

Flavonoides presentes en especies de *Psidium* (MYRTACEAE) de Venezuela

Flavonoids extracted from *Psidium* species (MYRTACEAE) in Venezuela

G. Rivero-Maldonado¹, D. Pacheco¹, L. M. Martín², A. Sánchez¹,
M. Quirós³, J. Ortega⁴, C. Colmenares⁴ y B. Bracho⁴

¹Universidad del Zulia. Facultad de Agronomía. Departamento de Botánica. Apartado 15205. Maracaibo, Zulia, 4005, Venezuela.

²Departamento de Genética, Universidad de Córdoba-España.

³Departamento Fitosanitario, Facultad de Agronomía-LUZ.

⁴Departamento de Estadística, Facultad de Agronomía-LUZ.

Resumen

Los estudios basados en la identificación de flavonoides, representan una importante herramienta para la obtención de caracteres útiles en tratamientos taxonómicos. Considerando que el género *Psidium* en Venezuela no ha recibido la debida atención en este sentido, y que dentro de la familia Myrtaceae es uno de los grupos con un alto número de representantes en el país, en este trabajo se planteó como objetivo determinar los principales flavonoides presentes en especies de *Psidium* reportadas para Venezuela, con la finalidad de obtener datos útiles que permitan esclarecer, junto a otras fuentes de información, las relaciones taxonómicas dentro del mismo. Se evaluaron las especies: *Psidium acutangulum*, *P. guajava*, *P. guineense*, *P. maribense*, *P. salutare*, *P. sartorianum* y *Calycolpus moritzianus*, recolectadas en diversas localidades del país, cuyas hojas se sometieron a una hidrólisis ácida y posterior determinación empleando HPLC. Se identificaron los flavonoides miricetina, luteonina, quercetina, apigenina y kaempferol. La información obtenida se analizó a través de las técnicas multivariadas: Cluster y Componentes Principales. Los resultados determinaron la formación de 5 grupos donde las especies de *Psidium* y *C. moritzianus* se distribuyeron dependiendo de la presencia y concentración principalmente de kaempferol, miricetina y luteonina. Un factor de variación importante pudo deri-

Recibido el 3-5-2012 • Aceptado el 26-2-2013

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

vase del origen de la muestras, lo cual debe ser considerado en futuras investigaciones. La información generada se complementará con otros caracteres taxonómicos a fin de contribuir a la determinación de los límites genéricos de *Psidium*.

Palabras clave: *Psidium*, flavonoides, Venezuela, fitoquímica.

Abstract

Studies based on the identification of flavonoids represent important tools to get useful traits in taxonomic analyses. The genus *Psidium* in Venezuela has not received attention in this aspect, even though it is one of the best represented genus of the Myrtaceae family. Therefore, is considered necessary to extract and determine the flavonoids present in different *Psidium* species reported in Venezuela, it is also considered that this kind of phytochemical information along with the morphological characters will help to understand the systematic relationships of the species within this genus. Leaves of *Psidium acutangulum*, *P. guajava*, *P. guineense*, *P. maribense*, *P. salutare*, *P. sartorianum* and *Calycolpus moritzianus* were collected from different localities in Venezuela and they were processed via acid hydrolysis of flavonoids using HPLC method. The following flavonoids were extracted from the samples: Miricetin, Luteolin, Quercetin, Apigenin and Kaempferol. The resulting data for all the species was analyzed by multivariate statistical methods of Clustering Procedures and Principal Components analysis. The analysis showed 5 clusters, where the species of *Psidium* and *C. moritzianus* got distributed according to the presence and concentration of kaempferol, miricetina and luteonina. The different sampling locations of the samples could have been an important factor of variation and is recommended to consider this aspect in future researches. The information obtained from this research will be complemented with morphological traits in order to contribute with the generic limits of *Psidium*.

Key words: *Psidium*, flavonoids, Venezuela, phytochemistry.

Introducción

Los metabolitos secundarios de las plantas resultan de la biosíntesis, transformación y degradación de compuestos endógenos mediante proteínas especializadas (Cowan, 1999); entre estos destacan los flavonoides, fenoles, terpenos, aceites esenciales, alcaloides, lecitinas y polipéptidos.

Albornoz (1980) refiere que los alcaloides son frecuentes en las

Introduction

The secondary metabolites of the plants result from the biosynthesis, transformation and degradation of endogenous compounds using specialized proteins (Cowan, 1999); among these are the flavonoids, phenols, terpenes, essential oils, alkaloids, lecithin and polypeptides.

Albornoz, (1980) refers that the alkaloids are frequent in the

angiospermas y consideran que estas moléculas complejas están limitadas a determinados géneros, especies, familias o comunidades, para los cuales son específicos; mientras que los flavonoides, constituyen uno de los grupos de metabolitos secundarios de las plantas superiores que abundan en especies leñosas. Según Marcano y Hasegawa (2002) los flavonoides se encuentran distribuidos en todos los órganos de las plantas, proporcionándoles ventajas fisiológicas y ecológicas, ya que son componentes de esencias que le confieren a la planta aromas para atraer insectos o repeler herbívoros, actuando como disuasorios nutritivos de los últimos.

La fitoquímica comprende el estudio de los metabolitos secundarios de origen vegetal. Los métodos de estudio dependen de los objetivos de la investigación; en Botánica pueden contribuir a la identificación taxonómica de las plantas, a través de la determinación y cuantificación de los compuestos que se encuentran presentes en los extractos vegetales (Marcano y Hasegawa, 2002). Los metabolitos secundarios evolucionaron selectivamente en el reino vegetal, a veces sólo una especie o un grupo de ellas los presentan, de allí su utilidad en Botánica Sistemática.

