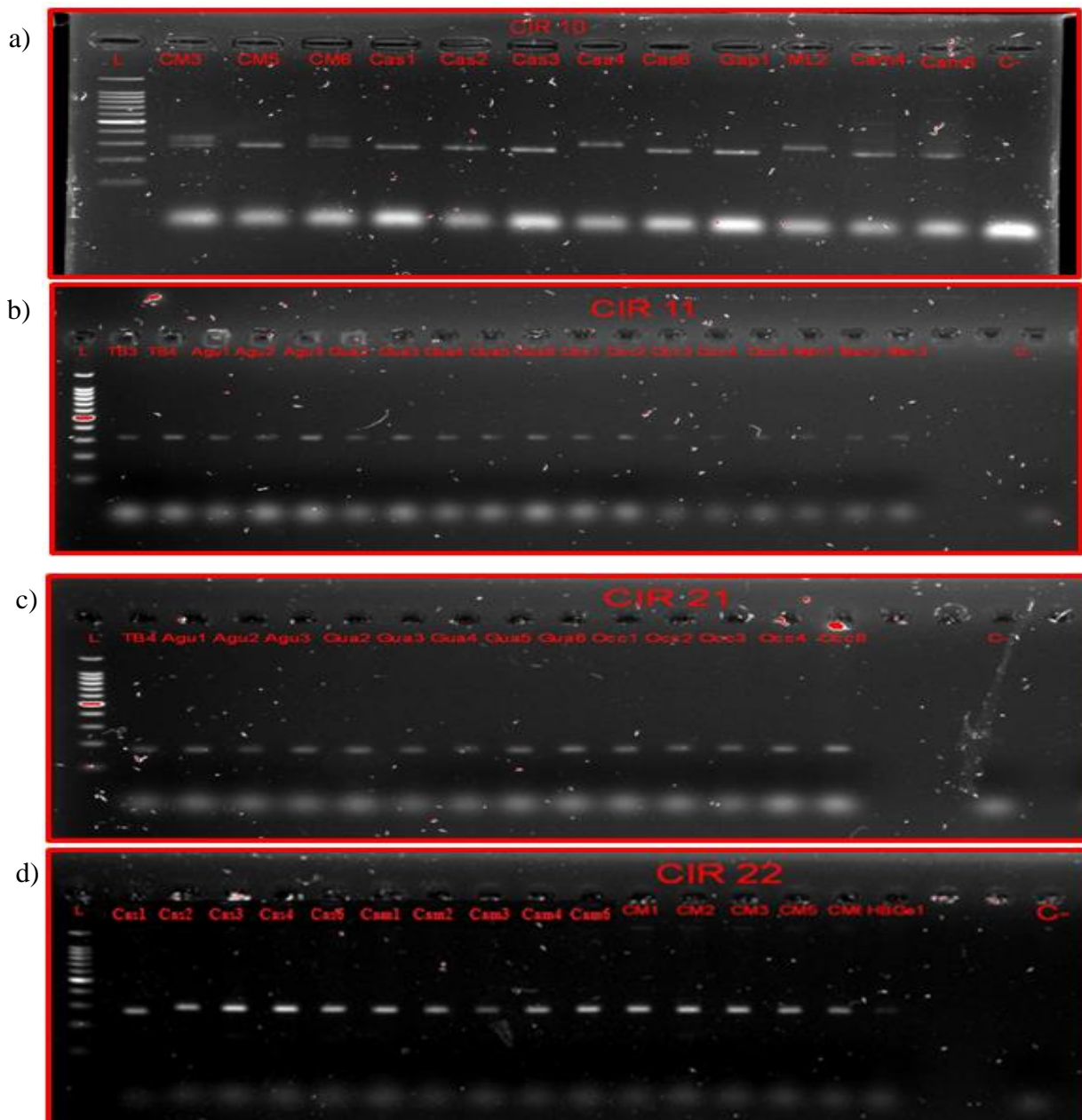


Figura 5. Electroforesis en gel de agarosa (1.5%) de los productos de la amplificación de distintos loci microsatélites a partir del ADN extraído de diversos individuos de *P. guajava* muestreados en la isla Santa Cruz. a) Amplificación del locus mPgCIR10 en muestras de las localidades de Cerro Mesa (CM), Casajo (Cas), El Garrapatero (Gap1), Media Luna (ML) y Camote (Cam). b) Amplificación del locus mPgCIR11 en muestras de las localidades de Tomás de Berlanga (TB), El Aguacatal (Agu), Los Guayabillos (Gua), Occidente (Occ) y Manzanillo (Man). c) Amplificación del locus mPgCIR21 en muestras de las localidades de Tomás de Berlanga (TB), El Aguacatal (Agu), Los Guayabillos (Gua) y Occidente (Occ). d) Amplificación del locus mPgCIR22 en muestras de las localidades de Casajo (Cas), Camote (Cam), Cerro Mesa (CM) y en el individuo HBGe1. L= Ladder de 100 pb (Invitrogen). C-=Control Negativo.

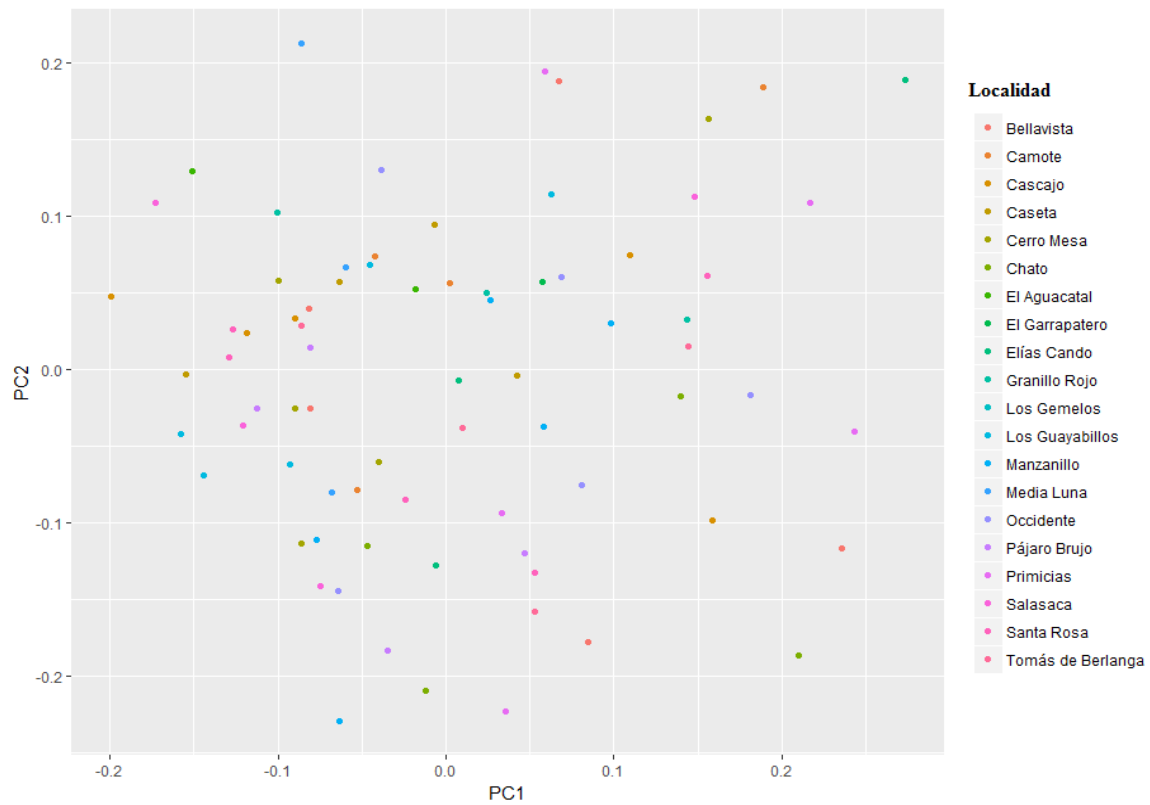


Figura 6. PCoA de los individuos de *P. guajava* muestreados en la isla Santa Cruz. Los distintos colores representan diferentes localidades.

