

DIVERSIDAD FENOTÍPICA Y GENÉTICA EN HUERTAS DE GUAYABO DE CALVILLO, AGUASCALIENTES

PHENOTYPIC AND GENETIC DIVERSITY IN GUAVA ORCHARDS FROM CALVILLO, AGUASCALIENTES

Jorge Martínez-De Lara¹, María Consuelo Barrientos-Lara¹, Ana Cristina Reyes-De Anda¹, Sanjuana Hernández-Delgado², José Saúl Padilla-Ramírez³ y Netzahualcoyotl Mayek Pérez^{2*}

¹ Departamento de Química, Universidad Autónoma de Aguascalientes. Universidad 940, 20100, Aguascalientes, México. Fax: 01 (449) 910-8401. ² Centro de Biotecnología Genómica, Instituto Politécnico Nacional. Blvd. del Maestro esq. Elías Piña. Col. Narciso Mendoza. C.P. 88710. Cd. Reynosa, Tamaulipas, México. Fax: 01 (899) 924-3627. Correo electrónico: nmayekp@hotmail.com ³ Campo Experimental Pabellón, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Apdo. Postal 20, C.P. 20660 Pabellón de Arteaga, Aguascalientes, México.

* Autor para correspondencia

RESUMEN

La variabilidad morfológica y bioquímica en guayabo (*Psidium guajava* L.) es notable entre y dentro de huertas productoras de México, pero se desconoce su diversidad genética la cual servirá para su mejoramiento genético. Se determinó la diversidad fenotípica y genotípica de árboles de cuatro huertas de guayabo localizadas en San Tadeo, Calvillo, Aguascalientes. Se seleccionaron al azar 12 árboles en cada huerta, y en cada árbol diez frutos en los que se determinaron diferentes características morfológicas, y los 48 árboles se analizaron con la técnica del ADN polimórfico amplificado al azar (RAPD). Se detectaron diferencias en fenotipo y genotipo entre y dentro de huertas de guayabo, en cuanto al color de pulpa (crema, blanco, amarillo o rosa) y forma de fruto (ovalada o aplanada). El análisis de componentes principales reveló que las variables diámetro polar, diámetro ecuatorial, grosor del mesocarpio, peso de frutos, largo de hoja y ancho de hoja fueron las características que mejor explicaron la variabilidad fenotípica de los árboles. Los 15 oligonucleótidos RAPD amplificaron 112 fragmentos de ADN (7-8 fragmentos por oligonucleótido) y todos fueron polimórficos. El análisis de conglomerados con datos fenotípicos y de RAPD demostró que no existió agrupamiento definido de los árboles con base a la huerta de origen. La diversidad morfológica y genética observada es desfavorable debido a que la variación en formas y colores de frutos afecta la uniformidad y la calidad de la producción.

Palabras clave: *Psidium guajava* L., diversidad fenotípica, análisis RAPD.

SUMMARY

Significant morphological and biochemical variability among and within guava (*Psidium guajava* L.) orchards of México has been found, but their genetic diversity remains unknown although it could be useful for the crop breeding. The phenotypic and genetic diversity of four guava orchards located in San Tadeo, Calvillo, Aguascalientes was determined. Twelve trees per orchard and ten fruits per tree

were randomly selected and different morphological characteristics were determined in both fruits and trees; the 48 trees were analyzed by the Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) technique. Phenotypic and genetic differences across and within the tested orchards were detected, on basis to mesocarp color (beige, white, yellow, pink) and fruit shape (ovoid or pear-like). Principal component analysis revealed that polar diameter, equatorial diameter, mesocarp thickness, fruit weight, leaf length, and leaf width were the characteristics that best explained the phenotypic variation among trees. The 15 RAPD oligonucleotides amplified 112 ADN fragments (7-8 fragments per oligonucleotide) and all were polymorphic. Cluster analysis of phenotypic and RAPD data demonstrated no clear clustering of trees in relation to the orchard of origin. The morphological and genetic diversity is unfavorable due to the variation in fruit shapes and mesocarp color, which affect uniformity and quality of production.

Index words: *Psidium guajava* L., phenotypic diversity, RAPD analysis.