Según Lucas *et al.* (2005) en la familia Myrtaceae se han generado considerables discordancias entre los autores en cuanto a circunscripción tanto de géneros como de especies; en su mayoría los principales estudios han sido realizados en géneros del paleotrópico, sobre todo australianos, mientras que sólo algunos de los grupos americanos han sido revisados a través de deficientes análisis sistemá-

angiosperms and considers that these complex molecules are limited to determined genres, species, families or communities; meanwhile, the flavonoids constitute one of the secondary metabolites clusters of the superior plants numerous in woody species. According to Marcano and Hasegawa, (2002), the flavonoids are distributed in all the organs of the plants, providing physiological and ecological advantages, since are components that give the plant the aroma to attract insects or repel herbivores, thus, acting as nutritional deterrent of the latter.

The phytochemical comprises the research of the secondary metabolites of vegetal origin. The research methods depend on the research objectives; in Botanic may contribute to the taxonomic identification of the plants, through the determination and quantification of the compounds present in the vegetal extracts (Marcano and Hasegawa, 2002). The secondary metabolites evolved selectively in the vegetal aspect, sometime only one specie or a cluster present it, for that reason their useful aspect in the Systematic Botanic.

According to Lucas *et al.* (2005) in the Myrtaceae family considerable differences have been generated among the authors regarding the circumscription in both the genres and the species; the most known researches have been carried out in genres of the paleotropics, specially Australians, meanwhile, only some of the Americans have been revised after deficient systematic analysis. Its diversity nucleus is in Australia,

tos. Esta familia incluye aproximadamente 133 géneros y más de 3800 especies. Su centro de diversidad está en Australia, sureste asiático y las regiones tropicales y subtropicales del continente Americano, teniendo una pequeña representación en África (Wilson *et al.*, 2001).

En Venezuela, existen 19 géneros de Myrtaceae, 210 especies nativas o naturalizadas, incluyendo 34 especies endémicas (Hokche *et al.*, 2008), dentro de los cuales destaca *Psidium* por incluir especies con importancia frutícola, siendo *P. guajava* (guayaba), una de las plantas más cultivadas en todas las regiones secas, que ha sido naturalizada mucho más allá de su distribución original, presumiblemente, América Tropical.

Psidium es un género conformado por no menos de 100 especies, distribuidas desde México y el Caribe a Uruguay y norte de Argentina en el continente americano, extendiéndose a algunas islas de noreste pacífico (ej. Galápagos). Dentro de esta gran diversidad existen tipos morfológicos muy semejantes entre sí, generándose con ello confusiones a nivel taxonómico. Las grandes variaciones en el estimado del número de especies dentro del género *Psidium* es producto de la existencia de complejos de entidades que pueden por sí mismas ser consideradas especies sencillas o grupos de especies; entre estos se encuentran los complejos *Psidium guineense*, *P. salutare* y *P. cinereum* (Bruce *et al.*, 2003).

Sánchez-Vindas (1990), resalta la importancia de ciertos caracteres morfológicos en mirtáceas (número de lóbulos de cáliz, características de las

Asiatic southeast and the tropical and subtropical regions of the American continent, with a small representation in Africa (Wilson *et al.*, 2001).

In Venezuela, there are 19 genres of Myrtaceae, 210 native or naturalized species, including 34 endemic species (Hokche *et al.*, 2008), out of which stands out *Psidium*, by including species with fruit importance, being *P. guajava* (guava), one of the plants more harvested in all the dry regions, which has been naturalized longer than its original distribution, presumably, Tropical America.

Psidium is a genus formed by no less than 100 species, distributed from Mexico and the Caribbean to Uruguay and the north of Argentina in the American continent, extending to some islands of the pacific northeast (for instance, the Galápagos). Among this huge diversity, there are morphological types similar in between, thus, generating confusions in the taxonomic level. The largest variations in the estimate of the number of species of *Psidium* genus is the product of the existence of complex entities, which might be, by themselves, considered simple or cluster species, among these are the complexes *Psidium guineense*, *P. salutare* and *P. cinereum* (Bruce *et al.*, 2003).

Sánchez-Vindas (1990), mention the importance of some morphological traits in myrtaceae (number of lobules of the calyx, inflorescences characteristics, inclination angle of the lateral nerves, and others) for the division of related species. However, they refer that one of the main problems in the taxonomic

inflorescencias, ángulo de inclinación de los nervios laterales, entre otros), para la separación de especies muy relacionadas. Sin embargo, refiere que uno de los principales problemas en las identificaciones taxonómicas es la imposibilidad de encontrar las plantas con flores y frutos al mismo tiempo, además que las características florales y vegetativas son muy uniformes en toda la familia; por otro lado considera, que a pesar que las características embrionarias son las más importantes para la determinación genérica, no son fáciles de observar en material seco. Así mismo, Gomes *et al.* (2009), atribuyen a los caracteres anatómicos una gran importancia para estudios taxonómicos y evolutivos de Myrtaceae y Myrtales; no obstante plantean que pocos representantes de la flora tropical han sido incluidos en éstos análisis, principalmente los de la tribu Myrteae.

Según Motta *et al.* (2009), el evidente desarrollo de la filogenia molecular, particularmente los estudios conducidos a principio de la década de los noventa basados en secuencias de ácidos nucleicos, ha provocado un decrecimiento en número e importancia de las investigaciones basadas en evidencias quimiotaxonómicas.