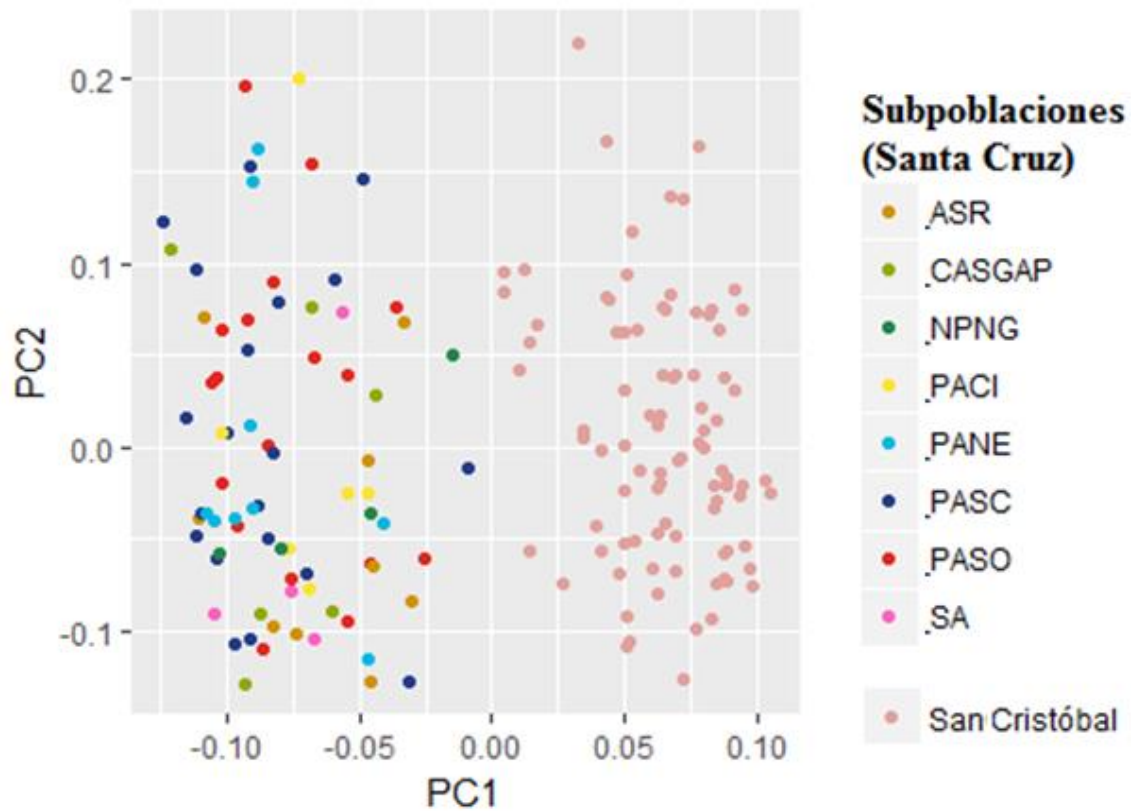


Figura 7. PCoA de los individuos de *P. guajava* muestreados en la isla Santa Cruz y en la isla San Cristóbal. Los distintos colores representan diferentes subpoblaciones de Santa Cruz (San Cristóbal en este caso se considera como una sola subpoblación).

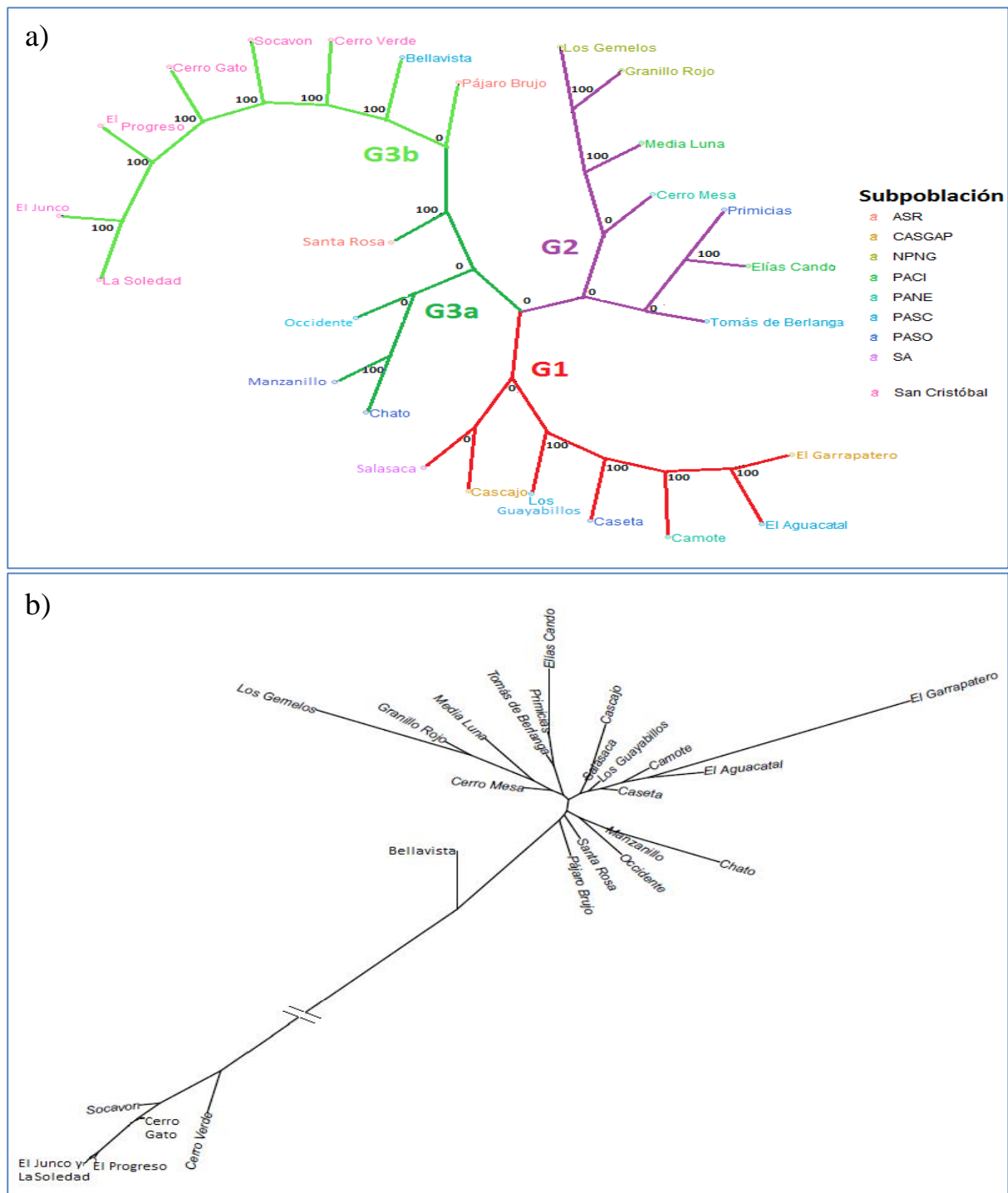


Figura 8. Dendrogramas Neighbor Joining (NJ) por localidades de muestreo de individuos de *P. guajava* en la isla Santa Cruz y San Cristóbal. a) Dendrograma NJ con las longitudes de las ramas normalizadas para visualizar agrupamientos de las localidades según las distancias genéticas promedio entre los individuos contenidos en ellas. También se indica la subpoblación de cada localidad y el bootstrap de cada nodo. Distintos colores de ramas representan distintos agrupamientos (G1, G2, G3a y G3b). b) Dendrograma NJ representando a través de la longitud de las ramas, las distancias genéticas halladas entre los individuos de las distintas localidades.

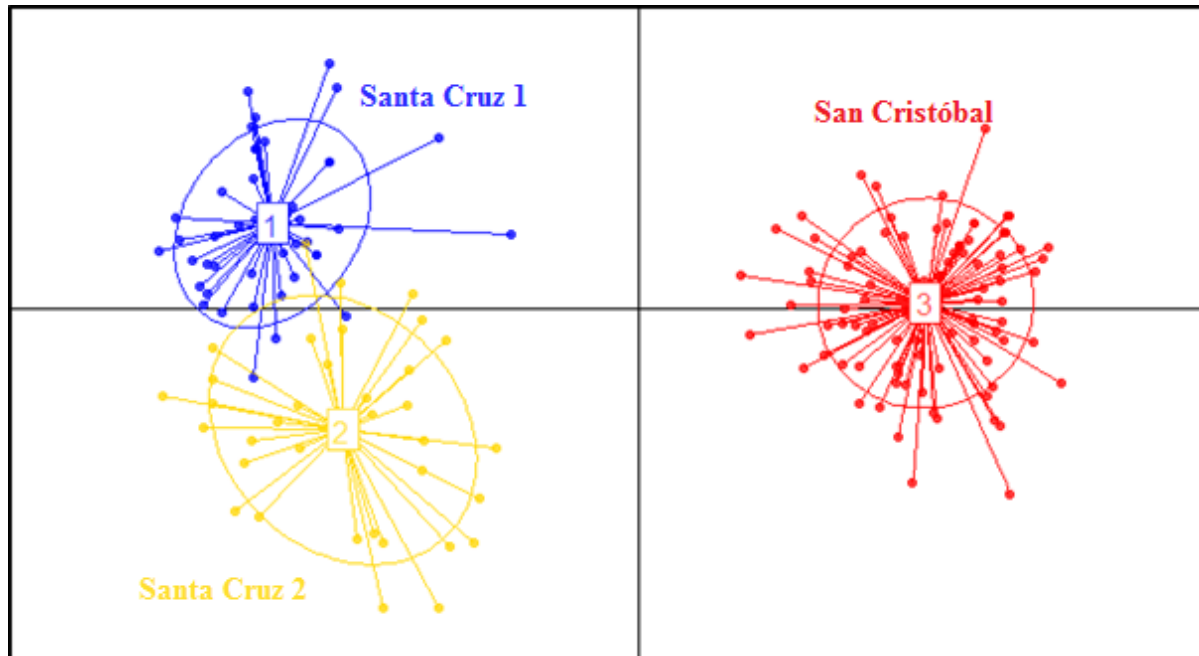


Figura 9. Ilustración de los tres clústers en los que el DAPC agrupó a los individuos de *P.guajava* muestreados en Santa Cruz (agrupaciones azul y amarilla, Clúster 1 y 2 respectivamente) y en San Cristóbal (agrupación roja, Clúster 3). Cada punto representa a un individuo, y cada elipse y color representa un clúster. Eigen-values=2