INTRODUCCIÓN

México es el segundo productor mundial de guayaba (*Psidium guajava* L.) después de la India, con aproximadamente 20 000 ha, de las cuales 67 % se encuentran ubicadas en la región denominada Calvillo-Cañones (SAGARPA, 2001) en el municipio de Calvillo, Aguascalientes, y en los municipios de Tabasco, Jalpa, Huanusco, Apozol y Juchipila, Zacatecas. La guayaba que se produce en la región Calvillo-Cañones se considera de la mejor calidad para consumo en fresco, debido a su aroma, sabor y consistencia; esta última característica faculta al fruto para tener mayor vida de anaquel (Mercado-Silva *et al.*, 1998). En esta región los rendimientos de fruta son bajos (de 13 a

15 t ha⁻¹), debido a suelos con baja fertilidad, reducida disponibilidad de agua para riego y la incidencia de agentes bióticos (plagas y enfermedades) y abióticos (sequía y heladas) que merman la producción (Padilla-Ramírez *et al.*, 1999).

En México no existen variedades mejoradas que se cultiven extensamente y que además presenten diferentes ventajas agronómicas que permitan la homogenización de las huertas. La variabilidad morfológica y bioquímica en el germoplasma regional es notable entre y dentro de huertas productoras, y se debe fundamentalmente a que el guayabo se propaga a través de semillas e hijuelos de raíz (Lakshminarayana y Moreno, 1978; Tong *et al.*, 1991). Actualmente predomina el material criollo conocido con los nombres "China" y "Media China", y no existen trabajos consistentes de selección de germoplasma sobresaliente y, menos aún, registros de variedades clonales mejoradas.

El incremento en la producción de guayaba puede lograrse mediante mejoramiento genético del cultivo, lo cual requiere caracterizar la variabilidad genética disponible para así poder detectar poblaciones apropiadas para las condiciones agroclimáticas de cada región productora. En este trabajo se presentan los resultados de la caracterización fenotípica y genética de árboles de cuatro huertas localizadas en la región productora de Calvillo, Aguascalientes.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en cuatro huertas ubicadas en la localidad de San Tadeo, Municipio de Calvillo, Aguascalientes, México, cuyas ubicaciones geográficas se presentan en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Localización geográfica de cuatro huertas de guayabo en Calvillo, Aguascalientes.

Localidad	Huerta	Latitud Norte	Longitud Oeste	Altitud (m)
La Loma	1	21° 55'	102° 41'	1801
La Loma	2	21° 55'	102° 41'	1798
La Cuchilla	3	21° 55'	102° 43'	1783
El Charcote	4	21° 55'	102° 42'	1777

Material biológico

Los árboles de las cuatro huertas estaban plantados a una distancia de 3 x 3 m en suelos de textura arcillo-arenosa, pH alcalino, topografía ondulada y pendiente de 7 a 10 %. En todos los casos las huertas presentan mezclas de árboles con origen desconocido (forma de propagación, origen de plantas, etc.), y denominados "Media China" (frutos con forma ovoide, pulpa crema y tamaño de mediano a grande), "China" (frutos redondos, pulpa crema, pequeños), y otros (frutos con pulpa salmón, rosa, blanca

y amarilla). Los árboles de las huertas 3 y 4 tenían 12 años de edad, los de las huertas 1 y 2 tenían 9 años.

Caracterización fenotípica

Morfología de frutos. La caracterización del fruto se llevó a cabo durante los meses de noviembre de 2002 a enero de 2003. En cada huerta se seleccionaron al azar 12 árboles al azar y 10 frutos de cada árbol, a los que con un vernier se les midió diámetro polar, diámetro ecuatorial y grosor del mesocarpio; el peso fresco de cada fruto con una balanza granataria (aproximación de 1 g); y el color de pulpa y forma del fruto, de acuerdo con UPOV (1987).

Morfología de árboles. En cada árbol se midió el largo y ancho de 10 hojas tomadas al azar y el perímetro del tronco al nivel del suelo. Con los datos de perímetro se calculó el diámetro y el área transversal del tronco de cada árbol.

Caracterización genética

Extracción de ADN. Se hizo mediante el protocolo descrito por Padilla-Ramírez *et al.* (2002), a partir de 1 g de hojas jóvenes cosechadas de cada árbol. El ADN obtenido se cuantificó visualmente en geles de agarosa 0.8 % (Padilla-Ramírez *et al.*, 2002).

