

Análisis fenético en especies de *Psidium* (Myrtaceae) de Venezuela

Phenetic analysis in *Psidium* (Myrtaceae) species from Venezuela

Análise fenética nas espécies *Psidium* (Myrtaceae) da Venezuela

Gisela del Carmen Rivero-Maldonado^{1*}, Darisol Lisbeth Pacheco-Rivera¹, Adriana Beatriz Sánchez-Urdaneta¹, Magally Quirós de González^{2†} y Jorge Ortega-Alcalá³

^{1,2,3}Departamentos de Botánica, Fitosanitario y Estadística. Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia (LUZ). AP 526. Maracaibo. ZU 4005, Venezuela. grivero@fa.luz.edu.ve, dpacheco@fa.luz.edu.ve, usanchez@fa.luz.edu.ve, jortegaa@fa.luz.edu.ve

Resumen

Psidium (Myrtaceae) es un taxa difícil para precisar límites genéricos. Ello demanda la conducción de investigaciones donde se combinen fuentes de información que contribuyan a esclarecer relaciones sistemáticas entre sus integrantes. La fenética es una teoría de clasificación basada en la semejanza global de los organismos, en función de los caracteres utilizados. El objetivo de esta investigación fue realizar el análisis fenético en especies de *Psidium* de Venezuela. Se incluyeron 44 individuos de *P. acutangulum*, *P. guajava*, *P. guineense*, *P. maribense*, *P. salutare*, *P. sartorianum* y *Calycolpus moritzianus*, analizándose 46 variables correspondientes a 15 morfológicas, 26 anatómicas y cinco fitoquímicas. Los datos se procesaron mediante análisis de conglomerados (cluster) y análisis de componentes principales (ACP); para las variables cualitativas se utilizó análisis de frecuencia. Con el cluster se obtuvieron tres grupos de especies, mientras que el ACP seleccionó 13 del total de las variables cuantitativas para explicar dicho arreglo. El análisis de frecuencia arrojó entre las variables más determinantes el número de pares de nervaduras, tipo de inflorescencia, número de estratos subepidérmicos, diferenciación del parénquima esponjoso, entre otras. Las variables seleccionadas se consideraron para describir a las especies, contribuyendo

Recibido el 29-05-2016 • Aceptado el 12-11-2016

*Autor de correspondencia e-mail: grivero@fa.luz.edu.ve

a determinar su grado de similitud y disimilitud morfológica, anatómica y fitoquímica. Resta precisar la delimitación entre *P. guajava* y *P. guineense*, lo cual pudo afectarse por la procedencia de sus individuos, sin descartar que los caracteres evaluados no fueron suficientes para lograr dicho propósito.

Palabras clave: taxonomía numérica, análisis de conglomerados, análisis de componentes principales.

Abstract

Psidium (Myrtaceae) has been a genus with difficulties in the limits among the species. This situation demands the need of research using different kinds of information that will be also useful in solving the systematic relationships among its members. Phenetic or numerical classification approach has been used to order taxa based on global or total similarity among organisms according to the characters used in the study. The objective of this research was to carry out a phenetic analysis on *Psidium* species of Venezuela. The research included 44 individuals of *P. acutangulum*, *P. guajava*, *P. guineense*, *P. maribense*, *P. salutare*, *P. sartorianum* and *Calycolpus moritzianus*. The analysis included 46 variables, of which 15 were morphological, 26 anatomical and five phytochemical. The data matrix was processed using cluster analysis (CA) and principal components analysis (PCA); for the qualitative variables a frequency analysis was used. The results showed that three groups of species were formed using CA, whereas the PCA selected 13 of the total number of quantitative characters to explain this arrangement. Based on the frequency analysis, the most determinant qualitative variables were: number of paired nerves, type of inflorescence, number of sub-epidermal strata, and degree of the spongy parenchyma differentiation. The variables selected were considered for describing the species studied, which contributed at the same time to determine the degree of morphological, anatomical and phytochemical similarity among the species.

Key words: numerical taxonomy, cluster analysis, PCA.

Resumo

Psidium (Myrtaceae) é um taxa difícil para definir limite genérico. Isto requer a realização de pesquisas, onde as fontes de informação que contribuam para elucidar relações sistemáticas entre os seus membros combinados. Fenética é uma teoria baseada na semelhança global dos organismos, de acordo com os caracteres utilizados de classificação. O objetivo desta pesquisa foi realizar a análise fenética na espécie *Psidium* de Venezuela. A pesquisa incluiu 44 indivíduos de *P. acutangulum*, *P. guajava*, *P. guineense*, *P. maribense*, *P. salutare*, *P. sartorianum* e *Calycolpus moritzianus*. A análise incluiu 46 variáveis, das quais 15 foram morfológicas, 26 anatómicos e cinco fitoquímicos. Os dados foram processados usando a análise de cluster (Cluster) e análise de componentes principais (ACP);

para as variáveis qualitativas foi utilizado análise de frequência. Com o Cluster foram obtidos três grupos de espécies, enquanto que o ACP selecionou 13 de todas as variáveis quantitativas para explicar tal arranjo. Análise de frequência mostraram entre as variáveis mais decisivas: número de pares de costelas, o tipo de inflorescência, número de camadas sub-epidérmica, diferenciação de parênquima esponjoso, entre outros. As variáveis selecionadas foram consideradas para descrever espécies, ajudando a determinar o seu grau de semelhança e morfológica, anatômica e dissimilaridade fitoquímica. Resta esclarecer a distinção entre *P. guajava* y *P. guineense*, que poderiam ser afetados pela origem dos seus membros, sem excluir os caracteres avaliados, não foi suficiente para atingir esse fim.

Palavras-chave: taxonomia numérica, análise de cluster, ACP.

Introducción

La familia Myrtaceae incluye aproximadamente 133 géneros (Vargas-Álvarez *et al.*, 2006), de los cuales 19 se reportaron para Venezuela. Uno de los géneros mejor representado en el país es *Psidium*, con 13 especies ampliamente distribuidas, siendo *P. guineense* Sw. y *P. guajava* L. las que se encontraron en un mayor número de estados, 19 y 13, respectivamente (Rivero *et al.*, 2013), seguidas por *P. salutare*, *P. sartorianum* y *P. acutangulum* (Hokche *et al.*, 2008). *Psidium* es considerado dentro de la familia Myrtaceae un taxón en el cual ha sido difícil precisar sus límites genéricos, desconociéndose con exactitud el número de especies dentro del mismo (Holst *et al.*, 2003). Se han generado divergencias taxonómicas derivadas de la existencia de tipos morfológicos muy semejantes entre sí, y que correspondieron a especies distintas, así como de diversos fenotipos que a la larga podrían representar una misma entidad genética, derivado de la gran plasticidad que demostraron

Introduction

Myrtaceae family includes approximately 133 genus (Vargas-Álvarez *et al.*, 2006), out of which 19 are reported for Venezuela. One of the most represented genus in the country is *Psidium*, with 13 species widely distributed, being *P. guineense* Sw. and *P. guajava* L. the ones found in more states, 19 and 13, respectively (Rivero *et al.*, 2013), followed by *P. salutare*, *P. sartorianum* and *P. acutangulum* (Hokche *et al.*, 2008). *Psidium* is considered to be part of the Myrtaceae family a taxa where is difficult to appreciate the generic limits, without knowing with accuracy the number of species within it (Holst *et al.*, 2003). Taxonomic divergences have been generated due to the existence of morphologic types that are similar in between and that corresponded to different species, as well as the diverse phenotypes that might represent the same genetic entity derived from the plasticity that showed in different environments. The latter has required carrying out other researches about the taxonomic position of *Psidium*

en diversos ambientes. Lo expuesto ha demandado la conducción de investigaciones tendientes a dilucidar la posición taxonómica de *Psidium* dentro de la familia Myrtaceae, que combinen diversas fuentes de información, justificada en la gran diversidad de especies presentes en Venezuela y en general, en otros países tropicales. Esto permitiría también ampliar el estudio de otras especies de este género, diferentes a *P. guajava*, especie más estudiada debido a su potencial frutícola, como recursos promisorios para la producción comercial.