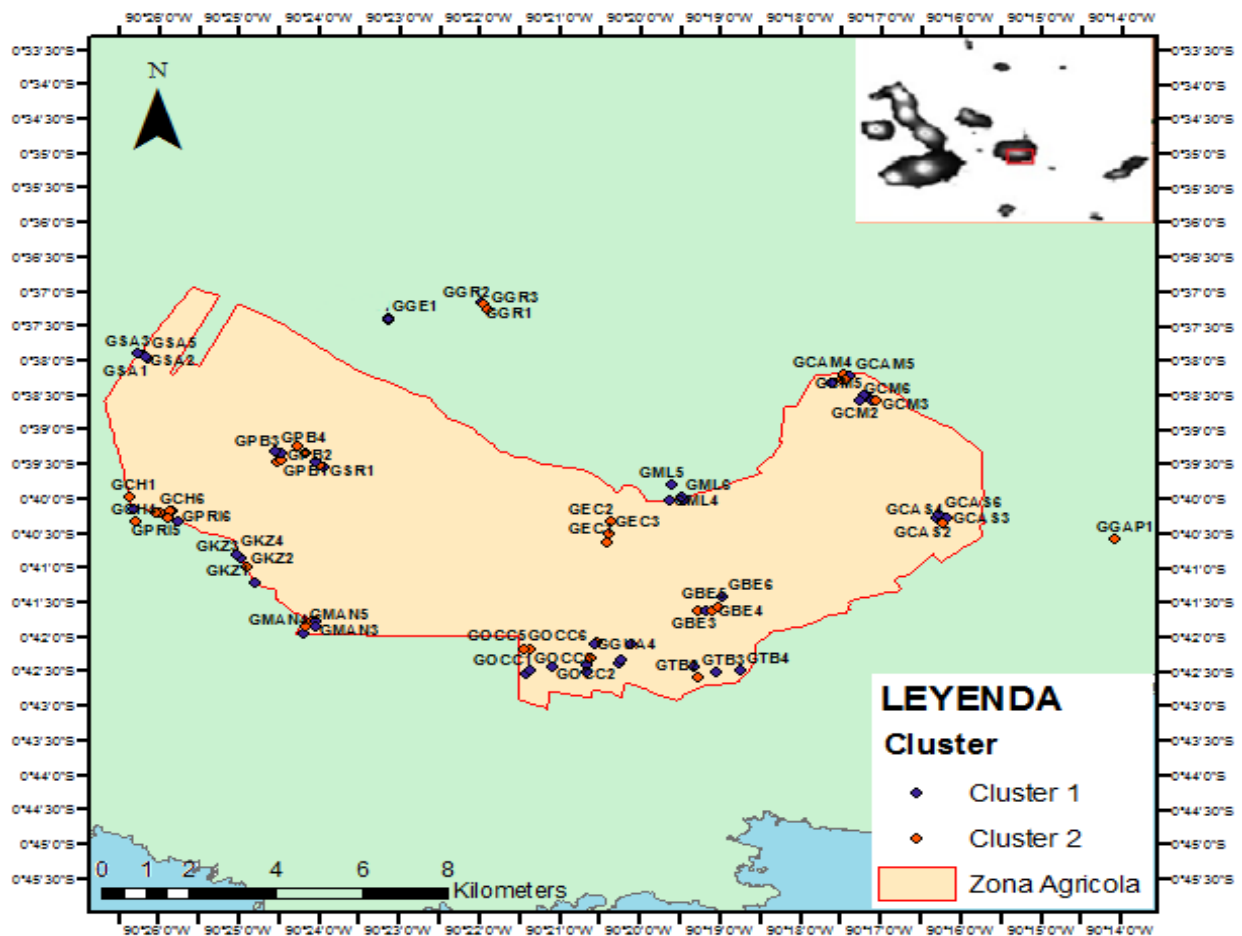


Figura 10. Mapa de los individuos de *P. guajava* muestreados en Santa Cruz clasificados según el clúster en el que el DAPC los agrupó (Azul=Clúster 1, Naranja=Clúster 2; ver sección 7.3.2.2). No se indican los individuos de San Cristóbal, todos agrupados en el Clúster 3.

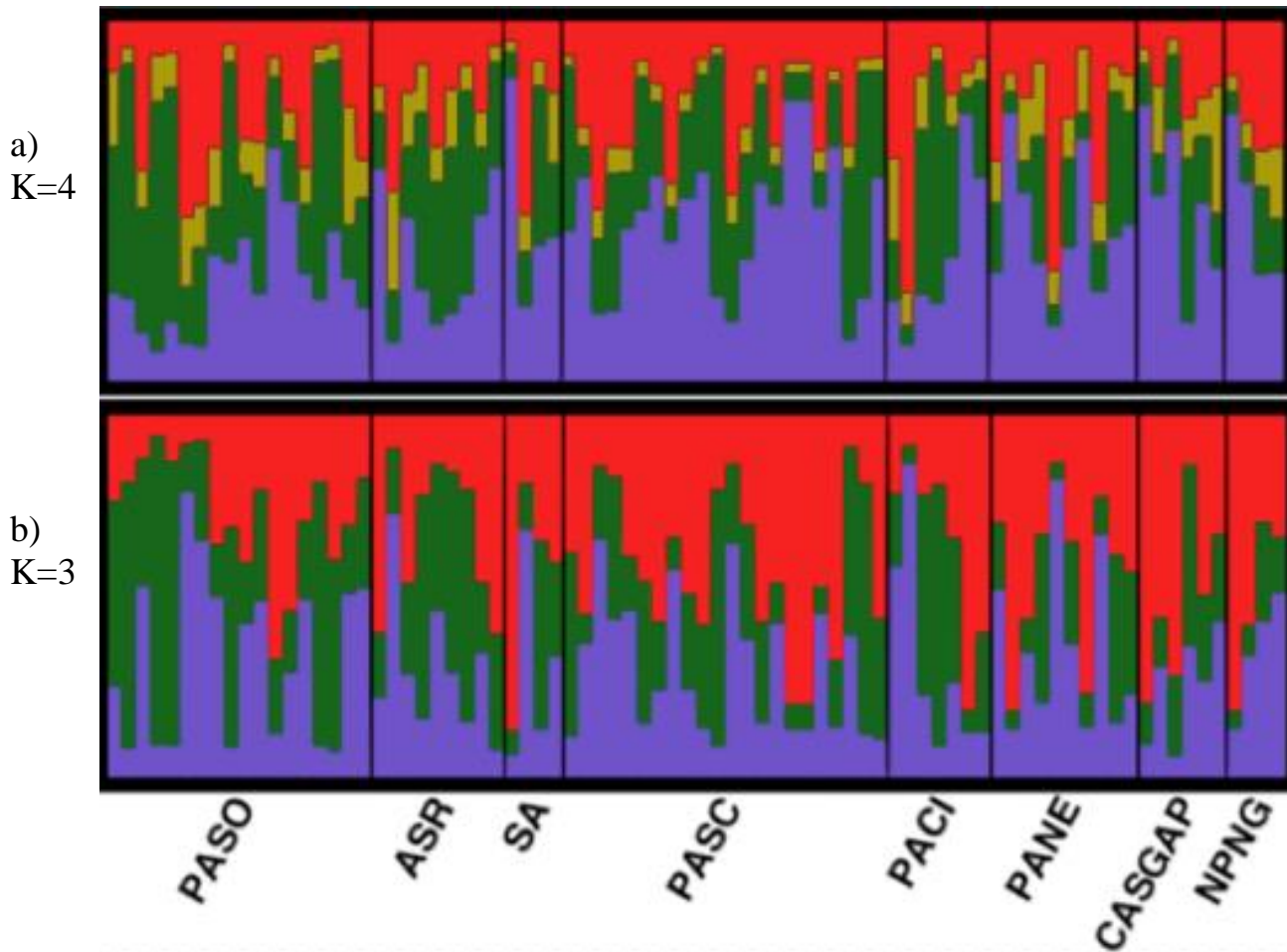


Figura 11. Resultados de STRUCTURE considerando los 80 individuos muestreados en Santa Cruz agrupados en subpoblaciones (agrupando en una sola subpoblación a todas las localidades situadas a 2 km o menos entre sí). a) Considerando el valor óptimo de $K=4$ ($\Delta K=59.52$). b) Considerando el segundo mejor valor $K=3$ ($\Delta K=31.28$). Los valores de K corresponden al número de linajes o grupos ancestrales (representados por diferentes colores).