Análisis RAPD. Los 48 árboles incluidos en este trabajo se analizaron por RAPDs, con la adaptación hecha por Padilla-Ramírez *et al.* (2002) para guayaba. Se incluyeron 15 oligonucleótidos decanéricos para el análisis de todo el germoplasma (OPA-2, OPA-8, OPA-9, OPA-10, OPA-11, OPA-12, OPA-14, OPA-15, OPA-16, OPA-18 y OPC-1 a OPC-5; Operon Technologies Alameda, Ca., EEUU) para llevar a cabo la amplificación del ADN genómico de las muestras por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La PCR se hizo en un volumen de 25 µL de solución que contenía 15.8 µL de agua desionizada estéril, 2.5 µL de buffer de PCR 10 X, 3 µL del oligonucleótido 2 µM, 2 µL del ADN genómico (un total de 10 ng), 1 µL de dNTP's (10 mM de cada dNTP) y 0.2 µL de enzima *Taq* polimerasa (5 U µL⁻¹). La amplificación consistió de un ciclo de calentamiento de 2 min a 94 °C, 40 ciclos de 1 min a 94 °C de desnaturalización, 2 min a 37 °C para la alineación del iniciador y 2 min a 72 °C para la polimerización. Al final se aplicó un ciclo de extensión adicional de 7 min a 72 °C. La amplificación se llevó a cabo en un termociclador (modelo 9700, Perkin-Elmer, Alemania) y los productos se separaron por medio de electroforesis en gel de agarosa 1.2 %. Finalmente, el gel se tiñó con bromuro de etidio y se fotografió bajo luz UV.

Análisis estadístico

La información morfológica de frutos y árboles se sometió al análisis de varianza con un diseño estadístico de bloques completos al azar, en el que los tratamientos fueron las huertas y los árboles las repeticiones. En los casos en que el análisis de varianza detectó diferencias significativas entre tratamientos, las medias se separaron con el valor de la Diferencia Mínima Significativa (DMS, $P=0.05$). Luego, los datos morfológicos se sometieron al análisis de componentes principales para determinar las características con el mayor valor descriptivo y que mejor explican la variabilidad entre árboles de guayabo. Con las variables que mostraron mayor valor descriptivo se calcularon las distancias euclidianas y se construyó un dendrograma por medio del método de agrupamiento de Ward (Hair *et al.*, 1992).

En el análisis genético se cuantificó el número de productos de amplificación generados por cada oligonucleótido y se les asignó un valor de acuerdo con su migración en el gel. A las bandas con el peso molecular más alto se le asignó el número uno y así sucesivamente hasta la banda con el menor peso molecular. Se supuso que las bandas con el mismo peso molecular en individuos diferentes eran idénticas. Para cada individuo, la presencia o ausencia de una banda se determinó al designar la presencia de la banda como 1 y la ausencia como 0. La distancia genética entre individuos se estimó por medio del coeficiente de apareamiento simple. La matriz de distancias generadas se utilizó para producir un dendrograma por el método de Ward (Hair *et al.*, 1992). El análisis estadístico se llevó a cabo con el paquete Statistica versión 5 para Windows (StatSoft Inc., 1997).

RESULTADOS

Análisis morfológico

Se observaron diferencias morfológicas, entre y dentro de las huertas de guayabo, en las características medidas de los frutos (datos no incluidos). Los frutos de mayor tamaño fueron los de la huerta La Cuchilla (3) y los más pequeños se registraron en la huerta El Charcote (4). También hubo variación en el color de la pulpa del fruto y en la forma de frutos; en todas las huertas al menos se observaron tres colores de pulpa distintos (crema, blanco, amarillo o rosa), con predominio del color crema (60.4 %); en cuanto a la forma del fruto, en dos huertas fue ovalada (1 y 4) y en las otras dos fue aplanada u ovalada (2 y 3) (Cuadro 2).

No hubo diferencias significativas en el tamaño de las hojas entre los árboles de cada huerta, pero la huerta 3 mostró los árboles con mayor diámetro y área transversal del tronco (que superó en cinco veces a los árboles de la huerta 1, por ejemplo), en parte debido a las diferencias en edad de los árboles (Cuadro 3).