En ciertas familias como las Malpighiaceae, se han conducido investigaciones considerando aspectos fitoquímicos para dilucidar las relaciones fenéticas entre sus miembros. Así en *Camarea*, un género endémico de Suramérica, se realizó un análisis mediante la determinación de flavonoides en hojas con la finalidad de indagar su potencial como herramienta taxonómica, analizando patro-

identifications is the impossibility of finding plants with flowers and fruits at the same time, also, the floral and vegetative characteristics are uniform in all the family; on the other hand, they consider that even though the embryonic characteristics are the most important for the generic determination, these are not easy to observe in dry material. Likewise, Gomes *et al.* (2009) attribute the anatomic traits a great importance for taxonomical and evolution researches of Myrtaceae and Myrtales; nevertheless, they state that a small amount of samples of the tropical flora have been included on these analyses, mainly those of the Myrteae tribe.

According to Motta *et al.* (2009), the evident development of the molecular phylogeny, particularly the researchers conducted at the beginning of the nineties based on sequences of nucleic acids, have provoked a decreased in the number and importance of the researches based on chemo-taxonomical evidences.

In some families, such as Malpighiaceae, researches have been carried out considering the phytochemical aspects to elucidate the phenetic relations among the members. Thus, in *Camarea*, an endemic genre of South America, an analysis determining the flavonoids in the leaves was done, with the aim of knowing their potential as a taxonomical tool, analyzing the foliar flavonoids patterns among species, and comparing the results with other types of evidences such as morphological and the distribution of n-alkanes. Among the most important findings, the

nes de flavonoides foliares entre especies y comparando los resultados con otros tipos de evidencias tales como morfológicas y la distribución de *n*-alcanos. Entre los hallazgos más importantes se determinó la sinonimia entre dos especies de *Camarea*, y el fenograma generado arrojó la formación de tres grupos de especies afines (Motta *et al.*, 2009).

Asimismo, en el género *Hypericum* (Clusiaceae) los flavonoides son unos importantes marcadores químicos y representan una excelente herramienta quimiotaxonómica (Nahrstedt y Butterweck, 1997).

Con respecto a las mirtáceas son pocas las investigaciones realizadas tomando en cuenta características fitoquímicas para fines taxonómicos. En este sentido Gardeli *et al.* (2008) refieren que especies como *Myrtus communis*, a pesar de ser fuente de antioxidantes y saborizantes, no ha recibido la merecida atención, mientras que en otras, como ciertas hierbas y especias con aceites esenciales, se han ido incrementando por poseer dichas propiedades.

Cole *et al.* (2007) en el género *Eugenia* condujeron un estudio con la finalidad de contribuir a esclarecer las relaciones filogenéticas entre especies estrechamente relacionadas. Se compararon siete especies determinando similitudes y diferencias en cuanto a compuestos químicos volátiles los cuales se obtuvieron por hidrodestilación y se analizaron por cromatografía de gases y espectrofotometría de masa. Los resultados determinaron que todas las especies presentaron predominancia de uno de los compuestos, así como también se detectó que hubo seis compo-

synonymy was determined among two species of *Camarea*, and the phenogram generated showed the formation of three clusters of similar species (Motta *et al.*, 2009).

Likewise, in the genre *Hypericum* (Clusiaceae) the flavonoids are important chemical markers, and represent an excellent chemotaxonomical tool (Nahrstedt and Butterweck, 1997).

Regarding the myrtaceae, few researches have been done considering the phyto-chemical characteristics for taxonomic purposes. On this matter, Gardeli *et al.* (2008) refer that species such as *Myrtus communis*, even though are sources of antioxidants and flavor, have not yet received attention, on the opposite, in some herbs and species with essential oils the researches have increased by having these properties.

Cole *et al.* (2007), carried out a research using the genre *Eugenia*, with the aim of explaining the phylo-genetic relations among the widely related species. Seven species were compared, determining similarities and differences regarding volatile chemical compounds, to which were obtained by hydro-distillation, and were analyzed by gases chromatography and mass spectrophotometry. The results determined that all the species presented an increment of one of the compounds, and was detected that six compounds were presented in all the species. It was concluded that the differences observed regarding the presence of these compounds among the *Eugenia* species, might provide useful traits for the understanding of the phylo-genetic relations.

nentes que se presentaron en todas las especies. Se concluyó que las diferencias observadas en cuanto a la presencia de estos compuestos entre las especies de *Eugenia* pudieran aportar caracteres útiles para el entendimiento de las relaciones filogenéticas.

En *Psidium* y sobre todo en *P. guajava* la mayor atención se ha centrado en indagar la relación de su composición química con propiedades medicinales. Pérez *et al.* (2008), realizaron una completa revisión en esta especie en donde se resume que posee alta producción de metabolitos secundarios algunos con una actividad biológica útil atribuida principalmente a compuestos fenólicos, flavonoides, carotenoides, terpenoides y triterpenos.

Así mismo, Lapčák *et al.* (2005), en *P. guajava* y *P. littorale* identificaron una gama de isoflavones debido a su importancia para la salud humana. Los resultados determinaron la presencia de agliconas y glicósidos y concluyeron que la ruta metabólica de estos compuestos está presente en la familia Myrtaceae.

Considerando lo planteado y dada la escasa información fitoquímica disponible para este género, la presente investigación tuvo como objetivo determinar los principales flavonoides presentes en seis especies de *Psidium* reportadas para Venezuela, con la finalidad de obtener datos útiles que permitan esclarecer, junto a otras fuentes de información, las relaciones taxonómicas dentro del mismo.

Materiales y métodos

Obtención de muestras

Se seleccionaron hojas completamente sanas y maduras de las dife-

En *Psidium*, especialmente in *P. guajava*, the greater attention has focused on determining the relation of its chemical composition with curative properties. Pérez *et al.* (2008) fulfilled a complete revision of this specie where is resumed that it has a high production of secondary metabolites, some with an useful biologic activity, mainly attributed to phenolic, flavonoids, carotenoids, terpenoids and triterpenes.