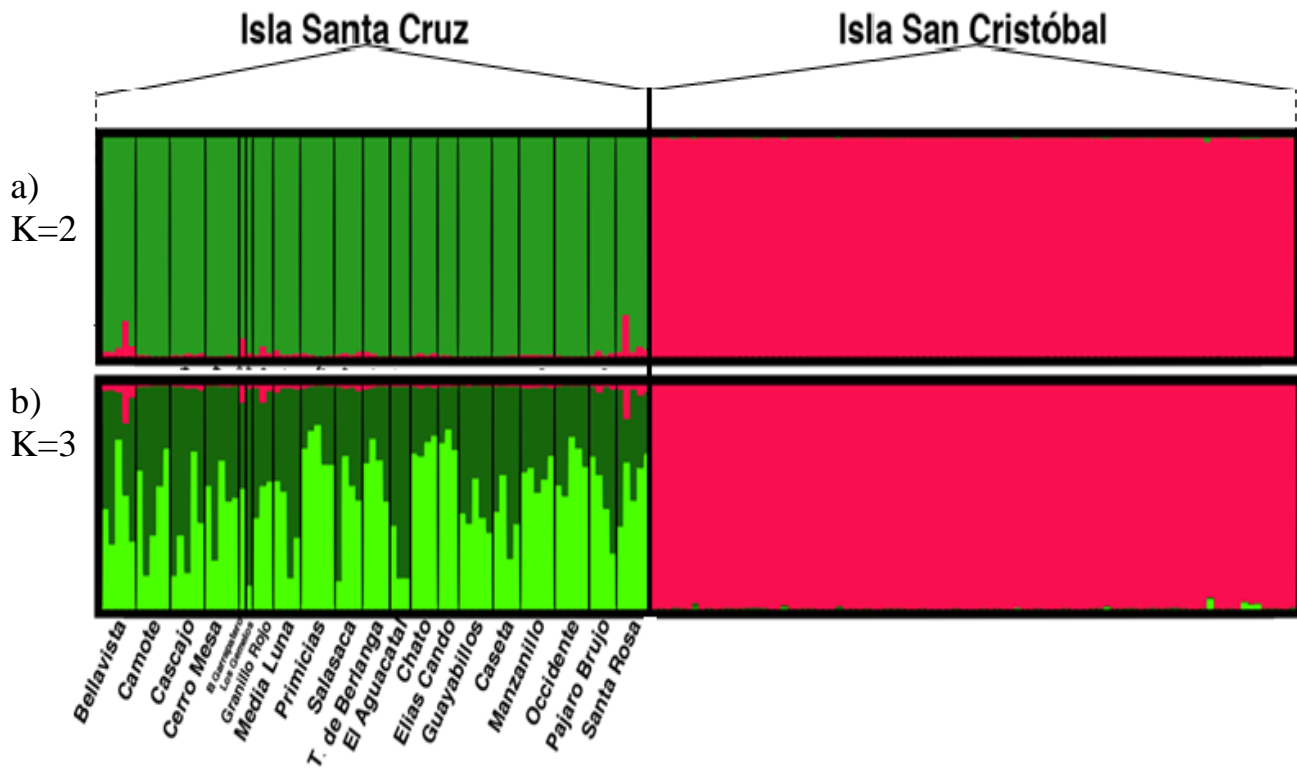


Figura 12. Resultados de STRUCTURE considerando los 80 individuos muestreados en Santa Cruz agrupados por localidades así como los 94 individuos muestreados en San Cristóbal por Ponce (2014). a) Considerando el valor óptimo de $K=2$ ($\Delta K=1419.83$). b) Considerando el segundo mejor valor $K=3$ ($\Delta K=3.44$). Los valores de k corresponden al número de linajes o grupos ancestrales (representados por diferentes colores).

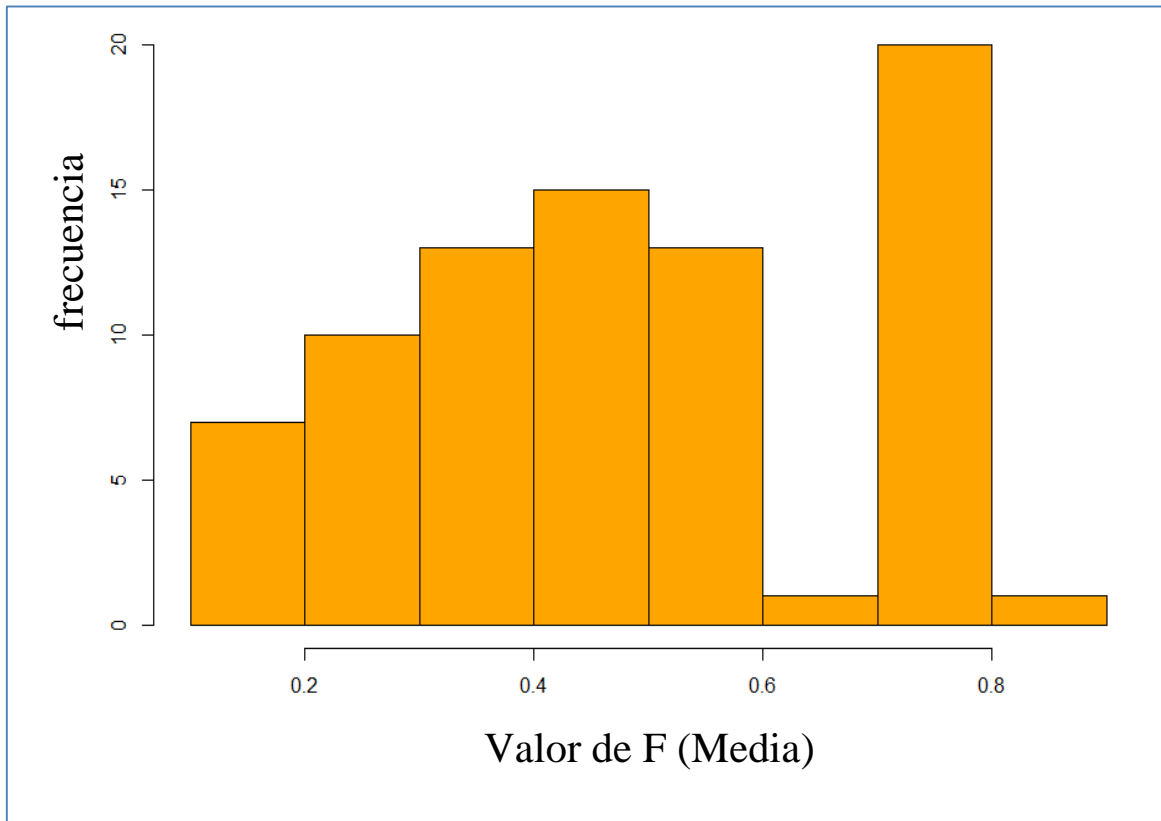


Figura 13. Frecuencia de los coeficientes de endogamia F (promedio) observados en los 80 individuos de *P. guajava* muestreados en Santa Cruz.

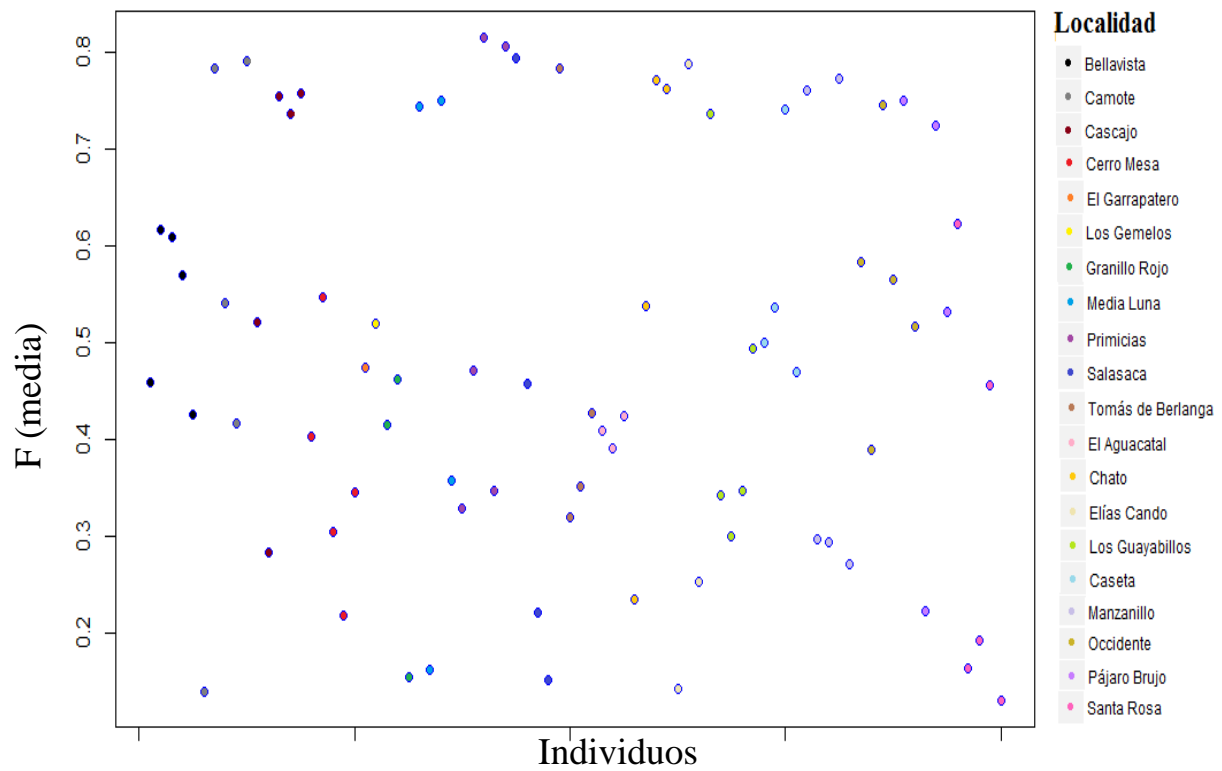


Figura 14. Gráfica de los coeficientes de endogamia F de los 80 individuos de *P. guajava* muestreados en Santa Cruz. Cada punto representa un individuo y cada color su localidad. Mientras más alto están con respecto al eje y , mayor es su coeficiente F .