El análisis de componentes principales (ACP) indicó que los primeros dos componentes explicaron poco más de 58 % del total de la varianza observada. El diámetro polar, diámetro ecuatorial, grosor del mesocarpio, peso de frutos (CP1); largo de hoja y ancho de hoja (CP2) fueron las características que mejor explicaron la variabilidad fenotípica de los árboles incluidos en este trabajo (Cuadro 4). El análisis de conglomerados evidenció una amplia diversidad fenotípica entre árboles de la misma huerta, y los árboles de las huertas 3 y 4 fueron los más variables (Figura 1a).

Cuadro 2. Promedio de características fenotípicas en frutos de árboles de cuatro huertas de guayaba en Calvillo, Aguascalientes.

Huerta	DP [†]	DE	GM	PF	CP	FF
	----- mm -----			-- g --		
La Loma (1)	54.4 ab ^{††}	43.6 b	6.3 ab	52.5 ab	C (8), B (3), R (1)	O (12)
La Loma (2)	59.8 b	48.0 ab	8.1 a	50.8 b	C (7), A (4), R (1)	O (6), A (6)
La Cuchilla	61.3 a	52.8 a	7.8 ab	70.4 a	C (6), A (5), B (1)	O (10), A (2)
El Charcote	49.8 b	42.0 b	5.3 b	44.8 b	C (8), A (2), B (1), R (1)	O (12)
DMS ($P=0.05$)	10.5	7.3	2.5	19.2		
CV (%)	18.9	14.7	12.3	24.1		

[†] DP=Diámetro polar; DE=Diámetro ecuatorial; GM=Grosor del mesocarpio; PF=Peso fresco de fruto; CP=Color de pulpa (C=Crema; B=Blanca; R=Rosa; A=Amarillo). El número entre paréntesis indica el número de árboles con dicho color de pulpa en los frutos; FF=Forma del fruto (O=Ovalado; A=Aplanado), CV = Coeficiente de variación.

^{††} Valores con la misma letra dentro de cada columna no son significativamente diferentes (DMS, 0.05).