En familias botánicas como en las Lamiaceae (Silva *et al.*, 2011) y Palmae (Henderson, 2004) se han conducido investigaciones para esclarecer relaciones sistemáticas entre sus integrantes, combinando datos morfológicos, anatómicos y de distribución geográfica mediante análisis multivariados, a fin de aplicar un tratamiento taxonómico integral, lo cual se ha comparado con análisis individuales que consideraron una sola fuente de información, determinando que estos últimos solo han dado resoluciones limitadas.

Pocos representantes de Mirtáceas neotropicales han sido considerados en análisis taxonómicos completos en comparación con taxa de otras latitudes; a través de una investigación integral se consideraron caracteres morfológicos, secuencias moleculares y su integración para definir las relaciones entre taxones de Mirtáceas (Wilson *et al.*, 2001); no obstante, en este trabajo solo se incluyeron algunos géneros americanos; esta preocupación ha sido expuesta por

in the Myrtaceae family that would combine different information sources justified in the diversity of the species present in Venezuela, and generally in other tropical countries. This will also allow expanding the study of other species of this genus different to *P. guajava*, species that are more known due to the fruit potential it has as a promissory resource for the commercial production.

Different researches have carried out in botanic families such as Lamiaceae (Silva *et al.*, 2011) and Palmae (Henderson, 2004) to clarify systematic relations among them, combining morphological, anatomic data and with geographic distribution through multivariate analysis with the aim of applying an integral taxonomic treatment, compared to individual analysis that only considered a source of information, determining that these have provided limited resolutions.

A few neotropical Myrtaceae have been considered in complete taxonomic analysis compared to the taxa in other latitudes; using an integral research were considered the morphological, molecular sequences and integration to define the relations among the taxa of Myrtaceae (Wilson *et al.*, 2001); nevertheless, in this research were only included some American genus, concern that has been stated by some authors who combined anatomic data with molecular sequences for the construction of phylogeny (Gomes *et al.*, 2009).

Phenetic emerges as a necessary tool for carrying out this research paper that required the incorporation of multiple variables, it has been

ciertos autores, quienes trabajando con géneros de esta familia presentes en Brasil, combinaron datos anatómicos con secuencias moleculares para la construcción de filogenias (Gomes *et al.*, 2009).

Para la conducción de trabajos de esta naturaleza, donde se requiere la incorporación de múltiples variables, surge la fenética como herramienta indispensable; ésta ha sido propuesta como una teoría de clasificación basada en la semejanza global o total de los organismos, en función de los caracteres utilizados. Los principios operativos tienen su fundamento en una serie de técnicas numéricas que operan sobre un número de distancias y miden la similitud entre los grupos (Crisci y López, 1983). Este enfoque metodológico, también denominado taxonomía numérica, constituye una evaluación de la similitud o afinidad entre unidades taxonómicas operacionales, donde los taxa fueron agrupados con base al estado de sus caracteres (Sneath y Sokal, 1973). Estas operaciones numéricas se realizan mediante programas computarizados que permiten el procesamiento de gran cantidad de datos.

En esta investigación el objetivo fue realizar el análisis fenético en especies de *Psidium* de Venezuela, con énfasis en las que se distribuyen en el occidente venezolano, permitiendo establecer algunos límites taxonómicos entre las mismas.

Materiales y métodos

Se incluyeron 44 individuos correspondientes a las especies: *P. acutangulum*, *P. guajava*, *P.*

proposed as a classification theory based on the global or total similarity of organisms in function of the traits used. The operative principles are based on different numeric techniques that operate on a number of distances and measure the similarity among groups (Crisci and López, 1983). This methodological approach, also called numeric taxonomy, constitutes a similarity or affinity evaluation among operational taxonomic units, where the taxa were grouped based on the status of their traits (Sneath and Sokal, 1973). These numeric operations are done through computerized programs that allow the processing of important quantity of data.

Because of the latter, the objective of this research was to analyze the phenetic analysis in *Psidium* species of Venezuela, especially those distributed in the Venezuelan western, allowing establishing taxonomic limits among them.

Materials and methods

Forty four individuals were included corresponding to the species: *P. acutangulum*, *P. guajava*, *P. guineense*, *P. maribense*, *P. salutare*, *P. sartorianum* and *Calycolpus moritzianus* coming from herb material and field collections; for the first case the following herbarium were visited: National Herbarium of Venezuela (VEN), Herbarium of Forestry and Environmental Science Faculty and of Universidad de los Andes (MER), Herbarium of the Agronomy Faculty of Universidad Central de Venezuela (MY) and Herbarium of Universidad

guineense, *P. maribense*, *P. salutare*, *P. sartorianum* y *Calycolpus moritzianus* provenientes de material herborizado y de recolectas de campo; para el primer caso se visitaron los siguientes herbarios: Herbario Nacional de Venezuela (VEN), Herbario de la Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales de la Universidad de Los Andes (MER), Herbario de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela (MY) y el Herbario de la Universidad del Zulia, Facultad de Agronomía “Omar Zambrano” (HERZU); en este caso las muestras vegetales se sometieron a hidratación con agua a temperatura de ebullición por 1 o 2 min. Los especímenes frescos se recolectaron en diversas localidades de los estados Mérida, Táchira, Trujillo y Zulia. En total se analizaron 46 variables: 15 morfológicas, 26 anatómicas y cinco fitoquímicas, éstas se evaluaron en estudios previamente realizados (Rivero *et al.*, 2012; Rivero, 2013; Rivero *et al.*, 2013).

En una matriz de datos elaborada en Microsoft Windows Excel (2007) se recopiló la información para su posterior procesamiento con el programa estadístico SAS versión 9.1.3 (SAS, 2008). Las variables de tipo cuantitativo permitieron la obtención de los diferentes grupos de especies, para lo cual se aplicó el análisis de conglomerados mediante el método de la varianza mínima de Ward (procedimiento CLUSTER, SAS). Para determinar cuáles de estas características incidieron mayormente sobre el agrupamiento, se empleó el análisis de componentes principales

del Zulia, Agronomy Faculty “Omar Zambrano” (HERZU); in this case the vegetal samples were submitted to hydration with boiling water for 1 or 2 min. The fresh specimens were collected in different locations of Merida, Tachira, Trujillo and Zulia. In total, 46 variables were analyzed: 15 morphological, 26 anatomical and five chemical, these were evaluated in previously researches (Rivero *et al.*, 2012; Rivero, 2013; Rivero *et al.*, 2013).

The information was compiled in a matrix data elaborated in Windows Excel (2007) for its posterior processing in the statistical program SAS 9.1.3 (SAS, 2008). Quantitative variables allowed obtaining the different groups of species, applying the conglomerate analysis with Ward minimum variance method (cluster procedure, SAS). The analysis of main components (AMC, PRINCOMP, SAS) was used to determine which characteristics had more incidence on the grouping. In the case of the qualitative variables, the frequency analysis was used through the Proc Freq procedure (SAS) with the aim of selecting the traits of this nature that mainly provided the distinction of the groups.

Results and discussion

Cluster analysis

In the conglomerate analysis was evidenced the formation of three groups (figure 1). Group 1 formed by 18 individuals belonging to the species *P. guineense*, *P. sartorianum* and *P. guajava*; group 2 with 10 individuals

(ACP, PRINCOMP, SAS). En el caso de las variables cualitativas, se utilizó un análisis de frecuencia mediante el procedimiento Proc Freq (SAS), a fin de seleccionar los caracteres de esta naturaleza que mayormente aportaron a la distinción de los grupos.

Resultados y discusión

Análisis cluster

En el análisis de conglomerado se evidenció la formación de tres grupos (figura 1). El grupo 1 conformado por 18 individuos pertenecientes a las especies *P. guineense*, *P. sartorianum* y *P. guajava*; el grupo 2 integrado por 10 individuos de las especies *P. acutangulum*, *P. maribense*, *P. guajava* y *P. guineense* y el grupo 3, al cual se incorporaron 13 individuos de las especies *P. guajava*, *P. salutare* y *C. moritzianus*. Es importante destacar, que inicialmente se consideraron 44 individuos, pero tres de ellos presentaron algunos datos faltantes por lo cual el análisis los descartó.

Análisis de componentes principales

El análisis de componentes principales seleccionó 13 del total de las variables inicialmente consideradas para explicar los grupos obtenidos. En la figura 2 se reflejan los tres grupos generados por el análisis cluster.