Likewise, Lapčák *et al.* (2005), in *P. guajava* and *P. littorale* identified a variety of isoflavones due to their importance for the human health. The results determined the presence of aglycones and glycosides, and concluded that the metabolic route of these compounds is presented in the Myrtaceae family.

Considering the latter, and due to the little phytochemical information available for this genre, the objective of this research is to determine the main flavonoids present in six *Psidium* species reported in Venezuela, with the purpose of obtaining useful data that allow stating, along to other sources of information, the taxonomic relation on the specie.

Materials and methods

Obtaining of the samples

Completely healthy and ripened leaves were selected of different *Psidium* species from recent samples and specimen material. In the field, the circuit was done revising herbarium samples and specialized literature; different locations of Mérida, Táchira, Trujillo and Zulia states were visited, which are part of

rentes especies de *Psidium* tanto de recolectas recientes como de material herborizado. En las salidas de campo, el recorrido se trazó revisando ejemplares de herbario y literatura especializada; se visitaron diversas localidades de los estados Mérida, Táchira, Trujillo y Zulia, las cuales son entidades del occidente venezolano que poseen una alta representatividad de especies de éste género de las mirtáceas (Hokche *et al.*, 2008). Se extrajeron hojas de uno o de hasta cuatro individuos por especie, dependiendo de la disponibilidad en el sitio de recolección.

Asimismo, a fin de establecer comparaciones con otras especies de *Psidium* provenientes de diferentes estados del país, se incorporaron muestras foliares extraídas de especímenes herborizados solicitados en calidad de préstamo a las siguientes instituciones: Herbario Nacional de Venezuela (VEN), Herbario de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela “Víctor M. Badillo” (MY), Herbario de la Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales de la Universidad de Los Andes (MER) y el Herbario de la Universidad del Zulia “Omar Zambrano C.” (HERZU). El número de repeticiones varió de 2 a 4 ejemplares por especie, dependiendo de la disponibilidad y considerando muestras completas y en buen estado.

Con la finalidad de comparar grupos afines a *Psidium*, se incluyó también en el análisis a la especie *Calycolpus moritzianus*, cuyas muestras se recolectaron en los estados Mérida y Táchira, donde comparte hábitat con algunas especies de *Psidium*. A continuación se presenta

the Venezuelan occident, and have high species representation of the myrtaceae (Hokche *et al.*, 2008). Leaves, from one or even four individuals, were extracted per specie, depending on the availability in the collection place.

Likewise, with the aim of comparing with other *Psidium* species coming from different states of the country, were incorporated foliar samples extracted from the specimens solicited as loan to the following institutions: National Herbarium of Venezuela (VEN), Herbarium of the Agronomy Faculty of the Universidad Central de Venezuela “Victor M. Badillo” (MY), Herbarium of the Forest and Environmental Sciences of Universidad de los Andes (MER), and the Herbarium of the Universidad del Zulia “Omar Zambrano C.” (HERZU). The replication number varied from 2 to 4 samples per specie, according to the availability and considering complete and in good conditions samples.

With the aim of comparing similar cluster of *Psidium*, the analysis of the specie *Calycolpus moritzianus* was also included, which samples were collected in Mérida and Táchira states, where share the habitat with some *Psidium* species. The following table, is a list of the analyzed species along to their correspondent precedence.

Hydrolysis of flavonoids

The hydrolysis was done by duplicate, following the procedure described by Vargas-Alvarez *et al.*, (2006). 25 mL of a solution of HCl 1.2 in methanol at 50% v/v were added to

un listado de las especies analizadas y su respectiva procedencia (cuadro 1).

Hidrólisis de flavonoides

La hidrólisis se realizó por duplicado siguiendo el procedimiento descrito por Vargas-Alvarez, *et al.* (2006). A 0,25 g de muestra de hojas de guayaba se le agregaron 25 mL de una solución de HCl 1,2M en metanol al 50% v/v, esta solución se llevó a reflujo por 2 h a 95°C. Posteriormente, los extractos se filtraron por gravedad (Whatman N° 1). Seguidamente, se tomó una alícuota del extracto (150 µL) y se diluyó en H₂O acidulada a pH 2,5 (600 µL). Para el análisis por HPLC, se inyectaron por duplicado 20 µL de cada extracto. En el caso del material de colectas recientes, las hojas fueron previamente secadas a temperatura ambiente.

Determinación de flavonoides por HPLC

La separación cromatográfica de los flavonoides miricetina, luteonina, quercetina, apigenina y kaempferol, se realizó mediante cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa, empleando una columna de C18 (Zorbax) de 4,6mm x 250mm x 5µm y como fase móvil KH₂PO₄/ACN (66,7:33,3% v/v) a 1,0 mL.min⁻¹. La detección se realizó en la región UV-visible a 280 nm.

Se obtuvieron tiempos de retención menores a los 30 min: miricetina (9 min), luteonina (16 min), quercetina (18 min), apigenina (24 min) y kaempferol (29 min).

La cuantificación de los flavonoides se realizó por estándar externo, considerando el área de pico como parámetro analítico. Para ello se preparó una curva de calibración (2,5 - 10 mg.L⁻¹) a partir de las soluciones estándares de cada flavonoide:

a 0.25 g sample of guava leaves, this solution was taken to a reflux for 2 h at 95°C. Subsequently, the extracts were filtered by gravity (Whatman N° 1). Later, an aliquot of the extract (150 µL) was taken, and diluted in H₂O acidulated at pH 2.5 (600 µL). For carrying out the analysis by HPLC, 20 µL of each extract were injected by duplicate. In the case of the material of recent collections, the leaves were previously dried at environment temperature.