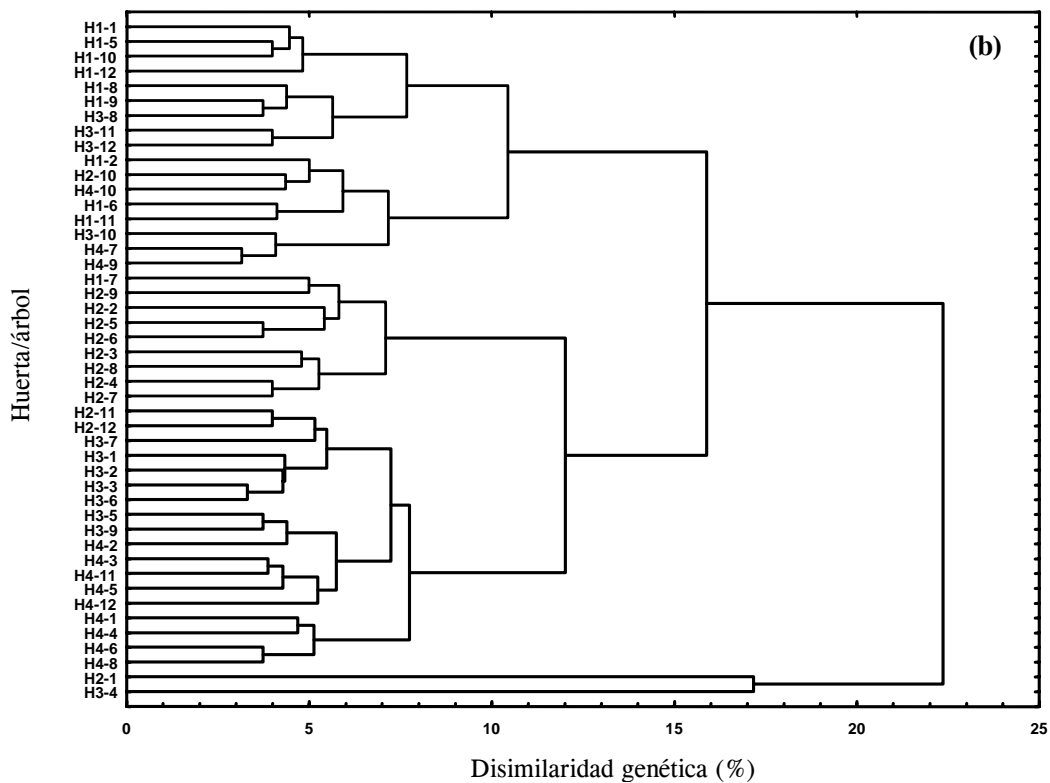
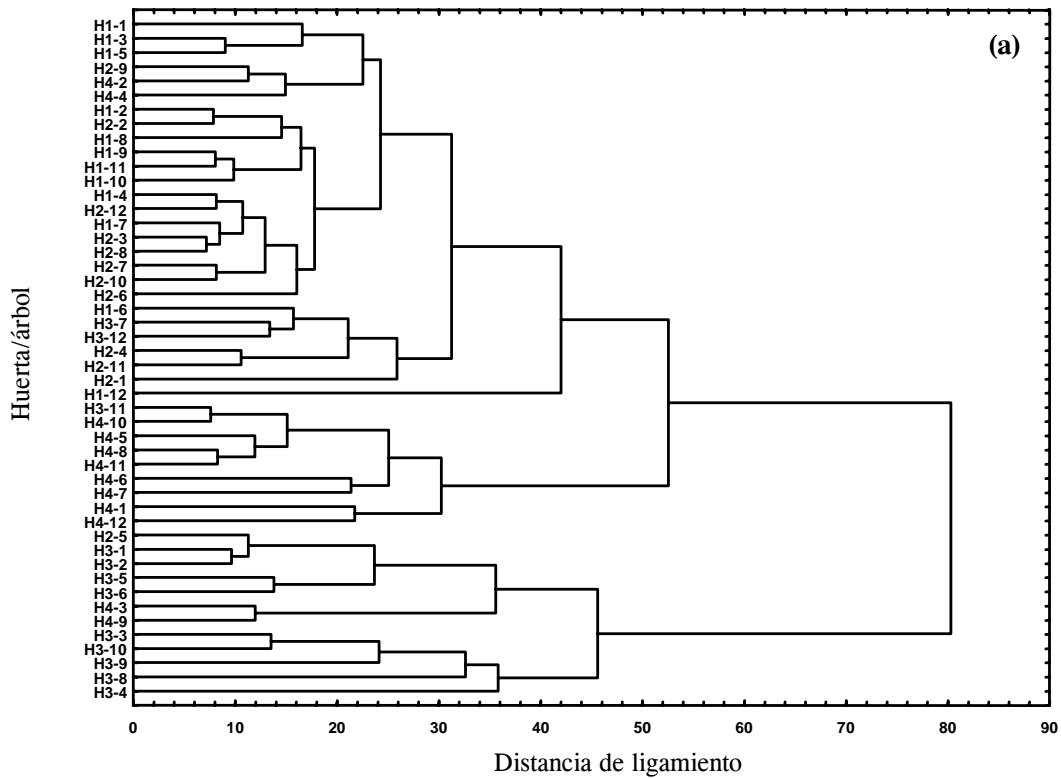


Figura 1. Dendrogramas de árboles de guayabo cultivados en Calvillo, Aguascalientes, (a) con base a datos morfológicos y (b) en datos genéticos tipo RAPD. H1 = La Loma 1; H2 = La Loma 2; H3 = La Cuchilla; y H4 = El Charcote. Los números después del guión corresponden al número de árbol en cada huerta.

Cuadro 3. Promedio de características morfológicas de árboles de cuatro huertas de guayaba en Calvillo, Aguascalientes.

Huerta	Edad de árboles (años)	Largo de hojas (mm)	Ancho de hojas (mm)	Área transversal del tronco (cm ²)
La Loma 1	9	95.8 a [†]	45.3 a	275 d
La Loma 2	9	101.0 a	44.6 a	438 c
La Cuchilla	12	96.4 a	44.6 a	1439 a
El Charcote	12	99.4 a	44.0 a	1029 b
DMS (P=0.05)		7.3	4.2	119
CV (%)		7.4	9.2	16.9

[†] Valores con la misma letra dentro de cada columna no son significativamente diferentes (DMS, 0.05). CV = Coeficiente de variación.

Cuadro 4. Valores característicos de los primeros tres componentes principales del análisis de componentes principales de características fenotípicas de guayaba en Calvillo, Aguascalientes.