14. ANEXOS

Anexo A. Localidades de cada una de las 95 muestras de *P. guajava* (más el individuo HBGe1) colectadas en las salidas de campo llevadas a cabo entre el 25 y el 29 de mayo de 2015. Asimismo, se indican las coordenadas y la altura sobre el nivel del mar de cada individuo muestreado. De igual manera, se indica la cuantificación del ADN extraído de cada muestra de acuerdo a NANODROP, y su calidad de acuerdo a cómo se lo visualizó en los geles de agarosa al 1.5% (una buena calidad se refiere a una banda claramente visible). En amarillo y verde, están resaltadas las 80 muestras de distintas localidades seleccionadas para las reacciones de PCR y posterior genotipado.

Localidad	Individuo	Coordenadas del individuo	Altura sobre el nivel del mar (msnm)	Cuantificación (ng/ μ L)	Calidad ADN (gel agarosa)
Granillo Rojo	GGR1	S 00 37.154 W 090 21.978	325	149,5	Buena
	GGR2	S 00 37.186 W 090 21.958	624	308	Buena
	GGR3	S 00 37.254 W 090 21.918	628	984,1	Buena
Los Gemelos	GGE1	S 00 37.397 W 090 23.146	621	2130,2	Buena
	HBGe1	S 00 37.389 W 090 23.148	617	821,2	Buena
Salasaca	GSA1	S 00 37.962 W 090 26.149	377	1338,2	Buena
	GSA2	S 00 37.918 W 090 26.183	376	1288,7	Buena
	GSA3	S 00 37.903 W 090 26.251	377	1526,7	Buena
	GSA4	S 00 38.016 W 090 26.334	366	80	Buena
	GSA5	S 00 37.939 W 090 26.157	378	587,1	Buena
Primicias	GPRI1	S 00 40.164 W 090 25.827	244	820,4	Buena
	GPRI2	S 00 40.177 W 090 25.867	244	874	Buena
	GPRI3	S 00 40.204 W 090 25.985	240	1105,3	Buena
	GPRI4	S 00 40.209 W 090 25.930	248	161,3	Buena
	GPRI5	S 00 40.277 W 090	246	564	Buena

		25.887			
	GPRI6	S 00 40.327 W 090 25.762	248	443,1	Buena
Camote	GCAM1	S 00 38.261 W 090 17.506	428	1086,6	Buena
	GCAM2	S 00 38.297 W 090 17.551	420	470,9	Buena
	GCAM3	S 00 38.330 W 090 17.627	422	577,5	Buena
	GCAM4	S 00 38.199 W 090 17.478	438	1115	Buena
	GCAM5	S 00 38.217 W 090 17.399	433	1270,3	Buena
	GCAM6	S 00 38.279 W 090 17.448	432	1054,1	Buena
Cerro Mesa	GCM1	S 00 38.536 W 090 17.143	496	1229,3	Buena
	GCM2	S 00 38.564 W 090 17.118	495	1768,8	Buena
	GCM3	S 00 38.559 W 090 17.069	479	2186,6	Buena
	GCM4	S 00 38.471 W 090 17.081	450	898,8	Buena
	GCM5	S 00 38.496 W 090 17.216	422	1632,3	Buena
	GCM6	S 00 38.578 W 090 17.282	431	1745,3	Buena
Cascajo	GCAS1	S 00 40.265 W 090 16.303	290	841,7	Buena
	GCAS2	S 00 40.296 W 090 16.230	283	1345,1	Buena
	GCAS3	S 00 40.273 W 090 16.182	285	854,7	Buena
	GCAS4	S 00 40.335 W 090 16.243	266	520,6	Buena
	GCAS5	S 00 40.339 W 090 16.202	267	415,7	Buena
	GCAS6	S 00 40.220 W 090 16.297	294	1180	Buena
Garrapatero	GGAP1	S 00 40.571 W 090 14.096	103	620,8	Buena
Media Luna	GML1	S 00 40.103 W 090 19.440	444	332,7	Buena
	GML2	S 00 40.011 W 090 19.460	493	569,5	Buena

	GML3	S 00 39.981 W 090 19.530	509	238,8	Buena
	GML4	S 00 40.010 W 090 19.640	520	500,8	Buena
	GML5	S 00 39.800 W 090 19.622	554	725,4	Buena
	GML6	S 00 39.968 W 090 19.484	513	856,2	Buena
	GML7	S 00 39.938 W 090 19.390	497	434,6	Buena
Bellavista	GBE1	S 00 41.625 W 090 19.282	208	835,9	Buena
	GBE2	S 00 41.588 W 090 19.239	221	268,3	Buena
	GBE3	S 00 41.625 W 090 19.193	218	873,9	Buena
	GBE4	S 00 41.618 W 090 19.105	210	629,4	Buena
	GBE5	S 00 41.556 W 090 19.034	219	1339,3	Buena
	GBE6	S 00 41.409 W 090 18.977	231	841,1	Buena
Tomás de Berlanga	GTB1	S 00 42.430 W 090 19.324	140	918,9	Buena
	GTB2	S 00 42.582 W 090 19.281	137	696,7	Buena
	GTB3	S 00 42.501 W 090 19.049	132	455,5	Buena
	GTB4	S 00 42.476 W 090 18.743	145	762,8	Buena
El Aguacatal	GAGU1	S 00 42.376 W 090 20.268	161	126,5	Buena
	GAGU2	S 00 42.326 W 090 20.235	165	1726,3	Buena
	GAGU3	S 00 42.096 W 090 20.107	156	1470,6	Buena
Los Guayabillos	GGUA1	S 00 41.973 W 090 20.536	182	470,4	Buena
	GGUA2	S 00 42.079 W 090 20.534	171	572,4	Buena
	GGUA3	S 00 42.103 W 090 20.579	161	1260,6	Buena
	GGUA4	S 00 42.287 W 090 20.609	165	565,7	Buena
	GGUA5	S 00 42.410 W 090 20.660	168	897,3	Buena

	GGUA6	S 00 42.491 W 090 20.676	143	532,5	Buena
Occidente	GOCC1	S 00 42.519 W 090 21.427	139	1336,6	Buena
	GOCC2	S 00 42.435 W 090 21.106	152	1617,2	Buena
	GOCC3	S 00 42.486 W 090 21.378	149	992,6	Buena
	GOCC4	S 00 42.325 W 090 21.386	165	574,4	Buena
	GOCC5	S 00 42.167 W 090 21.377	180	592,1	Buena
	GOCC6	S 00 42.165 W 090 21.454	175	1000,2	Buena
Manzanillo	GMAN1	S 00 41.759 W 090 24.102	174	1094,9	Buena
	GMAN2	S 00 41.780 W 090 24.050	181	811,6	Buena
	GMAN3	S 00 41.855 W 090 24.056	183	708,1	Buena
	GMAN4	S 00 41.942 W 090 24.185	176	851	Buena
	GMAN5	S 00 41.857 W 090 24.180	170	887	Buena
	GMAN6	S 00 41.813 W 090 24.162	181	620,5	Buena
Santa Rosa	GSR1	S 00 39.533 W 090 23.937	434	1298,6	Buena
	GSR2	S 00 39.467 W 090 23.896	441	797,4	Buena
	GSR3	S 00 39.522 W 090 23.987	434	1136,5	Buena
	GSR4	S 00 39.460 W 090 24.050	437	2150,2	Buena
	GSR5	S 00 39.333 W 090 24.167	428	1026,1	Buena
	GSR6	S 00 39.244 W 090 24.261	431	1072,2	Buena
Pájaro Brujo	GPB1	S 00 39.467 W 090 24.519	384	904,1	Buena
	GPB2	S 00 39.426 W 090 24.483	381	977,2	Buena
	GPB3	S 00 39.342 W 090 24.486	389	474,2	Buena
	GPB4	S 00 39.307 W 090 24.554	396	223,5	Buena

Elías Cando	GEC1	S 00 40.623 W 090 20.408	362	607,1	Buena
	GEC2	S 00 40.325 W 090 20.376	428	643,5	Buena
	GEC3	S 00 40.507 W 090 20.390	385	627,9	Buena
Chato	GCH1	S 00 39.979 W 090 26.357	215	761,9	Buena
	GCH2	S 00 40.147 W 090 26.300	215	1029,4	Buena
	GCH3	S 00 40.250 W 090 26.287	205	450,1	Buena
	GCH4	S 00 40.336 W 090 26.280	208	762,3	Buena
	GCH5	S 00 40.262 W 090 26.146	212	330,3	Buena
	GCH6	S 00 40.194 W 090 26.043	234	1108,6	Buena
Caseta	GKZ1	S 00 41.224 W 090 24.810	196	1114,9	Buena
	GKZ2	S 00 40.995 W 090 24.912	211	1106	Buena
	GKZ3	S 00 40.860 W 090 24.968	232	962,3	Buena
	GKZ4	S 00 40.795 W 090 25.031	226	2934,4	Buena

Anexo B. Secuencias de los 13 pares de primers (*forward* y *reverse*) con los que se amplificaron los loci microsatélites analizados en en este trabajo.