En el cuadro 1 se observa que la sumatoria de los tres primeros componentes explicó el 63,43% de la variación presentada con relación a los caracteres anatómicos, morfológicos y fitoquímicos seleccionados. El primer componente (CP1) interpretó el 26,30%

of the species *P. acutangulum*, *P. maribense*, *P. guajava* and *P. guineense* and group 3 with 13 individuals of the species *P. guajava*, *P. salutare* and *C. moritzianus*. It is important to mention that initially 44 individuals were considered, but three of them presented missing data, reason for which the analysis extracted tem.

Analysis of the main components

The analysis of main components selected 13 out of the total of variables initially considered to explain the groups obtained. In figure 2 are presented the three groups generated by the cluster analysis.

In table 1 is observed that the sum of the first three components explained 63.43% of the variation presented in relation to the anatomic, morphological and phytochemical traits selected. The first component (CP1) interpreted 26.30% of the variability, the second (CP2) 21.87% and the third (CP3) 15.26%.

In table 2 are shown the characteristics that provided in higher proportion the variability of the three first components.

In relation to the qualitative variables, the frequency analysis generated the results presented in table 3 when compared to the three groups. The traits that had more incidences in their differentiation are highlighted.

The distinctive traits are presented for each group of species, considering the most determining quantitative and qualitative variables in their discrimination, presenting in table 4 the comparison of the quantitative traits.

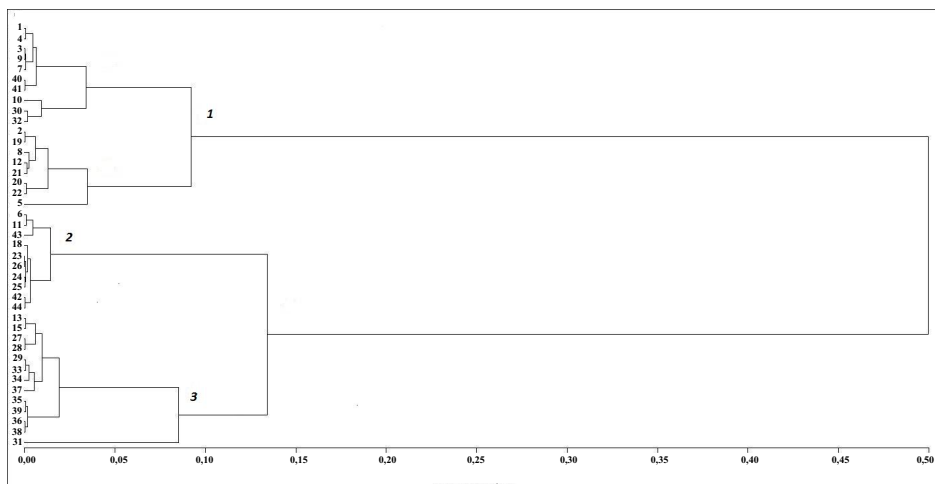


Figura 1. Dendrograma del análisis de conglomerado (Cluster) aplicado a especies de *Psidium*, integrando datos anatómicos, morfológicos y fitoquímicos. *P. guineense*: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 y 12. *C. moritzianus*: 13, 14, 15, 16 y 17; *P. maribense*: 18. *P. sartorianum*: 19, 20, 21 y 22. *P. acutangulu*: 23, 24, 25 y 26. *P. salutare*: 27, 28 y 29. *P. guajava*: 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43 y 44.

Figure 1. Dendrogram of the conglomerate analysis (cluster) applied to *Psidium* species integrating anatomical, morphological and phytochemicals data. *P. guineense*: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 and 12. *C. moritzianus*: 13, 14, 15, 16 and 17; *P. maribense*: 18. *P. sartorianum*: 19, 20, 21 and 22. *P. acutangulu*: 23, 24, 25 and 26. *P. salutare*: 27, 28 and 29. *P. guajava*: 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43 and 44.

de la variabilidad, el segundo (CP2) 21,87% y el tercero (CP3) 15,26%.

En el cuadro 2 se muestran las características que aportaron en mayor proporción a la variabilidad de los tres primeros componentes.

Con relación a las variables cualitativas, el análisis de frecuencia generó los resultados presentados en el cuadro 3 cuando se compararon las tres agrupaciones. Resaltado se presentan los caracteres que mayormente

Group 1 (*P. guineense*, *P. sartorianum* and *P. guajava*)

Quantitative morphological traits

Length and wide of leaves equal to 8.72 cm and 3.96 cm, respectively; the average size of sepals of 1.64 cm and length of the pedicel 1.45 cm.

Qualitative morphological traits

The stipules were persistent in most of the individuals (77.77%);

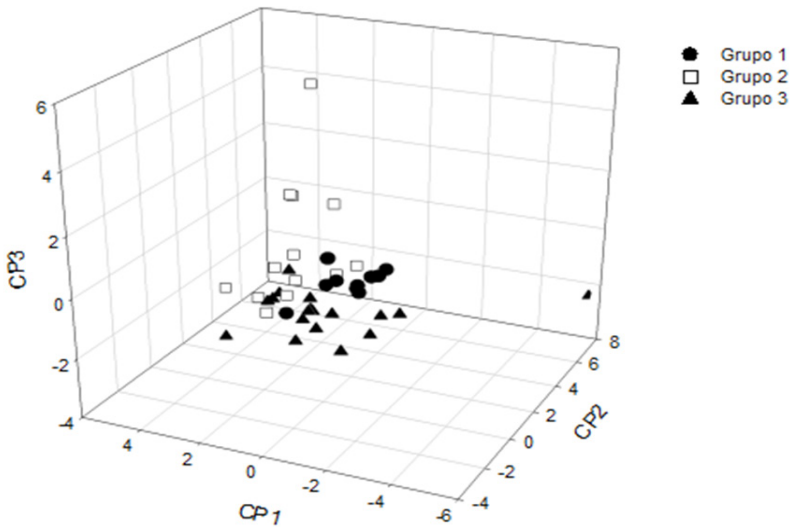


Figura 2. Ordenación de los componentes principales generados por las características anatómicas, morfológicas y fitoquímicas en especies de *Psidium*. Grupo 1 (círculos rellenos): *P. guajava*, *P. guineense* y *P. sartorianum* ; grupo 2 (cuadrados vacíos): *P. maribense*, *P. acutangulum*, *P. guajava* y *P. guineense*; grupo 3 (triángulos rellenos): *P. guajava*, *P. salutare* y *Calycolpus moritzianus*.

Figure 2. Management of the main components generated by the anatomical, morphological and phytochemicals characteristics in *Psidium* species. Group 1 (filled circles): *P. guajava*, *P. guineense* and *P. sartorianum*; Group 2 (empty squares): *P. maribense*, *P. acutangulum*, *P. guajava* and *P. guineense*; Group 3 (filled triangles): *P. guajava*, *P. salutare* and *Calycolpus moritzianus*.

Cuadro 1. Valores propios y proporción de la varianza para los 13 componentes principales con relación a las características anatómicas, morfológicas y fitoquímicas determinadas en especies de *Psidium*.

Table 1. Own values and variance proportion for the 13 major components in relation to anatomical, morphological and phytochemicals characteristics in *Psidium* species.

Componente		Proporción de la varianza	
Principal	Valores propios	Propia	Acumulada
CP1	3,41860655	0,2630	0,2630
CP2	2,84310356	0,2187	0,4817
CP3	1,98427533	0,1526	0,6343

Cuadro 2. Vectores propios para los tres primeros componentes principales (CP) con relación a las características anatómicas, morfológicas y fitoquímicas determinadas en especies de *Psidium*.

Table 2. Own vectors for the three main components (MC) in relation to anatomical, morphological and phytochemicals characteristics in *Psidium* species.