Determination of flavonoids by HPLC

The chromatographic separation of flavonoids miricetin, luteolin, quercetin, apigenin and kaempferol was done using high resolution liquid chromatography in reverse phase, employing a C18 column (Zorbax) of 4.6mm x 250mm x 5µm, as a mobile phase KH₂PO₄/ACN (66.7:33.3% v/v) at 1.0 mL.min⁻¹. The detection was done in the UV-visible area at 280 nm.

Retention times were obtained lower than 30 min: miricetin (9 min), luteolin (16 min), quercetin (18 min), apigenin (24 min) and Kaempferol (29 min).

The quantification of flavonoids was done by external standard, considering the peak area as analytical parameter. For this, a calibration curve (2.5 - 10 mg.L⁻¹) was prepared after standard solutions of each flavonoid: miricetin (Sigma, 85% of pureness) 172 mg.L⁻¹, luteolin (Sigma, 98% of pureness) 1043.8 mg.L⁻¹, quercetin (Sigma, 98% of pureness) 1190 mg.L⁻¹, apigenin (Sigma, 95% of pureness) 969 mg.L⁻¹, and kaempferol (Sigma, 90% of pureness) 709.2 mg.L⁻¹.

Cuadro 1. Ejemplares examinados en el análisis de los flavonoides y su procedencia.
Table 1. Samples examined in the analysis of flavonoids and their origin.

Ejemplar examinado	Origen
<i>Calycolpus moritzianus</i> (O. Berg)	Carretera Mesa de Aura-Cordero, Táchira. 1785 msnm; 07° 56' 06" LN, 72° 07' 05" LO. HERZU: 3000 - 74.
Burret. Muestra fresca	Parque "La Mucuy", Municipio Santos Marquina, Mérida. 1800 1800 msnm. HERZU: 3000 - 74.
<i>C. moritzianus</i> . (Especimen herborizado)	Municipio Pedro Camejo, Apure. MY-200.
<i>Psidium acutangulum</i> DC.	Municipio Sucre, Bolívar. 45 msnm, 07° 11' 50" LN, 65° 12' 30" LO. MY-967
(Especimen herborizado)	Puerto Sipapo, Amazonas. 4° 54' - 5° 3' LN, 67° 34' - 67° 46' LO. MY-3749.
<i>P. acutangulum</i> . (Especimen herborizado)	Nor-oeste de San Carlos, Cojedes. MY-666
<i>P. acutangulum</i> . (Especimen herborizado)	Carretera La Fria-Seboruco, Táchira. 560 msnm, 08° 09' 27" LN, 072° 08' 25" LO. HERZU: 3000 - 74.
<i>Psidium guajava</i> L. Muestra fresca	Churuguarita, Sector San José, Zulia. 190 msnm, 10° 26' 02" LN, 070° 57' 59" LO. HERZU: 3000 - 74.
Muestra fresca	Carretera vía a La Ceiba, Municipio Sucre, Km 23, Trujillo. 09° 28' 22" LN, 070° 53' 37" LO. HERZU: 3000 - 74.
<i>Psidium guajava</i> . Muestra fresca	Parque nacional Quebrada de la Cueva, El Toro, Falcón. 600 msnm, 10° 50' LN, 69° 07' LO. VEN-7772.
(Especimen herborizado)	Carretera Maracay-Choroní, vertiente sur, Aragua. 700-750 msnm. MY-3735.
<i>Psidium guajava</i> . (Especimen herborizado)	Mérida. 1880 msnm, 8° 35' 50" LN, 71° 13' 20" LO. HERZU: 3000 - 74.
Muestra fresca	Sector "El Salado Alto", Municipio Campo Elías, Mérida. 1610 msnm, 08° 35' 27" LN, 71° 13' 40" LO. HERZU: 3000 - 74.
<i>Psidium guajava</i> . Muestra fresca	

Cuadro 1. Ejemplares examinados en el análisis de los flavonoides y su procedencia (Continuación).
Table 1. Samples examined in the analysis of flavonoids and their origin (Continuation).

Ejemplar examinado	Origen
<i>Psidium guajava</i> . Muestra fresca	Mcpio. Santos Marquina, carretera Los Aleros-San Rafael de Tabay, Mérida. 1750 msnm, 08° 38' 34" LN, 71° 02' 33" LO. HERZU: 3000 - 74.
<i>Psidium guajava</i> . Muestra fresca	Mérida. 310 msnm, 09° 22' 31" LN, 070° 35' 44" LO. HERZU: 3000 - 74.
<i>Psidium guajava</i> . (Especimen herborizado)	Municipio Jiménez, Paso de Angostura, Represa de Yacambú, Lara. 500 msnm, 9° 41' LN, 69° 3' LO. VEN-107683.
<i>Psidium guajava</i> . Muestra fresca	Facultad de Ciencias Forestales, Municipio Milla. Mérida. HERZU:3000-74.
<i>Psidium guajava</i> . Muestra fresca	Sabana de Mendoza, vía El Cenizo, Trujillo. 68 msnm, 09° 26' 55" LN, 70° 47' 37"LO. HERZU: 3000 - 74.
<i>Psidium guajava</i> . Muestra fresca	Carretera Agua Santa-La Tabla, Zulia. 110 msnm, 10°24'32" LN, 71°07'49" LO. HERZU: 3000 - 74.
<i>Psidium guineense</i> Sw. Muestra fresca	Finca "Los Santos", vía hacia Churugarita, Zulia. 180 msnm, 10° 26' 04" LN, 71° 00' 31" LO. HERZU: 3000-74.
<i>P. guineense</i> . Muestra fresca	Los Chorros de Milla, Mérida. 1600 msnm, 08° 37' 10" LN, 071° 08' 21" LO. HERZU: 3000 - 74.
<i>P. guineense</i> . (Especimen herborizado)	Puerto Ordaz, Cerro Bolívar, Bolívar. 300 a 350 msnm. VEN-36006
<i>P. guineense</i> . (Especimen herborizado)	San Antonio de los Altos, Miranda. MER-1
<i>P. guineense</i> . Muestra fresca	Carretera Churugarita-El pensado, Zulia. 170 msnm, 10° 26' 10" LN, 071° 00' 39" LO. HERZU: 3000 - 74.
<i>P. guineense</i> . Muestra fresca	Carretera Michelena-Colón, Táchira. 1090 msnm, 07° 59' 29" LN, 72° 14' 40" LO. HERZU: 3000 - 74.
<i>P. guineense</i> . (Especimen herborizado)	Portuguesa. MY-3934.