Locus	Primer <i>Forward</i>¹	Primer <i>Reverse</i>
mPgCIR05	GCCTTTGAACCACATC	TCAATACGAGAGGCAATA
mPgCIR07	ATGGAGGTAGGTTGATG	CGTAGTAATCGAAGAAATG
mPgCIR08	ACTTTCGGTCTCAACAAG	AGGCTTCCTACAAAAGTG
mPgCIR09	GCGTGTTCGTATTGTTTC	ATTTTCTTCTGCCTTGTC
mPgCIR10	GTTGGCTCTTATTTTGGT	GCCCCATATCTAGGAAG
mPgCIR11	TGAAAGACAACAAACGAG	TTACACCCACCTAAATAAGA
mPgCIR13	CCTTTTTCCCGACCATTACA	TCGCACTGAGATTTTGTGCT
mPgCIR17	CCTTTCGTCAATTTCACTT	CATTGGATGGTTGACAT
mPgCIR18	TAAGCTGCATGTGTGC	ATGGCTTTGGATGAAA
mPgCIR21	TGCCCTTCTAAGTATAACAG	AGCTACAAACCTTCCTAAA
mPgCIR22	CATAAGGACATTTGAGGAA	AATAAGAAAGCGAGCAGA
mPgCIR25	GACAATCCAATCTCACTTT	TGTGTCAAGCATACTTC
mPgCIR26	CTACCAAGGAGATAGCAAG	GAAATGGAGACTTTGGAG

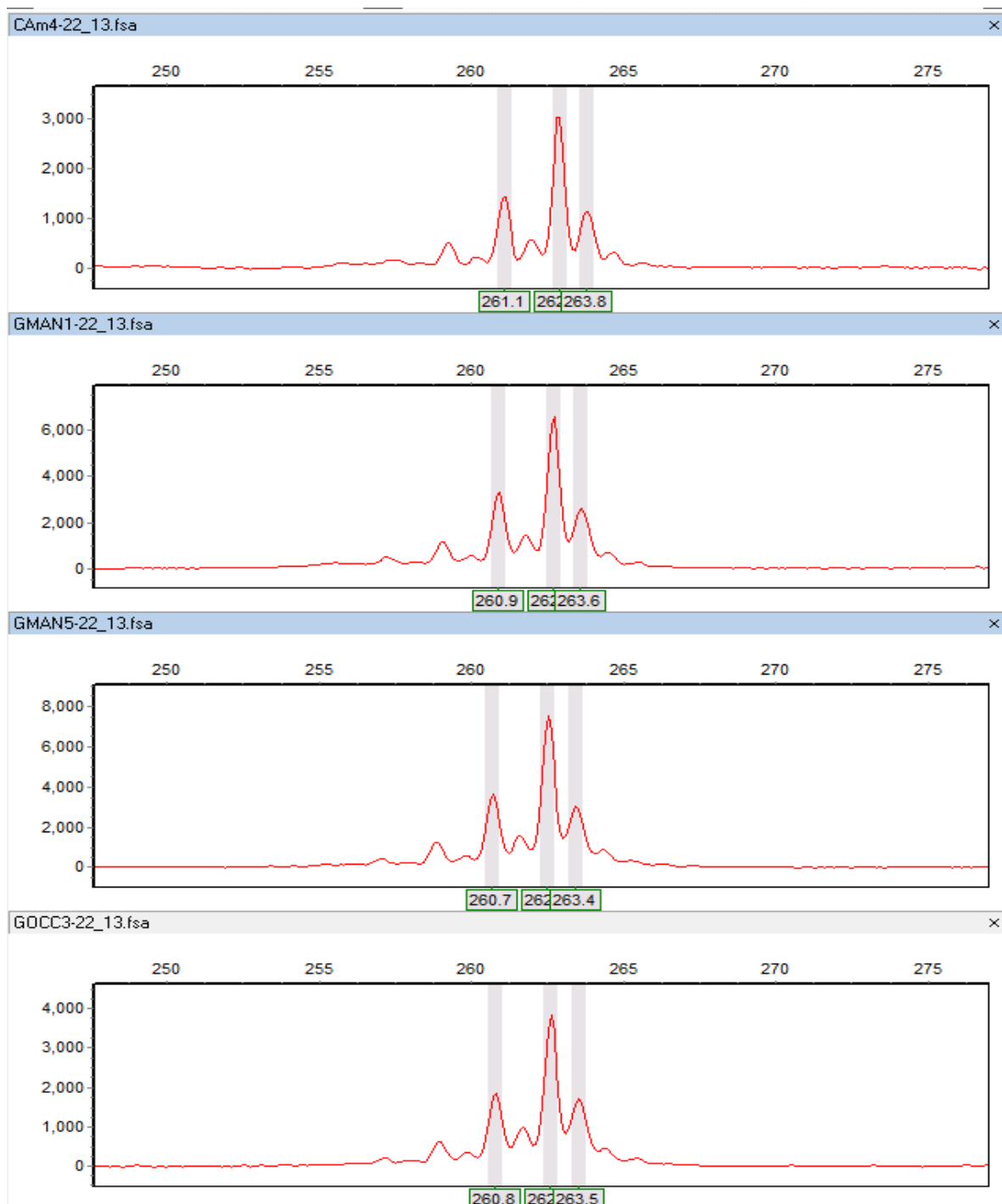
1. Secuencia de primers *forward* NO incluye el oligonucleótido de la cola universal

Anexo C. Genotipado de los 80 individuos de *P. guajava* de la isla Santa Cruz seleccionados para el estudio genético. Se indican los genotipos solo para los 9 loci microsatélites polimórficos; el de los loci monomórficos se omitió, pues presentan el mismo alelo para los 80 individuos. Los diferentes alelos están denotados según su tamaño en pb. Para cada individuo en cada locus, se muestran dos valores numéricos separados por un “/”; estos corresponden a los alelos encontrados en los dos cromosomas homólogos de cada individuo.