Variable	CP1 ^{††}	CP2	CP3
DP [†]	0.88	0.16	0.22
DE	0.97	0.11	0.07
GM	0.75	0.16	0.50
PF	0.80	-0.05	-0.02
CP	-0.19	-0.37	-0.14
FF	-0.04	-0.04	0.90
LH	-0.05	0.81	0.04
AH	-0.01	0.89	-0.26
ATT	0.44	-0.32	-0.09

[†] DP=Diámetro polar; DE=Diámetro ecuatorial; GM=Grosor del mesocarpio; PF=Peso fresco de fruto; CP=Color de pulpa; FF=Forma de fruto; LH=Largo de hojas; AH=Ancho de hojas; ATT=Área transversal del tronco.

^{††} CP=Componente principal.

Análisis genético

Los 15 oligonucleótidos RAPD amplificaron 112 fragmentos. Los productos amplificados fueron 100 % polimórficos y produjeron un número variable de fragmentos (OPA2 = 5, OPA8 = 8, OPA9 = 3, OPA10 = 8, OPA11 = 7, OPA12 = 11, OPA14 = 4, OPA15 = 5, OPA16 = 1, OPA18 = 8, OPC1 = 11, OPC2 = 13, OPC3 = 9, OPC4 = 8, OPC5 = 10). Con los datos de los productos RAPD amplificados (Figura 2) se construyó un dendrograma (Figura 1b) entre árboles, el cual no indica un agrupamiento definido de árboles con base en la huerta de origen.

DISCUSIÓN

El estudio reveló una amplia diversidad fenotípica y genética entre árboles de guayabo de una misma huerta y entre huertas productoras en Calvillo, Aguascalientes. Estos resultados son contrarios a los mostrados en un grupo de selecciones de guayabo cultivado en México (Padilla-Ramírez *et al.*, 2002) o en germoplasma cultivado en otros países (Du Preez y Welgemoed, 1990; Tong *et al.*, 1991; Ribeiro *et al.*, 1998). Las características del fruto como diámetro ecuatorial, grosor de mesocarpio y forma de fruto poseen un alto valor descriptivo de la variabilidad fenotípica en guayabo. En comparación con el germoplasma de otros países como Colombia (Quijano *et al.*, 1999), Venezuela (Tong *et al.*, 1991), Malasia o Vietnam (Yusof, 1989), los árboles aquí evaluados exhiben menores tamaños de fruto y de grosor de mesocarpio.

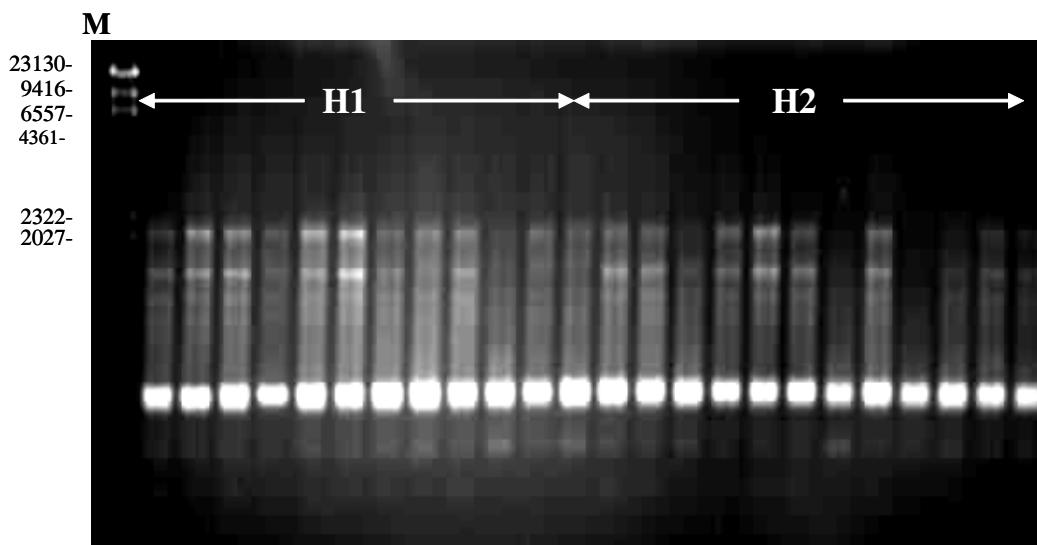


Figura 2. Productos amplificados RAPD de árboles de guayabo de las huertas La Cuchilla (H1) y El Charcote (H2) de San Tadeo, Calvillo, Aguascalientes (oligonucleótido OPA10). M = Marcador de peso molecular (ADN del Fago λ digerido con HindIII). Los números a la izquierda de la figura indican los pesos moleculares de los marcadores, en pares de bases (pb).