Variables	CP1	CP2	CP3
Longitud de la hoja (cm)	0,231024	-0,351625	-0,071698
Ancho de la hoja (cm)	0,302705	-0,314187	-0,145354
Longitud del pedicelo (cm)	-0,046581	-0,145959	0,334886
Tamaño de los sépalos (cm)	0,323324	0,204102	0,187514
Grosor pared células epidérmicas (µm)	0,160314	0,195363	0,492908
Ancho de estoma (µm)	0,178429	0,211202	0,461951
Longitud tricomas (µm)	-0,148787	0,020128	-0,441382
Grosor parénquima empalizada (µm)	0,413268	0,176011	-0,174144
Grosor parénquima esponjoso (µm)	0,293595	0,334775	-0,244514
Grosor mesofilo (µm)	0,389650	0,309423	-0,247083
Miricetina (g ·100 g ⁻¹)	-0,371742	0,112069	0,030304
Kaempferol (g ·100 g ⁻¹)	-0,214701	0,450545	0,009446

Cuadro 3. Proporción obtenida para los estados de caracteres morfológicos y anatómicos evaluados en especies de *Psidium*.

Table 3. Proportion obtained for the morphological and anatomical traits evaluated in *Psidium* species.

Variable/Grupo	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
MORFOLÓGICAS			
Presencia de estípulas	Caedizas=22,23%; persistentes=77,77%	Caedizas=80%; persistentes=20%	Presente=100%
Orientación de las hojas	Erectas= 93,75%; planas= 6,25%	Erectas= 94,12%; planas= 5,88%	Erectas= 100%
Forma de la hoja	Elíptica=100%	Elíptica=64,71%; oval=23,53%; lanceolada=5,88%; obovada=5,88%	Elíptica=84,60%; lanceolada=15,4%
Pubescencia en el envés de la hoja	Ausente=22,22%; presente=77,78%	Ausente= 40%; presente=60%	Ausente= 15,38%; presente=84,62%
Curvatura del nervio medio	Ausente=22,22%; presente=77,78%	Ausente=100%; presente=0%	Ausente=84,62%; presente=15,38%
Filotaxia de las hojas	Opuestas=25%; opuestas decusadas =75%	Opuestas=23,53%; opuestas decusadas =76,47%	Opuestas decusadas =100%
Número de pares de nervaduras	Baja (< a 10 pares)= 22,22%; mediana (≥ a 10 ≤ a 16 pares)=55,55%; alta (> a 16 pares)=22,22%	Mediana (≥ a 10 ≤ a 16 pares)=50%; alta (> a 16 pares)=50%	Baja (< a 10 pares)= 23,07%; alta (> a 16 pares)=76,93%
Tipo de inflorescencia	Solitarias=57,4%; cima bípara=35,18%; Ambas=7,40%	Solitarias= 70%; cima bípara=20%; ambas=10%	Solitarias=40%; cima bípara=40% ambas=20%

Se resaltaron en negrillas las variables que mayormente aportaron a la distinción de los grupos.

Cuadro 3. Proporción obtenida para los estados de caracteres morfológicos y anatómicos evaluados en especies de *Psidium* (Continuación).

Table 3. Proportion obtained for the morphological and anatomical traits evaluated in *Psidium* species (Continuation).

Variable/Grupo	Grupo 1	ANATÓMICAS		Grupo 2	Grupo 3
Tipo de epidermis	Simple= 100%	Simple= 100%		Simple= 100%	Simple= 100%
Forma de células epidérmicas	Rectangulares= 6,25%; ovales=93,75%	Rectangulares= 17,63%; ovales=82,35%		Rectangulares= 17,63%; ovales=82,35%	Ovales=100%
Tamaño relativo de los estratos epidérmicos	Adaxial=abaxial=6,25%; Adaxial>abaxial=93,75%	Adaxial=abaxial=17,65%; Adaxial>abaxial=82,35%		Adaxial=abaxial=17,65%; Adaxial>abaxial=82,35%	Adaxial>abaxial=100%
Estratos celulares sub-epidérmicos	Presente=100%	Presente=94,12%; Ausente=5,88%		Presente=94,12%; Ausente=5,88%	Presente=100%
Número de estratos sub-epidérmicos	Un estrato= 25%; dos estratos=68,75%; tres estratos=6,25%	Un estrato= 50%; dos estratos=20%; tres estratos=30%		Un estrato= 50%; dos estratos=20%; tres estratos=30%	0 estratos= 15,38%; un estrato= 23,07%; dos estratos=30%; tres estratos=31,53%
Forma de las glándulas secretoras	Redondeada= 100%	Redondeada= 100%		Redondeada= 100%	Redondeada= 100%
Forma de las células adyacentes a las glándulas secretoras	Paredes anticlinales sinuosas= 100%	Paredes anticlinales sinuosas= 100%		Paredes anticlinales sinuosas= 100%	Paredes anticlinales sinuosas= 100%
Distribución de las cavidades secretoras en la superficie foliar	Ambas superficies= 100%	Ambas superficies= 100%		Ambas superficies= 100%	Ambas superficies= 100%

Se resaltaron en negrillas las variables que mayormente aportaron a la distinción de los grupos.

Cuadro 3. Proporción obtenida para los estados de caracteres morfológicos y anatómicos evaluados en especies de *Psidium* (Continuación).

Table 3. Proportion obtained for the morphological and anatomical traits evaluated in *Psidium* species (Continuation).

Variable/Grupo	Grupo 1	ANATÓMICAS		Grupo 2	Grupo 3
Hoja según presencia de estomas	Hipoestomática= 75%; anfiestomática= 25%	Hipoestomática= 90%; anfiestomática= 10%	Hipoestomática= 100%	Hipoestomática= 100%	
Tipo de estoma	Paracítico= 100%		Paracítico= 100%	Paracítico= 100%	
Distribución de estomas	Uniforme= 100%		Uniforme= 100%	Uniforme= 100%	
Tipo de tricoma	Unicelular= 100%		Unicelular= 100%	Unicelular= 100%	
Tipo de mesofilo	Bifacial= 100%		Bifacial= 100%	Bifacial= 100%	
Forma de las células del parénquima empalizada	Alargada= 62,50%; elíptica= 37,50%		Alargada= 76,47%; elíptica= 23,53%	Alargada= 100%	
Grado de diferenciación del parénquima esponjoso	Poco diferenciado=40%; diferenciado= 60%	Poco diferenciado=75%; diferenciado= 25%	Poco diferenciado= 100%	Poco diferenciado= 30,76%; diferenciado=69,24%	
Presencia de idioblastos	Presentes=100%		Presentes= 100%	Presentes= 100%	
Forma de la nervadura central	Biconvexa= 6,67%; plano-convexa= 73,33% cóncavo-convexa= 20%		Plano-convexa= 53,85%; cóncavo-convexa= 38,46%; otra= 7,69%	Cóncavo-convexa= 100 %	
Tipo de haz vascular principal	Bicolateral= 100%		Bicolateral= 100%	Bicolateral= 100%	

Se resaltaron en negrillas las variables que mayormente aportaron a la distinción de los grupos.

Cuadro 1. Proporción obtenida para los estados de caracteres morfológicos y anatómicos evaluados en especies de *Psidium* (Continuación).
Table 1. Proportion obtained for the morphological and anatomical traits evaluated in *Psidium* species (Continuación).

Variable/Grupo	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
	ANATÓMICAS		
Forma del haz vascular principal	En arco= 11,11%; semi-arco= 66,66; casi plano= 22,22%	En arco= 70%; semi-arco= 30%	En arco= 76,93%; casi plano= 23,07%
Presencia de haces vasculares secundarios	Presentes= 6,25%; ausentes= 93,75%	Presentes= 5,88%; ausentes= 94,12%	Presentes= 0%; ausentes= 100%
Forma de las células parenquimáticas en el haz vascular principal.	Isodiamétricas= 100%	Isodiamétricas= 100%	Isodiamétricas= 100%

Se resaltaron en negrillas las variables que mayormente aportaron a la distinción de los grupos.

incidieron en la diferenciación de las mismas.

A continuación se presentan las características distintivas para cada grupo de especies, considerando las variables cuantitativas y cualitativas más determinantes en la discriminación de los mismos, presentándose en el cuadro 4 la comparación de los caracteres cuantitativos.

Grupo 1 (*P. guineense*, *P. sartorianum* y *P. guajava*)

Caracteres morfológicos cuantitativos

Longitud y ancho de las hojas igual a 8,72 cm y 3,96 cm, respectivamente; tamaño de los sépalos en promedio 1,64 cm, y longitud del pedicelo 1,45 cm.