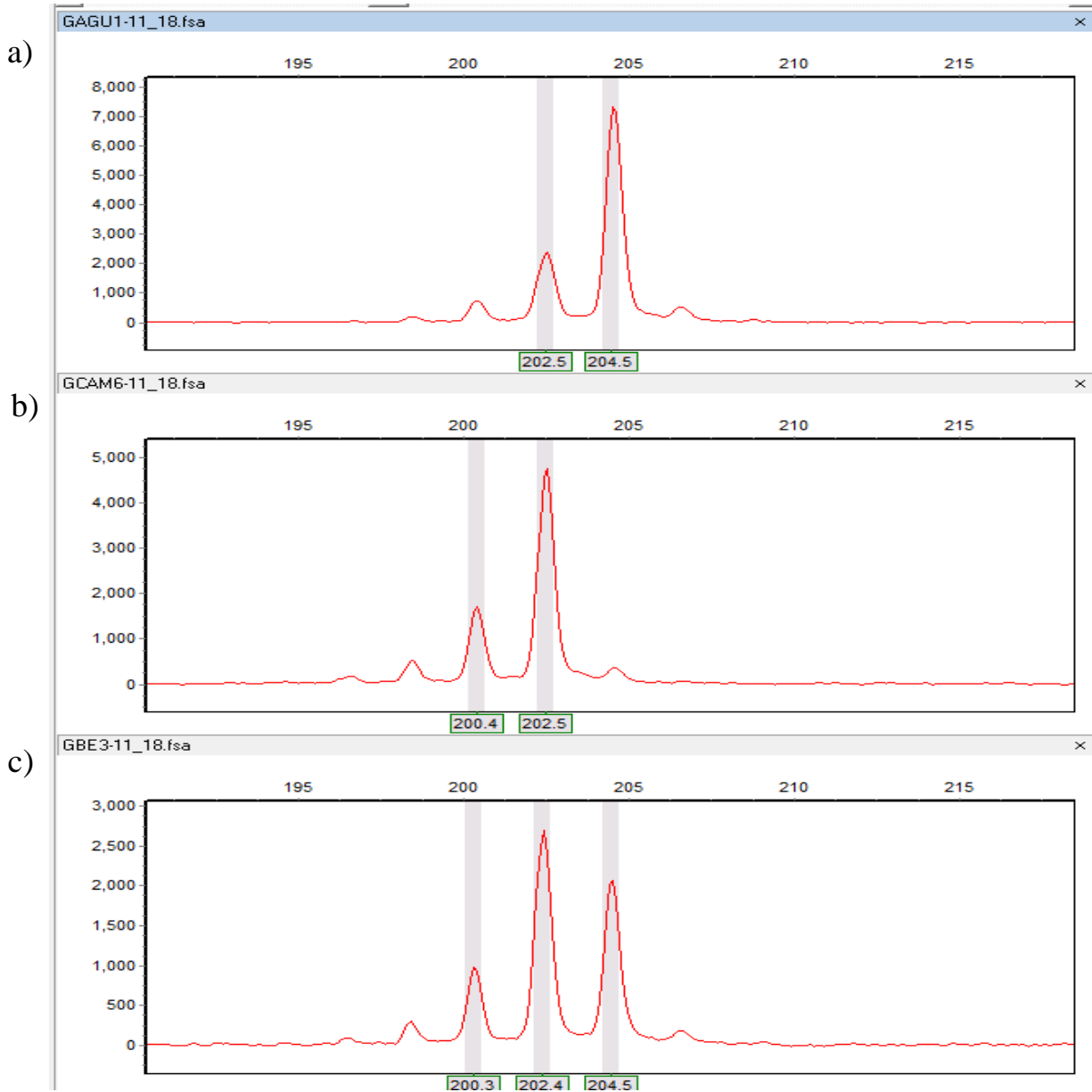
Ind.	mPgCIR10	mPgCIR07	mPgCIR05	mPgCIR17	mPgCIR08	mPgCIR11	mPgCIR18	mPgCIR21	mPgCIR09
BE1	284/320	162/162	262/262	246/246	234/234	318/318	202/204	166/166	178/178
BE3	284/284	162/162	264/264	258/258	234/234	318/318	202/204	166/166	170/170
BE4	284/284	156/156	262/262	246/258	246/246	320/320	204/204	168/168	170/170
BE5	320/320	156/156	262/264	258/258	234/234	320/320	204/204	166/166	170/170
BE6	284/284	156/162	264/264	258/258	234/246	320/320	204/204	166/166	178/178
CAM1	284/320	156/162	262/264	246/258	234/246	318/318	202/202	166/168	170/178
CAM3	284/284	162/162	264/264	258/258	234/234	318/318	202/202	166/166	178/178
CAM4	284/284	150/156	262/262	258/258	234/234	318/318	204/204	166/166	178/178
CAM5	284/320	156/156	264/264	248/258	234/234	318/318	204/204	168/168	178/178
CAM6	284/284	156/156	262/262	246/246	234/234	318/318	202/202	164/164	178/178
CAS1	284/284	156/162	264/264	258/258	234/234	318/318	204/204	166/166	178/178
CAS2	284/284	156/156	264/264	258/258	234/246	318/318	204/204	164/166	178/178
CAS3	284/284	162/162	264/264	258/258	234/234	320/320	204/204	166/166	178/178
CAS4	320/320	156/156	264/264	258/258	246/246	318/318	204/204	164/164	170/170
CAS6	284/284	162/162	264/264	246/246	246/246	320/320	204/204	166/166	178/178
CM1	284/284	156/156	264/264	246/246	234/234	318/318	204/204	166/168	170/178
CM2	284/284	162/162	264/264	258/258	234/234	318/318	204/204	166/166	166/174
CM3	284/320	162/162	262/262	246/246	234/234	318/318	202/202	164/168	170/178
CM5	284/284	156/162	264/264	246/258	234/234	320/320	204/204	166/168	170/178
CM6	284/320	156/162	262/264	258/258	234/234	318/318	204/204	168/168	178/178
GAP1	284/284	164/164	262/262	258/258	234/234	318/318	204/204	168/168	178/178
GE1	284/284	162/162	264/264	258/258	234/234	318/318	202/202	166/166	178/178
GR1	284/284	156/162	264/264	258/258	234/234	318/318	202/204	164/164	178/178
GR2	284/284	156/162	262/264	246/246	234/234	320/320	202/202	166/166	170/170
GR3	284/320	156/162	264/264	246/258	234/246	318/318	202/202	164/166	170/174
ML2	320/320	156/156	264/264	258/258	234/234	320/320	204/204	168/168	178/178
ML4	284/320	156/162	264/264	246/258	234/234	318/318	202/204	166/168	170/170
ML5	284/284	162/162	264/264	258/258	234/234	318/318	202/202	166/166	178/178
ML6	320/320	162/162	264/264	258/258	234/234	318/318	202/204	166/168	178/178
PRI1	284/324	156/156	264/264	258/258	234/246	320/320	204/204	166/168	170/170
PRI2	320/320	156/156	262/262	246/246	234/246	318/318	202/204	164/164	178/178
PRI3	284/284	156/156	262/262	246/246	246/246	318/318	204/204	168/168	170/170
PRI5	284/284	162/162	262/266	258/258	234/246	318/318	202/202	164/168	178/178
PRI6	320/320	162/162	264/264	258/258	234/234	318/318	204/204	168/168	170/170
SA1	284/284	162/162	264/264	258/258	234/234	318/318	204/204	166/166	178/178
SA2	284/320	156/156	262/264	258/258	246/246	318/318	202/202	164/164	178/178
SA3	284/320	156/162	264/264	258/258	234/246	318/318	204/204	166/168	170/170
SA5	284/284	156/162	260/264	246/258	234/234	318/320	204/204	164/166	170/178

TB1	320/320	156/156	264/264	258/258	234/234	320/320	204/204	168/168	178/178
TB2	320/320	156/156	262/262	258/258	234/246	318/318	202/204	164/164	170/178
TB3	284/284	156/162	264/264	246/246	234/246	318/318	204/204	168/168	170/178
TB4	284/284	162/162	264/264	258/258	234/234	318/318	202/204	168/168	170/178
AGU1	284/284	156/156	262/264	246/246	234/234	318/318	204/204	166/166	178/178
AGU2	284/284	162/162	262/264	258/258	234/234	318/318	204/204	166/166	178/178
AGU3	284/284	162/162	262/264	258/258	234/234	318/318	204/204	166/166	178/178
CH1	284/320	156/162	256/264	258/258	234/234	318/318	204/204	164/168	170/170
CH2	284/284	156/156	264/264	258/258	234/234	320/320	204/204	166/168	170/170
CH4	284/284	156/156	264/264	246/246	234/234	318/318	202/202	168/168	170/170
CH6	324/324	156/156	264/264	258/258	246/246	320/320	204/204	168/168	170/170
EC1	284/284	156/156	262/264	246/254	234/246	318/318	202/204	166/168	170/178
EC2	284/284	156/156	262/262	246/246	246/246	318/318	202/202	164/164	178/178
EC3	284/320	156/162	264/266	246/258	234/234	318/318	204/204	168/168	170/170
GUA2	284/284	156/156	264/264	258/258	234/234	318/318	204/204	168/168	178/178
GUA3	320/320	162/162	264/264	246/258	234/234	318/318	204/204	164/166	178/178
GUA4	284/284	162/162	262/262	246/258	234/246	318/318	204/204	164/164	170/178
GUA5	284/284	156/156	264/264	258/258	234/234	318/318	204/204	164/166	170/178
GUA6	284/284	156/156	264/264	258/258	234/234	318/318	204/204	166/168	178/178
KZ1	284/284	156/156	264/264	258/258	234/234	318/318	202/204	164/164	178/178
KZ2	284/284	156/156	262/262	258/258	234/246	318/318	204/204	168/168	178/178
KZ3	284/284	156/156	264/264	258/258	234/234	318/318	204/204	166/166	178/178
KZ4	284/284	162/162	264/264	258/258	234/234	318/318	202/202	164/166	170/170
MAN1	284/284	156/156	264/264	246/246	234/234	318/318	202/202	166/166	170/170
MAN2	284/320	156/156	264/264	258/258	234/234	318/320	204/204	166/168	170/170
MAN3	284/320	162/162	264/264	258/258	234/234	318/320	204/204	166/168	170/170
MAN4	284/284	156/156	264/264	260/260	234/234	318/318	204/204	164/164	178/178
MAN5	284/320	156/156	262/262	258/258	234/234	318/318	202/204	164/166	170/170
OCC1	284/320	156/156	264/264	258/258	234/234	318/318	204/204	166/166	170/170
OCC2	284/284	162/162	262/264	258/258	234/246	318/318	204/204	164/164	178/178
OCC3	284/284	156/156	262/262	258/258	246/246	318/318	204/204	164/164	170/170
OCC5	284/284	156/156	264/264	246/246	234/234	318/318	202/204	168/168	170/170
OCC6	284/284	162/162	262/262	258/258	234/234	318/318	204/204	164/164	170/170
PB1	284/284	156/156	262/266	258/258	234/234	318/318	204/204	168/168	170/170
PB2	284/320	156/156	262/264	258/258	234/234	320/320	204/204	166/168	170/178
PB3	284/284	156/156	264/264	258/258	234/234	318/318	204/204	164/164	178/178
PB4	284/284	156/162	264/264	258/258	234/234	320/320	204/204	166/166	178/178
SR1	284/284	156/156	264/264	246/258	234/234	318/318	204/204	166/166	178/178
SR3	284/322	156/156	260/262	246/258	234/246	318/320	202/202	164/164	170/178
SR4	284/284	156/162	264/266	246/258	234/234	318/320	204/204	164/166	178/178
SR5	320/320	156/156	264/266	258/258	234/246	318/318	204/204	166/166	170/170
SR6	284/320	156/156	262/264	246/258	234/234	318/320	202/204	164/168	170/178