Cuadro 1. Ejemplares examinados en el análisis de los flavonoides y su procedencia (Continuación).
Table 1. Samples examined in the analysis of flavonoids and their origin (Continuation).

Ejemplar examinado	Origen
<i>P. guineense</i> . (Especímen herborizado)	11 km al norte de Jusepin. Monagas. 250 msnm. VEN-8615
<i>P. guineense</i> . Muestra fresca	Carretera Agua Viva-Agua Santa, Trujillo. 09°31'05"LN, 70°40'16" LO. HERZU: 3000 - 74.
<i>P. guineense</i> . Muestra fresca	Carretera El Pensado- Churuguarita, Zulia. 140 msnm, 10° 28' 21" LN, 071° 02' 36" LO. HERZU: 3000 - 74.
<i>P. guineense</i> . (Especímen herborizado)	Cerro Pintao, Departamento Atures, Amazonas. MY-3500
<i>Psidium maribense</i> DC.	Río Orituco, Guárico. VEN-709
<i>P. maribense</i> . (Especímen herborizado)	Distrito Pedro Camejo, Apure. 67° 39' LO, 7° 2' LN. VEN-12862.
<i>Psidium salutare</i> (Kunth) O. Berg.	Departamento Atures, al noreste de Puerto Ayacucho, Amazonas. VEN-13756.
<i>P. salutare</i> (Kunth). (Especímen herborizado)	Cerro La Antena, Cojedes. 50-100 msnm. VEN-14552.
<i>P. salutare</i> . (Especímen herborizado)	Estación Biológica de los llanos de la Sociedad Venezolana de Ciencias Naturales, 12 km al sureste de Calabozo, Guárico. 75 msnm, 8° 56' LN, 67° 25' LO. MY-2183.
<i>Psidium sartorianum</i> (O. Berg) Nied. (Especímen herborizado)	Jardín Botánico UCV-Agronomía, municipio Girardot, Aragua. 500 msnm. MER-2.
<i>P. sartorianum</i> . (Especímen herborizado)	Sur de Mochima, a 20 km al suroeste de Cumaná, Sucre. 250 msnm. VEN-108734.

miricetina (Sigma, 85% de pureza) 172 mg.L⁻¹, luteonina (Sigma, 98% de pureza) 1043.8 mg.L⁻¹, quercetina (Sigma, 98% de pureza) 1190 mg.L⁻¹, apigenina (Sigma, 95% de pureza) 969 mg.L⁻¹, y kaempferol (Sigma, 90% de pureza) 709.2 mg.L⁻¹.

Análisis estadístico

La información obtenida se reunió en una matriz de datos elaborada con el programa Microsoft Windows Excel 2007, y posteriormente se analizó a través de técnicas multivariadas, usando el programa SAS 9.1.3., aplicando el procedimiento Cluster (Análisis del conglomerado de la varianza mínima de Ward) con la finalidad de determinar el agrupamiento de los diferentes ejemplares de *Psidium* y *C. moritzianus* según las similitudes y diferencias derivadas de la presencia de flavonoides. Complementariamente, para explicar el patrón de agrupamiento generado se aplicó un análisis de componentes principales (ACP).

Resultados y discusión

En la figura 1 se presentan los resultados del análisis cluster donde se observa la formación de los diferentes grupos de acuerdo a la presencia y concentración de los flavonoides en los taxa analizados, mientras que con el de componentes principales (ACP) se analizaron las variables más determinantes de este agrupamiento.

Análisis cluster

En el dendograma (figura 1) se pudo distinguir la formación de 5 grupos:

Grupo 1. Conformado por 24 individuos, donde se observó a su vez, la formación de dos agrupamientos: subgrupo 1A, constituido por 15 ejem-

Statistical analysis

The information obtained was gathered in a data matrix elaborated with Microsoft Windows Excel 2007, subsequently, it was analyzed using multivariate techniques, using the software SAS 9.1.3., applying the Cluster procedures (Conglomerate analysis of the minimum variance of Ward) with the aim of determining the cluster of different samples of *Psidium* and *C. moritzianus*, according to the similarities and differences derived by the presence of flavonoids. To explain the cluster pattern generated, an analysis of the main components (ACP) was applied.

Results and discussion

In figure 1 are presented the results of the cluster analysis where is observed the formation of different clusters according to the presence and concentration of flavonoids in the analyzed taxa; meanwhile, the most determining variables of this cluster were analyzed with the main components (ACP).