Caracteres morfológicos cualitativos

Las estípulas fueron persistentes en la mayoría de los individuos (77,77%); hojas de forma elípticas (100%); 22,22% de los individuos analizados no presentaron pubescencia en el haz de las hojas, ni curvatura en el nervio medio de la lámina foliar; con respecto al número de pares de nervaduras 55,55% presentó entre 10 a 16 pares de nervaduras; el tipo de flor fue mayoritariamente solitaria (57,4%), un 35,18% de los individuos presentó inflorescencia tipo cima bípara y en 7,40% se determinó ambos tipos de flor e inflorescencia.

Caracteres anatómicos cuantitativos

Grosor de la pared de las células epidérmicas igual a 1,42 μm , el ancho de los estomas correspondió a 14,85 μm , así como una longitud

elliptic-shape leaves (100%); 22,22% of the analyzed individuals did not present pubescence in the upper side of leaves, neither curve in the medium nerve of the foliar lamina; regarding the pair number of nerves 55,55% presented from 10 to 16 pairs of nerves; the type of flower was mainly solitary (57,4%), 35,18% of the individuals presented biparous inflorescence and in 7,40% were determined both types of flower and inflorescence.

Quantitative anatomical traits

Thickness of the wall of epidermis cells equal to 1.42 μm , the width of the stomas corresponded to 14.85 μm , as well as a longitude of trichome of 257.08 μm ; the thickness of the palisade parenchyma and spongy parenchyma was equal to 53.09 to 65.55 μm , respectively, determining 118.56 μm of the mesophyll thickness.

Qualitative anatomical traits

In 68.75% of the individuals were observed two sub-epidermis stratus, a sub-epidermis stratus in 25% of the individuals, and 6.25% presented three stratus. The type of leaf according to the presence of stomas was mostly hypo-stomata (75%) and 25% was anphystomatal. Sixty percent of the individuals presented a differentiated spongy parenchyma. Finally, the shape of the main vascular upper side in this group was mostly semi-arcad (66.66%), and the remaining distribution was 22.22% for the almost-flat shape and 11.11% in arc.

Phytochemical traits

There were concentrations of flavonoids myricetin, luteolin and

Cuadro 4. Promedio y desviación estándar de los caracteres cuantitativos de especies de *Psidium* correspondientes a los grupos 1, 2 y 3.

Table 4. Average and standard deviation of quantitative traits of *Psidium* species corresponding to groups 1, 2 and 4.

Variable	Grupo 1 Promedio y desviación estándar	Grupo 2 Promedio y desviación estándar	Grupo 3 Promedio y desviación estándar
Longitud de la hoja (cm)	8,72 ± 3,14	8,90 ± 2,45	8,12 ± 3,14
Ancho de la hoja (cm)	3,96 ± 1,50	3,83 ± 1,25	3,82 ± 1,40
Tamaño de los sépalos (cm)	1,64 ± 0,49	1,36 ± 0,28	2,01 ± 0,53
Longitud del pedicelo (cm)	1,45 ± 0,37	1,92 ± 0,94	1,44 ± 0,66
Grosor de la pared de la célula epidérmica (µm)	1,42 ± 0,36	1,57 ± 0,47	2,51 ± 1,40
Ancho de estoma (µm)	14,85 ± 2,57	14,80 ± 1,41	23,82 ± 16,60
Longitud de tricoma (µm)	257,08 ± 48,98	135,03 ± 23,44	122,53 ± 26,98
Grosor del parénquima empalizada (µm)	53,09 ± 17,29	29,44 ± 11,64	59,47 ± 11,12
Grosor del parénquima esponjoso (µm)	65,55 ± 21,66	39,69 ± 12,33	78,61 ± 34,51
Grosor del mesofilo (µm)	118, 56 ± 31,68	69,14 ± 11,71	138,07 ± 37,73
miricetina (g ·100 g ⁻¹)	0,06 ± 0,09	0,12 ± 0,11	0,02 ± 0,018
luteonina (g ·100 g ⁻¹)	0,07 ± 0,26	0	0,03 ± 0,04
kaempferol (g ·100 g ⁻¹)	0,01 ± 0,027	0	0,004 ± 0,012

de tricomas de 257,08 µm; el grosor del parénquima en empalizada y del parénquima esponjoso fue igual a 53,09 y 65,55 µm, respectivamente, determinando 118,56 µm de espesor del mesofilo.

Caracteres anatómicos cualitativos

En el 68,75% de los individuos se observaron dos estratos sub-

kaempferol with the following averages: 0.06; 0.07 and 0.01 g ·100 g⁻¹, respectively.

Group 2 (*P. maribense*, *P. guajava* and *P. guineense*)

Quantitative morphological traits

Average of the leaves longitude equal to 8.90 cm, their width was equal to 3.83 cm, the size of the sepals

epidérmicos, un estrato sub-epidérmico en el 25% de los individuos y 6,25% presentó tres estratos. El tipo de hoja según la presencia de estomas fue en mayor proporción hipoestomática (75%) y en el 25% fue anfiestomática. Un 60% de los individuos presentó el parénquima esponjoso diferenciado. Por último, la forma del haz vascular principal en este grupo fue predominantemente semi-arqueada (66,66%), y la distribución restante fue 22,22% para la forma casi plana y 11,11% en arco.

Caracteres fitoquímicos

Se presentaron concentraciones de los flavonoides miricetina, luteonina y kaempferol con los siguientes promedios: 0,06; 0,07 y 0,01 g·100 g⁻¹, respectivamente.

Grupo 2 (*P. maribense*, *P. guajava* y *P. guineense*)

Caracteres morfológicos cuantitativos

Promedio de longitud de las hojas igual a 8,90 cm, el ancho de la misma equivalió a 3,83 cm, el tamaño de los sépalos fue 1,36 cm y la longitud del pedicelo correspondió a 1,92 cm. Caracteres morfológicos cualitativos: las estípulas fueron mayormente de tipo caedizas (80%); la forma de las hojas fue en su mayoría elíptica (64,71%), seguida por la forma oval (23,53%) y en menor proporción lanceolada y obovada, con igual porcentaje (5,88%). En el haz de las láminas foliares se observó pubescencia en un 60% de los individuos, mientras que en un 40% no; sin evidencia de curvatura en el nervio medio de las hojas en 100% de los individuos. Este grupo presentó 50% de los individuos con más de 16

was 1.36 cm and the longitude of the pedicel corresponded to 1.92 cm.

Qualitative morphological traits

The stipules were mainly deciduous (80%), the shape of the leaves were mostly elliptic (64.71%), followed by an oval-type shape (23.53%) and in lower proportion lanceolate with the same percentage (5.88%). In the upper side of foliar laminas was observed pubescence in 60% of the individuals, but it was not observed in 40%; without any evidence of the curve in the medium nerve of leaves in 100% of the individuals. This group presented 50% of the individuals with more than 16 pairs of nerves and equal percentage between 10 and 16 pairs; most part of these presented solitary flowers (70%), 20% of biparous inflorescence and 10% both types.

Quantitative anatomical traits

The thickness of the walls of epidermis cells corresponded to 1.57 μm, the stomas had a width equal to 14.80 μm, the trichome a longitude of 135.03 μm, and the mesophyll had a transversal measure of 69.14 μm, when added the palisade parenchyma and spongy parenchyma, measuring each 29.44 μm and 39.69 μm, respectively.

Qualitative anatomical traits

Fifty percent of the individuals presented a sub-epidermal stratus, meanwhile. 30% showed three stratus and 20% presented two layers or cellular stratus. The leaves according to the presence of stomas in the surface of the foliar lamina were mostly hypo-stomatata (90%) and only 10% anphystomatata. The spongy parenchyma was not well

pares de nervaduras e igual porcentaje entre 10 y 16 pares; la mayor parte de éstos presentó flores solitarias (70%), 20% inflorescencia tipo cima bípara y 10% ambos tipos.

Caracteres anatómicos cuantitativos

El grosor de las paredes de las células epidérmicas correspondió a 1,57 μm , los estomas presentaron un ancho igual a 14,80 μm , los tricomas una longitud de 135,03 μm , y la región del mesófilo midió en sección transversal 69,14 μm , cuando se sumó el parénquima empalizada y el parénquima esponjoso que midieron cada uno 29,44 y 39,69 μm ; respectivamente.