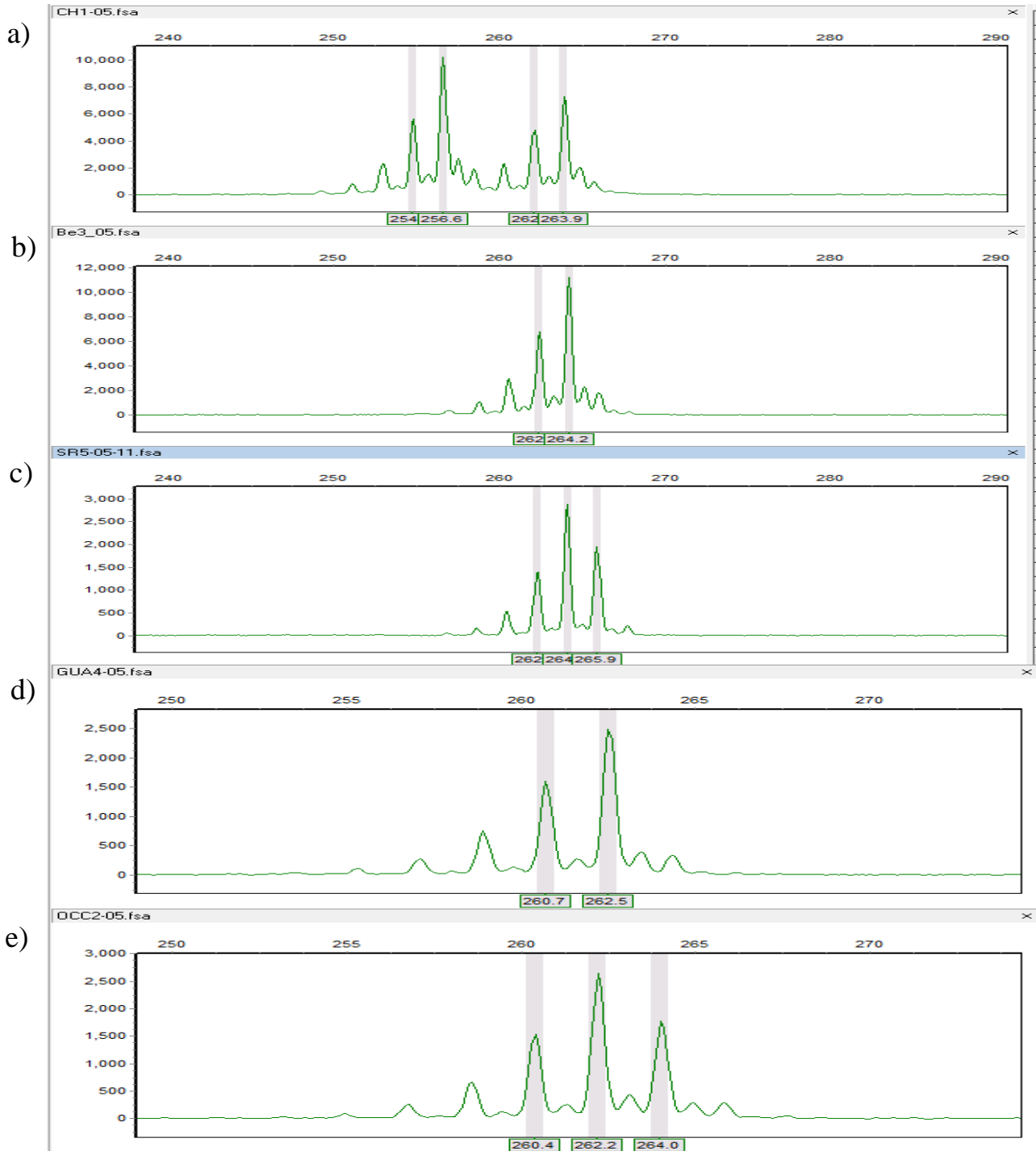
Anexo D. Patrón de picos de las señales de fluorescencia de los amplicones del locus mPgCIR13 para cuatro individuos de *P. guajava* muestreados en la isla Santa Cruz (Cam4, Man1, Man5y Occ3, en ese orden). Éste fue un locus monomórfico. Nótese el patrón de picos idéntico para las cuatro muestras expuestas.



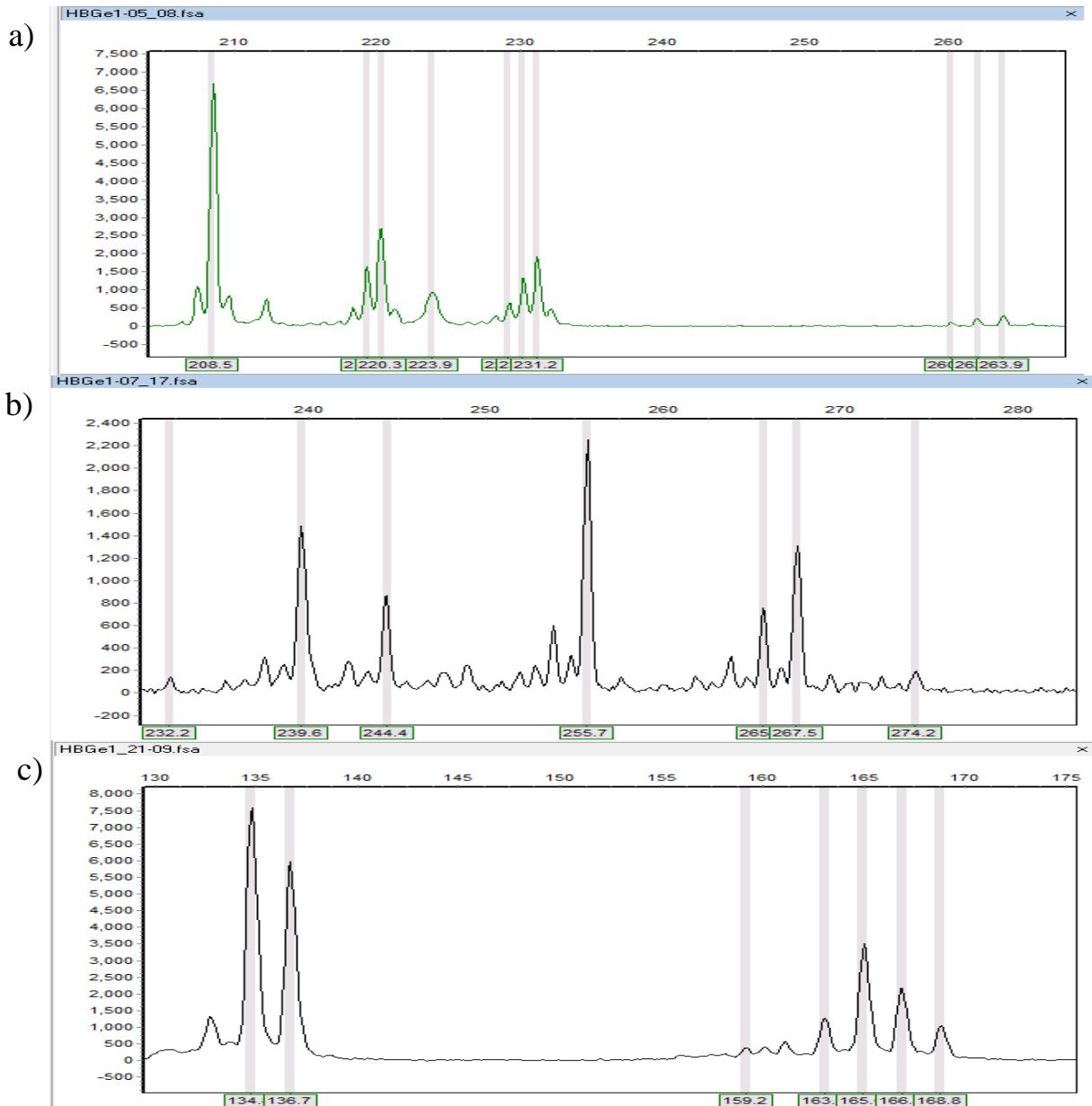
Anexo E. Patrón de picos de las señales de fluorescencia de los amplicones del locus mPgCIR18 para tres individuos de *P. guajava* muestreados en la isla Santa Cruz (Agu1, Cam6, y Be3, en ese orden). Se reportaron dos alelos en este locus para la población estudiada. El individuo Agu1 es homocigoto para el alelo 204 (a), Cam6 es homocigoto para el alelo 202 (b), y Be3 es heterocigoto para los alelos 202 y 204 (c).



Anexo F. Patrón de picos de las señales de fluorescencia de los amplicones del locus mPgCIR05 para 5 individuos de *P. guajava* muestreados en la isla Santa Cruz (CH1, Be3, SR5, Gua4 y Occ2, en ese orden). Se reportaron 5 alelos en este locus para la población estudiada. El individuo CH1 es heterocigoto para el alelo 264, y el alelo infrecuente 256 (a), Be3 es homocigoto para el alelo 264 (b), SR5 es heterocigoto para el alelo 264 y 266 (c), Gua4 es homocigoto para el alelo 262 (d) y Occ2 es heterocigoto para los alelos 262 y 264.



Anexo G. Patrón de picos de los amplicones del individuo HBGel, para los loci en los que mostró cuatro alelos, es decir, una ploidía $4n$ confirmada: a) Para el locus mPgCIR05, los cuatro alelos encontrados fueron 208, 220, 232 y 264. b) Para el locus mPgCIR17, los alelos fueron 240, 244, 256 y 268. c) Para el locus mPgCIR21, fueron 134, 136, 164 y 166.



Anexo H. Patrón de picos del individuo Psp_SCZ_02, para el locus mPgCIR05, en el cual mostró 4 alelos, es decir, una ploidía 4n confirmada.