La similaridad genética entre árboles varió de 78 a 97 % y el polimorfismo de los productos RAPD amplificados fue de 100 %. Los niveles de variabilidad genética detectados en este trabajo son mayores a los valores de similitud de 88 a 97 % reportados por Padilla-Ramírez *et al.* (2002) en árboles originarios de la región de Calvillo. El agrupamiento de los árboles estudiados hecho con base en la huerta de origen indica que el material genético establecido en cada huerta tiene orígenes diferentes. Esta diversidad probablemente fue generada por la forma de propagación y producción de plantas, principalmente por semilla (Lakshminarayana y Moreno, 1978).

La diversidad fenotípica y genética dentro de una huerta de guayabo tiene dos implicaciones importantes. La primera es ecológica y es positiva, pues la mayor diversidad genética podrá favorecer la mayor capacidad de los árboles para tolerar los efectos de factores adversos bióticos y abióticos, los cuales constantemente inciden en la producción de guayaba en la región Calvillo-Cañones. Se considera que la mayor diversidad genética en características adaptativas ventajosas para la especie son una condición necesaria para su supervivencia y evolución (Koski, 2000).

La diversidad genética en las huertas de guayabo podría constituirse como un mecanismo de conservación de la biodiversidad, pues a medida que se incrementa dicha diversidad de especies, se mantiene la abundancia de especies benéficas, tales como insectos polinizadores (abejas, *Apis mellifera*) (Kevan *et al.*, 1997; Allen-Wardell *et al.*, 1998; Vergara, 2002). También, los huertos de manzano (*Malus domestica* Borkh.) exhiben mayor diversidad que campos cultivados con especies anuales como el chile (*Capsicum annuum* L.), dado que la diversidad se relaciona con el nivel de disturbio; cuando el disturbio en un ecosistema es frecuente y alto, las especies anuales no tienen suficiente tiempo para establecerse apropiadamente en su nicho del ecosistema (Kruger, 2000). Por ello, para huertos de especies frutales Kruger (2000) sugiere conocer y mantener la diversidad, para que los agricultores puedan planear sus prácticas de manejo y optimizar sus rendimientos.

La segunda implicación de la diversidad en los huertos de guayabo es económica y es negativa, debido a que es probable que la mayor diversidad sea una característica desfavorable para la comercialización de la producción, pues la calidad del fruto disminuye a medida que se incrementa la diversidad de las características de los frutos. Lo anterior podrá traducirse en la reducción en los precios de venta, y con ello, la reducción en la rentabilidad del cultivo en la región; por ejemplo, en el mercado mexicano se

prefiere la guayaba con colores de pulpa amarilla o crema (Reyes-Muro *et al.*, 2002).

Se vislumbran entonces tres posibilidades para la producción de guayaba en la región de Calvillo, Aguascalientes: 1) Inducir la homogenización de las huertas con material genético certificado propagado asexualmente; 2) Establecer bloques de árboles con características distintas entre sí, pero homogéneas dentro de bloques, para mantener cierta diversidad en tipos de guayaba y que permite un manejo similar en cada bloque; y 3) Mantener la diversidad genética actual en las huertas y en las próximas a establecerse o ser renovadas, con la idea de mantener diferentes opciones de producción de acuerdo con el uso de cada tipo de guayaba producida; por ejemplo, guayabas con pulpa color rosa o salmón para uso industrial en la fabricación de ates, dulces y jugos, y guayabas blancas, cremas y amarillas para consumo en fresco en el mercado local o nacional, con el consiguiente mantenimiento de los beneficios de la diversidad en la huerta mencionados anteriormente.

CONCLUSIONES

Existen diferencias morfológicas significativas entre y dentro de huertas de guayabo, en cuanto al color de pulpa y forma de frutos, así como en el genotipo RAPD de los árboles, pues no se observó agrupamiento definido de árboles con base en la huerta de origen.

Dicha diversidad morfológica y genética observada en los árboles de guayaba de cuatro huertas de la región de Calvillo, Aguascalientes, es desfavorable para la uniformidad y calidad de la producción.