Caracteres anatómicos cualitativos

El 50% de los individuos presentó un estrato sub-epidérmico, mientras que el 30% evidenció tres estratos, y 20% presentó dos capas o estratos celulares. Las hojas según la presencia de estomas en la superficie de la lámina foliar fueron mayoritariamente hipoestomáticas (90%) y solo el 10% anfiestomática. El parénquima esponjoso fue mayoritariamente poco diferenciado (75%) y en menor proporción diferenciado (25%). La forma del haz vascular principal fue en la mayoría de los casos en arco (70%) y menos frecuente fue la forma semi-arqueada (30%).

Caracteres fitoquímicos

En cuanto a la presencia de flavonoides, a este grupo solo se le detectó miricetina en concentración de 0,12 $\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$.

Grupo 3 (*P. guajava*, *P. salutare* y *C. moritzianus*)

differentiated (75%) and in lower proportion differentiated (25%). The shape of the main vascular upper side was in most of the cases an arc (70%) and less frequently was the semi-arc shape (30%).

Phytochemical traits

Regarding the presence of flavonoids, only to this group was detected myricetin at 0.12 $\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$.

Group 3 (*P. guajava*, *P. salutare* and *C. moritzianus*)

Quantitative morphological traits

The longitude and width of leaves are equal to 8.12 cm and 3.82 cm, respectively; the sepals measured 2.01 cm and the pedicel 1.44 cm.

Qualitative morphological traits

Most of the individuals presented deciduous stipules (84.62%); the shape of the foliar laminas was elliptic in 84.60% and lanceolate in 15.4%; 84.62% presented pubescence in the upper side and absence of curvature in the medium vein of the leaf, prevalence of high number of nerve pairs (76.93%); solitary flowers 40%, biparous inflorescence 40% and both types 20%.

Quantitative anatomical traits

Wall thickness of the epidermis cells equal to 2.51 μm , the width of the stomas was 23.82 μm , trichome with a longitude equal to 122.53 μm ; the mesophyll measured 138.07 μm , considering that palisade and spongy parenchyma measured 59.47 and 78.61 μm , respectively.

Caracteres morfológicos cuantitativos

Longitud y ancho de las hojas igual a 8,12 cm y 3,82 cm, respectivamente; los sépalos midieron 2,01 cm y el pedicelo 1,44 cm.

Caracteres morfológicos cualitativos

La mayoría de los individuos presentó estípulas caedizas (84,62%); la forma de las láminas foliares fue elíptica en 84,60% y lanceolada en 15,4%; 84,62% presentaron pubescencia en el haz y ausencia de curvatura en la vena media de la hoja, prevalescencia de alto número de pares de nervaduras (76,93%); flores solitarias 40%, inflorescencias tipo cimas bíparas 40% y ambos tipos 20%.

Caracteres anatómicos cuantitativos

Grosor de las paredes de las células epidérmicas igual a 2,51 μm , el ancho de los estomas fue 23,82 μm , tricomas de longitud igual a 122,53 μm ; con relación al mesofilo este midió 138,07 μm , considerando que el parénquima en empalizada y el esponjoso midieron 59,47 y 78,61 μm , respectivamente.

Caracteres anatómicos cualitativos

El 31,53% de los individuos presentaron tres estratos sub-epidérmicos, 30% dos estratos, 23,07% un estrato y en un 15,38% no se evidenciaron estas capas celulares; de acuerdo a la presencia de estomas todas las hojas fueron hipoestomáticas; en un 69,24% de los individuos se observó el parénquima esponjoso diferenciado; en 76,93% se evidenció una forma del haz vascular central arqueada.

Qualitative anatomical traits

In 31.53% was observed that individuals presented three sub-epidermis stratus, 30% two stratus, 23.07% one stratus and 15.38% without any evidence of cellular layers; according to the presence of stomas all leaves were hypo-stomatal; in 69.24% of the individuals was observed the differentiated spongy parenchyma; in 76.93% was evidence an arced central vascular upper side.

Phytochemical traits

In 100% of the cases were determined myricetin, luteolin and kaempferol in concentrations of 0.02; 0.03 and 0.0044 $\text{g} \cdot 100 \text{g}^{-1}$, respectively.

The grouping analysis determined the presence of *P. guajava* in the three groups obtained, as well as *P. guineense* in groups 1 and 2. The same result was observed in the anatomical analysis (Rivero, 2013) and phytochemical (Rivero *et al.*, 2013) performed individually. It is important to remember that only in the morphological analysis was obtained a complete delimitation of these two species, grouping in the same conformation (Rivero *et al.*, 2012). In the phenetic analysis when all the evaluated variables were integrated occurred a deficient delimitation of them, and associations in the different conformation appeared. This could be explained considering the morphology and better distribution in the area under research that presented both species, even with the possibility of having the presence of "morphotypes" as a result of the adaptation to different habitats where were located. Another

Caracteres fitoquímicos

Se determinó en el 100% de los casos miricetina, luteonina y kaempferol en concentraciones de 0,02; 0,03 y 0,0044 g·100 g⁻¹, respectivamente.

El análisis de agrupamiento determinó la presencia de la especie *P. guajava* en los tres grupos obtenidos, así como a *P. guineense* en los grupos 1 y 2. Este mismo resultado se observó en el análisis anatómico (Rivero, 2013) y fitoquímico (Rivero *et al.*, 2013) realizados previamente de forma individual. Es importante recordar que solo en el análisis morfológico se obtuvo una delimitación completa de estas dos especies, agrupándose en una misma conformación (Rivero *et al.*, 2012). En el análisis fenético cuando se integraron todas las variables evaluadas en los análisis previos, nuevamente ocurrió una deficiente delimitación de las mismas, así como también aparecieron asociadas en las diferentes conformaciones. Ello podría ser explicado considerando la cercanía morfológica y mayor distribución en el área de estudio que presentaron ambas especies, incluso pudiéndose estar ante la presencia de “morfotipos” producto de la adaptación a los diversos hábitats donde se localizaron. Tampoco se podría descartar la posibilidad de que las variables de naturaleza anatómica y fitoquímica evaluadas no fueron las más informativas para lograr la completa delimitación de todas las especies.

No obstante, aun cuando los siguientes datos no se pudieron considerar como concluyentes, es conveniente mencionar que el 83,33% de los individuos analizados de *P. guineense* se incorporaron al grupo

possibility is that the anatomical and phytochemical evaluated variables were not too informative to obtain the complete delimitation of all the species.

Nevertheless, even when the data that will be presented could not be considered as concluding, it is convenient to mention that 83.33% of the analyzed individuals of *P. guineense* were incorporated to the group 1 and 53.33% of *P. guajava* to the group 3.

Regarding the studied variables, in terms of longitude and width of leaves, the highest average value of the longitude (8.90 cm) was observed in group 2 (*P. acutangulum*, *P. maribense*, *P. guajava* and *P. guineense*), while in group number 3 (*P. guajava*, *P. salutare* and *C. moritzianus*) was observed the lowest value (8.12 cm). In this sense, it is convenient to remember that in the previous morphological analysis was determined a high longitude of the leaves (7 to 10.5 cm) in *P. acutangulum*; meanwhile, *C. moritzianus* presented a low comparative value (4.5 to 7.5 cm), providing these species their corresponding proportions to the groups obtained in the integrated analysis.

The width of the leaves did not present any variation when comparing groups 2 and 3 (3.83 cm), group 1 presented the highest value of 3.96 cm, mainly with *P. guineense* which registered even 6 cm of the width of leaves.

Another morphological variable that predominated was the size of the sepals. In group 3 was found the highest value corresponding to this trait, which as 2.01 cm; meanwhile,

1, y el 53,33% de los de *P. guajava* al grupo 3.

Haciendo referencia a las variables estudiadas, en lo que respecta a la longitud y ancho de las hojas, el mayor valor promedio de longitud (8,90 cm) lo presentó el grupo 2 (*P. acutangulum*, *P. maribense*, *P. guajava* y *P. guineense*), mientras que el grupo 3 (*P. guajava*, *P. salutare* y *C. moritzianus*) registró el valor más bajo (8,12 cm). En este sentido, es conveniente recordar que en el análisis morfológico previo se determinó en *P. acutangulum* un alto valor de longitud de las hojas (7 a 10,5 cm), mientras que *C. moritzianus* presentó un bajo valor comparativo (4,5 a 7,5 cm), aportando estas especies su respectiva proporción a los grupos obtenidos en el análisis integrado.