Cluster analysis

In the dendogram (figure 1) were distinguished the formation of 5 clusters:

Cluster 1. Formed by 24 individuals, where at the same time was observed the formation of two clusters: sub-group 1A, constituted by 15 samples belonging to the species *Calycolpus moritzianus*, *Psidium acutangulum*, *P. guajava* and *P. guineense*, collected on different areas of Bolívar, Falcón, Mérida, Miranda, Táchira, Trujillo and Zulia states; subgrupo 1B, where 9 samples

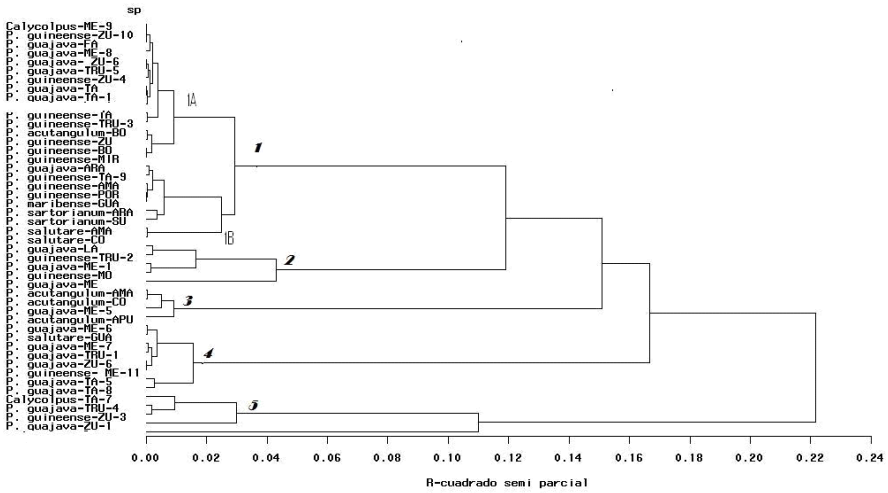


Figura 1. Dendrograma resultante del análisis de conglomerado de la varianza mínima de Ward aplicado a especies de *Psidium*.

Figure 1. Dendrogram resulting from the conglomerate analysis of the minimum Ward variance applied in *Psidium* species.

plares pertenecientes a las especies *Calycolpus moritzianus*, *Psidium acutangulum*, *P. guajava* y *P. guineense*, recolectados en diversas localidades de los estados Bolívar, Falcón, Mérida, Miranda, Táchira, Trujillo y Zulia; subgrupo 1B, donde se agruparon 9 ejemplares de *P. guajava*, *P. guineense*, *P. maribense*, *P. salutare* y *P. sartorianum*, provenientes de Amazonas, Aragua, Cojedes, Guárico, Portuguesa, Sucre y Táchira.

Grupo 2. Integrado por 5 ejemplares de *P. guajava* y *P. guineense*, provenientes de los estados Lara, Mérida, Monagas y Trujillo.

Grupo 3. Constituido por 4 ejemplares de *P. guajava* y *P. acutangulum* de los estados Amazonas, Apure, Cojedes y Mérida.

gathered of *P. guajava*, *P. guineense*, *P. maribense*, *P. salutare* and *P. sartorianum*, coming from Amazonas, Aragua, Cojedes, Guárico, Portuguesa, Sucre and Táchira.

Cluster 2. Constituted by 5 samples of *P. guajava* and *P. guineense* coming from Lara, Mérida, Monagas and Trujillo states.

Cluster 3. Constituted by 4 samples of *P. guajava* and *P. acutangulum* from Amazonas, Apure, Cojedes and Mérida states.

Group 4. Formed by 8 samples of the species *P. guajava*, *P. guineense* and *P. salutare*, coming from Guárico, Mérida, Táchira, Trujillo and Zulia states.

Group 5. Formed by 4 samples of the species *Calycolpus moritzianus*,

Grupo 4. Formado por 8 ejemplares de las especies *P. guajava*, *P. guineense* y *P. salutare*, provenientes de Guárico, Mérida, Táchira, Trujillo y Zulia.

Grupo 5. Conformado por 4 ejemplares de las especies *Calycolpus moritzianus*, *P. guajava* y *P. guineense*, de los estados Zulia y Táchira.

Análisis de componentes principales

Como se observa en el cuadro 2, la sumatoria de los dos primeros componentes, explicaron el 56% de la variación observada con relación a los flavonoides presentes en las distintas especies analizadas, y en conjunto a CP3 totaliza más del 75% de la misma. El primer componente principal (CP1) explicó el 32,3% de la variabilidad, el segundo (CP2) un 23,7% y el tercero (CP3) un 19,3%.

De la correlación de cada variable original con los componentes principales, se observó que los flavonoides que ejercieron un mayor aporte a la variabilidad dentro de los tres primeros componentes fueron: luteonina y kaempferol en el CP1; quercetina y miricetina para el CP2; apigenina y miricetina en el CP3 (cuadro 3).

Tomando en consideración los agrupamientos formados en el análisis cluster, en la figura 2 se evidencia que el CP1 separa claramente al grupo 5 de los restantes; este grupo 5 lo conformaron las especies *Calycolpus moritzianus*, *P. guajava* y *P. guineense*.

El CP2 separa al grupo 4, constituido por las especies *P. guajava*, *P. guineense* y *P. salutare*. Considerando este mismo componente, en la figura

P. guajava and *P. guineense* from Zulia and Táchira states.

Analysis of the main components

As observed on table 2, the sum of the first two components explained the 56% of the variation observed in relation to the flavonoids present in the different analyzed species, and in addition to CP3 it totalizes more than 75%. The first main component (CP1) explained the 32.3% of the variability, the second (CP2) 23.7% and the third (CP3) 19.3%.