BIBLIOGRAFÍA

- Allen-Wardell G, P Bernhardt, R Bitner, A Búrquez, S Buchman, J Cane (1998) The potential consequences of pollinator declines on the conservation of biodiversity and stability of food crop yields. *Conserv. Biol.* 12:8-17.
- Du Preez R J, C P Welgemoed (1990) Variability in fruit characteristics of five guava selections. *Acta Hort.* 275:351-360.
- Hair J F, R F Anderson, R L Tatum, W C Black (1992) *Multivariate Data Analysis*. 3rd Edition. McMillan Publishing Co. New York. 544 p.
- Kevan P G, C F Greco, S Belaousoff (1997) Log-normality and abundance in diagnosis and measuring of ecosystem health: pesticide stress on pollinators of blueberry heaths. *J. Appl. Ecol.* 34: 1122-1136.
- Koski V (2000) A note on genetic diversity in natural populations and cultivated stand of scots pine (*Pinus sylvestris* L.). *Investigación Agraria (Chile)*. Serie No. 1-2000:89-95.
- Kruger M A (2000) The effects of disturbance on diversity in three production fields; an apple orchard, a pepper field, and a garden. <http://people.ucsc.edu/~mkruger/Documents/diversity.htm> (Consulta efectuada el 22 de Julio de 2003).

- Laksminarayana, S, M A Moreno (1978) Estudio preliminar para determinar la existencia de las variaciones en guayaba Mexicana. Rev. Chapingo 10:37-47.
- Mercado-Silva E, P Benito-Bautista, M A García-Velasco (1998) Fruit development, harvest index and ripening changes of guavas produced in central México. Postharvest Biol. Technol. 13:143-150.
- Padilla-Ramírez, J S, E González-Gaona, C Valadez-Marín, F Esquivel-Villagrana, L Reyes-Muro (1999) Tecnología para aumentar la productividad de guayabo en la región Calvillo-Cañones. In: Avances de Investigación. Publicación Especial 28. Campo Experimental Pabellón. INIFAP-SAGARPA. Pabellón, México. 38 p.
- Padilla-Ramírez J S, E González-Gaona, F Esquivel-Villagrana, E Mercado-Silva, S Hernández-Delgado, N Mayek-Pérez (2002) Caracterización de germoplasma sobresaliente de guayabo de la región Calvillo-Cañones, México. Rev. Fitotec. Mex. 25:393-399.
- Quijano C E, M M Suárez, C Duque (1999) Constituyentes volátiles de dos variedades de guayaba (*Psidium guajava* L.): Palmira ICA-1 y Glum Sali. Rev. Colomb. Quím. 28:55-64.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) (2001) Reunión Nacional Sistema-Producto Guayaba. Documento de trabajo. Coatepec Harinas, México. 60 p.
- Reyes-Muro L, E González-Gaona, J S Padilla-Ramírez (2002) Comercialización, transformación y rentabilidad. In: Guayaba, su Cultivo en México. E González-Gaona, J S Padilla-Ramírez, L Reyes-Muro, M A Perales-De la Cruz, F Esquivel-Villagrana (eds). Libro Técnico No. 1. Campo Experimental Pabellón-INIFAP. Pabellón de Arteaga, México. pp:145-170.
- Statsoft Inc. (1997) STATISTICA for Windows Computer Program Manual. Release 5.1. Tulsa, OK, USA.
- Ribeiro R, F Picarelli, I J Antunes, L Magali, T Igue (1998) Guava yield in Monte Alegre do Sul, State of Sao Paulo, Brazil: II. Final results. Bragantia 57:117-126.
- Tong F, D Medina, D Esparza (1991) Variabilidad en poblaciones de guayaba (*Psidium guajava* L.) del municipio Mara del estado de Zulia. Rev. Agron. (Univ. del Zulia, Venezuela) 8:15-27.
- International Union for the Protection of New Varieties of Plants (UPOV) (1987) Guidelines for the conduct of tests for distinctness, homogeneity and stability. Guava (*Psidium guajava* L.). Geneva, Switzerland. 27 p.
- Vergara C H (2002) Diversity and abundance of wild bees in a mixed fruit orchard in Central México. In: Pollinating Bees: The Conservation Link Between Agriculture and Nature. P Kevan V L Imperatriz-Fonseca (eds). Ministry of Environment, Brasilia. pp: 189-176.
- Yusof S (1989) Physico-chemical characteristics of some guava varieties in Malaysia. Acta Hort. 269:301-306.