El ancho de las hojas no presentó variación al comparar los grupos 2 y 3 (3,83 cm); el grupo 1 presentó el valor más alto el cual fue 3,96 cm, donde se encontró principalmente *P. guineense*, especie que registró hasta 6 cm de ancho de las hojas.

Otra variable de tipo morfológico predominante fue el tamaño de los sépalos. En el grupo 3 se encontró el mayor valor correspondiente a este carácter, el cual fue 2,01 cm; mientras que el grupo 2 presentó el menor valor (1,36 cm). Estos resultados coincidieron parcialmente con el obtenido en el análisis morfológico, donde las especies *P. guajava* (1,48 cm) y *C. moritzianus* (2,90 cm) presentaron altos promedios de ésta variable; sin embargo, se distribuyeron en agrupaciones diferentes cuando se compararon solo caracteres morfológicos (Rivero *et al.*, 2012).

group 2 presented the lowest value (1.36 cm). These results partially agreed to the ones obtained in the morphological analysis, where the species *P. guajava* (1.48 cm) and *C. moritzianus* (2.90 cm) presented high values of this variables; however, were distributed in different groups when were only compared morphological traits (Rivero *et al.*, 2012).

In relation to the longitude of the pedicel, the highest value corresponded to group 2 with 1.93 cm; group 1 and group 3 presented very similar averages (1.449 and 1.446 cm, respectively). The highest value (2 to 3 cm) was determined in *P. acutangulum*, when compared to the other species that shared the same group in the morphological analysis.

Regarding the anatomic variables, the individual analysis agreed completely to the results obtained in the current research in relation to the generation of three groups integrated by the same species (Rivero, 2013); nevertheless, in the integrated only six anatomic variables were determinant in these groupings.

The wall thickness of epidermis cells was higher in group 3 (2.51 μm), while the lowest was obtained in group 1 (1.41 μm); group 2 registered an average of 1.57 μm . The width of this stoma was similar when comparing groups 1 and 2, obtaining the highest value in group 3 (23.83 μm). In relation to the longitude of trichomes, it was observed a higher variation, registering the highest and lowest average in group 1 (257.08 μm) and group 3 (122.52 μm), respectively.

The highest thickness value of the mesophyll corresponded to group

En relación a la longitud del pedicelo, el mayor valor correspondió al grupo 2 con 1,93 cm; el grupo 1 y el grupo 3 presentaron promedios muy similares (1,449 y 1,446 cm, respectivamente). En *P. acutangulum* se determinó el valor más alto de esta variable (2 a 3 cm), al compararlo con las otras especies que compartieron el mismo grupo en el análisis morfológico.

Con respecto a las variables anatómicas el análisis individual coincidió completamente con los resultados obtenidos en éste, en cuanto a la generación de tres grupos integrados por las mismas especies (Rivero, 2013); no obstante, en el integrado solo seis variables anatómicas fueron las determinantes en dichos agrupamientos.

El grosor de las paredes de las células epidérmicas fue mayor en el grupo 3 (2,51 μm), mientras que el menor se obtuvo en el grupo 1 (1,41 μm); el grupo 2 registró un promedio de 1,57 μm . El ancho de estoma fue muy similar al comparar los grupos 1 y 2, obteniéndose el mayor valor en el grupo 3 (23,83 μm). Con respecto a la longitud de tricomas se observó una mayor variación, registrándose el mayor y menor valor promedio en el grupo 1 (257,08 μm) y grupo 3 (122,52 μm), respectivamente.

El mayor valor de grosor del mesofilo correspondió al grupo 3 (138,07 μm), mientras que el grupo 2 presentó el menor valor (64,23 μm). En un estudio anatómico se evidenció que *P. guajava* y *P. guineense* presentaron un amplio mesofilo por la existencia del parénquima en empalizada conformado por dos a tres estratos

3 (138,07 μm), meanwhile, group 2 presented the lowest value (64.23 μm). In an anatomic study was observed that *P. guajava* and *P. guineense* presented a wide mesophyll by the existence of the palisade parenchyma formed by two or three cellular stratus and a wide section of the spongy parenchyma with four to five lines of elongated cells (Rivero *et al.*, 2011); in other research it was determined that *P. acutangulum* and *P. maribense* presented the lowest values of the mesophyll thickness (56.16 and 60.57 μm , respectively) when compared to other species of the genus (Rivero, 2013).

Out of the five flavonoids considered in the individual phytochemical analysis: apigenina, quercetin, luteolin, myricetin and kaempferol (Rivero *et al.*, 2013), the last three were selected as determiners in the grouping of the integrated analysis. Myricetin was the flavonoid present in all the groups that registered the highest concentration in group 2 (0.12 g·100 g⁻¹), and the lowest in group 3 (0.02 g·100 g⁻¹), where were concentrated the highest proportion of individuals analyzed of *P. guajava*. This result equal to 200 mg·kg⁻¹, might be compared to the ones obtained in ripened leaves of *P. guajava* where were detected 208.44 mg·kg⁻¹ of myricetin, specifically in July, when compared to different seasons of the year for determining the highest concentration of flavonoids, attributing it a very important effect on it. Additionally, the highest concentration of myricetin was determined in the cortex, and secondly in the leaves when were evaluated the different organs of the

celulares y una amplia sección de parénquima esponjoso comprendiendo cuatro a cinco filas de células de forma alargada (Rivero *et al.*, 2011); mientras que en otra investigación se determinó que *P. acutangulum* y *P. maribense* presentaron los menores valores de grosor del mesofilo (56,16 y 60,57 μm , respectivamente) al compararlos con otras especies del género (Rivero, 2013).

De los cinco flavonoides considerados en el análisis fitoquímico individual: apigenina, quercetina, luteonina, miricetina y kaempferol (Rivero *et al.*, 2013), solo se seleccionaron los tres últimos como determinantes en el agrupamiento en el análisis integrado. La miricetina fue el flavonoide que estuvo presente en todos los grupos; registró la mayor concentración en el grupo 2 (0,12 $\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$), y la menor en el grupo 3 (0,02 $\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$), en el cual se concentró la mayor proporción de individuos analizados de la especie *P. guajava*. Este resultado, equivalente a 200 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, podría ser comparado con los obtenidos en hojas maduras de *P. guajava* donde se detectó 208,44 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ de miricetina específicamente en el mes de julio al comparar diferentes épocas del año para la determinación de la mayor concentración de flavonoides, atribuyéndole un efecto importante sobre la misma. También se determinó la mayor concentración de miricetina en la corteza y en segundo lugar en las hojas cuando se evaluaron los diferentes órganos de la planta (Vargas-Álvarez *et al.*, 2006).

Otro aspecto resaltante lo constituyó la no detección, con la metodología aplicada, de luteonina

plant (Vargas-Álvarez *et al.*, 2006).

Other important aspect was constituted by the undetection of luteolin and kaempferol in group 2 with the methodology applied. This result agreed to the one obtained in the individual analysis, remembering that in *P. acutangulum* and *P. maribense* that integrated group 2, these flavonoids were not detected (Rivero *et al.*, 2013). The probability that these compounds are present in other vegetable organs has been established (Izco, 1997). Finally, it is important to remember that the results might present variations not only depending on the genetic factor but may also be influenced by the conditions where plants grew (Vargas-Álvarez *et al.*, 2006).

Generally when comparing the results of the individual analysis with the integrated it was evidenced that in the latter there was a higher agglomeration of the species in three groups, product of a rigorous selection since were only considered the variables with more provision to their associations. Even though the anatomic analysis was similar regarding the formation of the groups when compared to the integrated analysis, it must be considered that in the integrated most of the selected variables were of this nature.

In previous researches it has been determined that when multivariate analysis were applied, the selection of discriminating variables substantially contributed to understand the systematic relations among the species. Thus, Silva *et al.* (2011) in *Hyptis* of Lamiaceae family, carried out a multivariate analysis to determine the distribution patterns of

y kaempferol en el grupo 2. Este resultado coincidió con lo obtenido en el análisis individual, recordando que en *P. acutangulum* y *P. maribense*, quienes integraron el grupo 2, no se detectaron estos flavonoides (Rivero *et al.*, 2013). Se ha establecido la probabilidad de que estos compuestos se encuentren presentes en otros órganos vegetales (Izco, 1997). Finalmente, es importante recordar que los resultados podrían presentar variaciones no solo dependiendo del factor genético, sino que podrían ser influenciados por las condiciones donde crecieron las plantas (Vargas-Álvarez *et al.*, 2006).

En general, en la comparación de los resultados de los análisis individuales con los del integrado, se evidenció que en este último, hubo una mayor agrupación de las especies en tres grandes grupos, producto de una selección más rigurosa, ya que se consideraron solo las variables que mayor aporte hicieron para la asociación de las mismas. En el hecho de que el análisis anatómico guardó mucha similitud en cuanto a la conformación de grupos cuando se comparó con el integrado, se debe tomar en cuenta que en éste último la mayor parte de las variables seleccionadas fueron de esta naturaleza.

En investigaciones previas se ha determinado que cuando se aplicaron análisis multivariados, la selección de variables discriminantes contribuyó sustancialmente a dilucidar las relaciones sistemáticas entre especies. Así, Silva *et al.* (2011) en el género *Hyptis* de la familia Lamiaceae, se realizó un análisis multivariado para

the taxa, considering vegetative and reproductive morphological traits; the relations between the examined taxa were expressed as hierarchical groupings (Ward method) using the multiple correspondence analysis, based on fifty traits distributed in 168 status. The percentage map showed the *Hyptis* subdivision in two big groups. The grouping analysis only located in six morphological traits, which were distinguished by a correspondence discriminating analysis, which revealed similar values.

Likewise, Henderson (2004) applied a multivariate statistical analysis in the genus *Hyospathe* (Palmae), applied a multivariate statistical analysis using morphological, qualitative and quantitative data, and was useful to delimitate specimen groups; and the conglomerate analysis allowed the distinction among traits and ranks.

Conclusion

The phenetic analysis allowed selecting the variables: longitude of the leaf, width of the leaf, longitude of the pedicel, size of the sepals, wall thickness of the epidermis wall, width of the stoma, longitude of the trichome, thickness of the palisade parenchyma, thickness of the esponjoso parenchyma, thickness of the mesophyll and the presence and concentration of flavonoids miricetina, luteolin and kaempferol, as important traits for determining the similarity among the species studied, which allowed forming the following groups: 1) *P. guineense*, *P. sartorianum* and *P. guajava*; 2) *P. acutangulum*, *P. maribense*, *P. guajava* and *P. guineense*

determinar los patrones de distribución de los taxa, considerando caracteres morfológicos tanto vegetativos como reproductivos; las relaciones entre los taxa examinados se expresaron como agrupaciones jerárquicas (método de Ward), usando análisis de correspondencia múltiple, basándose en cincuenta caracteres distribuidos en 168 estados de carácter. El mapa porcentual demostró la subdivisión de *Hyptis* en dos grandes grupos. El análisis de agrupamiento se focalizó en solo seis de los caracteres morfológicos, los cuales fueron distinguidos por medio de un análisis discriminante de correspondencia, el cual reveló rasgos similares.

De igual forma, Henderson (2004), en el género *Hyospathe* (Palmae), aplicó un análisis estadístico multivariado empleando datos morfológicos cualitativos y cuantitativos, fue útil para delimitar grupos de especímenes; el análisis de conglomerado permitió la distinción entre caracteres y rasgos.

Conclusión

El análisis fenético permitió seleccionar los caracteres para la determinación de similitud entre las especies estudiadas: longitud de la hoja, ancho de la hoja, longitud del pedicelo, tamaño de los sépalos, grosor de la pared de la célula epidérmica, ancho de estoma, longitud de tricoma, grosor del parénquima en empalizada, grosor del parénquima esponjoso, grosor del mesofilo y la presencia y concentración de los flavonoides miricetina, luteonina y kaempferol, lo cual permitió la conformación de las siguientes agrupaciones: 1) *P.*

and 3) *P. salutare*, *P. guajava* and *C. moritzianus*. The incorporation of *C. moritzianus* with *Psidium* species shows the morphology, anatomy and phytochemical affinity among these taxa. An aspect to clarify is related to the delimitation of the species *P. guajava* and *P. guineense*, requiring the control of the effect produced by the geographic origin and the evaluation of other traits that might contribute to the objective.

End of English version

guineense, *P. sartorianum* y *P. guajava*; 2) *P. acutangulum*, *P. maribense*, *P. guajava* y *P. guineense* y 3) *P. salutare*, *P. guajava* y *C. moritzianus*. La incorporación de *C. moritzianus* con especies del género *Psidium* pone en evidencia la afinidad morfológica, anatómica y fitoquímica entre estos taxa. Un aspecto por dilucidar tiene relación con la delimitación de las especies *P. guajava* y *P. guineense*, para lo cual se debe controlar el efecto producido por el origen geográfico y la evaluación de otros caracteres que puedan contribuir a dicho objetivo.

Literatura citada

- Crisci, J. y M. López. 1983. Introducción a la teoría y práctica de la taxonomía numérica. Organización de Estados Americanos. Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico. Washington, D.C. 131 p.
- Gomes, S., N. Somavilla, K. Gomes-Bezerra, S. do Couto, P. De-Carvalho y D. Graciano-Ribeiro. 2009. Anatomia foliar de espécies de Myrtaceae: contribuições à taxonomia e filogenia. Acta Bot. Bras. 23:223-238.

- Henderson, A. 2004. A multivariate analysis of *Hyospathe* (Palmae). *Am. J. Bot.* 91:953-956.
- Hokche, O., P. Berry y O. Hubber. 2008. Nuevo catálogo de la flora vascular de Venezuela. Fundación Instituto Botánico de Venezuela Dr. Tobías Lasser. Caracas, Venezuela. 859 p.
- Holst, B., L. Landrum and F. Grifo. 2003. Myrtaceae-Plumbaginaceae. p. 1-99. *In*: Berry, P., B. Holst and K. Yatskievych (Eds.). *Flora of the Venezuelan Guayana*. Missouri Botanical Garden Press., Oregon.
- Izco, J. 1997. *Botánica*. McGraw Hill Interamericana de España, Madrid. 781 p.
- Rivero, G. 2013. Revisión sistemática de especies de *Psidium* (Myrtaceae) de Venezuela. Tesis Doctoral. Convenio Doctorados Conjuntos: Universidad del Zulia, Venezuela y Universidad de Córdoba, España. 283 p.
- Rivero, G., D. Pacheco, A. Sánchez, M. Quirós, E. Suárez, J. Fuenmayor y G. Sthormes. 2011. Análisis preliminar de las características anatómicas foliares de *Psidium guajava* L. y *Psidium guineense* Sw. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. 28(Supl.1):129-138.
- Rivero, G., D. Pacheco, J. Fuenmayor, A. Sánchez-Urdaneta, M. Quirós, J. Ortega, B. Bracho y J. Taborda. 2012. Análisis morfológico de especies de *Psidium* (Myrtaceae) presentes en Venezuela. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. 29:72:103.
- Rivero, G., D. Pacheco, L.M. Martín, A. Sánchez-Urdaneta, M. Quirós, J. Ortega, C. Colmenares y B. Bracho. 2013. Flavonoides presentes en especies de *Psidium* (Myrtaceae) de Venezuela. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. 30:217-241.
- SAS Institute, Inc. 2008. *SAS user's guide: Statistics*. Versión 9.1. 3, SAS Inst., Inc. NC, USA.
- Silva, J., H. Ferreira, M. Faria, M. Schlieuwe, M. Rezende, S. Santos, J. Seraphin and P. Ferri. 2011. Multivariate analysis of vegetative and reproductive morphological characters in *Hyptis* Jacq. *Int. J. Bot.* 7:42-52.
- Sneath P. and R. Sokal. 1973. *Numerical taxonomy. The principles and practice of numerical classification*. W.H. Freeman & Co. San Francisco. 573 p.
- Vargas-Álvarez, D., M. Soto, V. González, E. Engleman y A. Martínez. 2006. Cinética de acumulación y distribución de flavonoides en guayaba (*Psidium guajava* L.). *Agrociencia* 40:109-115.
- Wilson, P., M. O'Brien, P. Gadek and C. Quinn. 2001. Myrtaceae revisited: A reassessment of infrafamilial groups. *Am. J. Bot.* 88:2013-2025.