On the correlation of each original variable with the main components, was observed that the flavonoids which had the highest provision to the variability on the first three components were: luteolin and kaempferol in CP1; quercetin and miricetin for CP2; apigenin and miricetin in CP3 (table 3).

Considering the formal clusters in the cluster analysis, in figure 1 is evidenced that the CP1 clearly divides cluster 5 from the rest; this cluster 5 was formed by the species *Calycolpus moritzianus*, *P. guajava* and *P. guineense*.

CP2 divides cluster 4, constituted by the species *P. guajava*, *P. guineense* and *P. salutare*. Considering this component, in figure 2 are observed clusters 1 and 2 very close to cluster 3, which was formed by taxa *P. guajava* and *P. acutangulum*.

It is important to mention, that the division of the cluster 5 in relation to the rest, was determined by the presence of the flavonoid kaempferol, and by presenting a higher concentration of luteolin. Luteolin was not found in clusters 3 and 4;

Cuadro 2. Valores propios y proporción de la varianza para los primeros cinco componentes principales con relación a flavonoides presentes en *Psidium*.

Table 2. Own values and variance proportion for the first five main components in relation to the flavonoids present in *Psidium*.

Componente principal	Valores propios	Proporción de la varianza	
		Propia	Acumulada
CP1	1,6148	0,3230	0,3230
CP2	1,1853	0,2371	0,5600
CP3	0,9664	0,1933	0,7533
CP4	0,8181	0,1636	0,9169
CP5	0,4155	0,0831	1,0000

ra 2 se observa a los grupos 1 y 2 muy próximos al grupo 3, el cual lo conformaron los taxa *P. guajava* y *P. acutangulum*.

Es importante mencionar, que la separación del grupo 5 con respecto al resto, estuvo determinada por la presencia del flavonoide kaempferol, y por presentar una mayor concentración de luteonina. La luteonina no se encontró en los grupos 3 y 4, mientras que

meanwhile, in clusters 1 and 2 the average concentrations were inferior to group 5 (table 4). It is important to mention the elevate variation for the concentration of this flavonoid in group 5, which might be the cause of the high heterogeneity of this group, as mentioned in figures 1 and 2.

In relation that the fact that the luteolin was not detected in the mentioned clusters, Izco (1997)

Cuadro 3. Vectores propios para los cinco primeros componentes principales (CP) con relación a flavonoides presentes en *Psidium*.

Table 3. Own vectors for the first five main components (CP) in relation to the flavonoids present in *Psidium*.

Variable (Flavonoide)	CP1	CP2	CP3	CP4	CP5
Miricetina	-0,1452	0,5805	-0,5290	0,6015	0,0168
Luteonina	0,6940	0,0802	-0,0001	0,0701	0,7121
Quercetina	-0,0444	-0,7024	0,0470	0,7069	0,0529
Apigenina	-0,1738	0,3925	0,8408	0,3160	0,0942
Kaempferol	0,6820	0,0962	0,1049	0,1834	-0,6935

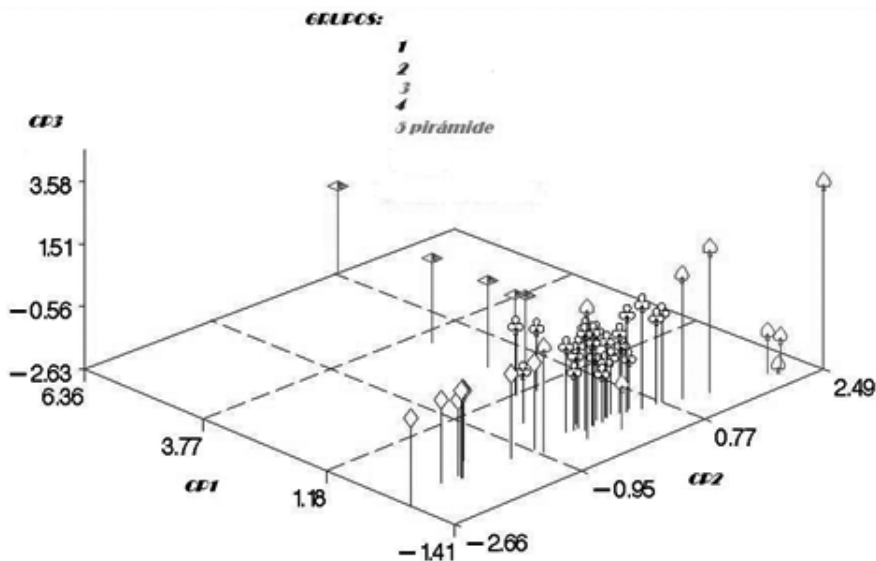


Figura 2. Ordenación de los componentes principales generada por la presencia y concentración de flavonoides en especies de *Psidium*.

Figure 2. Ordering of the main components generated by the presence and concentration of flavonoids in *Psidium* species.

en los agrupamientos 1 y 2, las concentraciones promedios fueron muy inferiores a las del grupo 5 (cuadro 4). Es de destacar la elevada variación para la concentración de este flavonoide dentro del grupo 5, lo que debe ser la causa de la elevada heterogeneidad de este grupo, tal como se evidencia en las figuras 1 y 2.

Con respecto al hecho de que no se detectara luteonina en los grupos mencionados, Izco (1997) establece que la presencia de un carácter químico tiene más valor que la ausencia, razón por la cual se debe considerar la posibilidad de que los flavonoides analizados se localicen en órganos distintos a los revisados, en órganos reproductivos por ejemplo, que tenga

established that the presence of a chemical trait has more value than the absence, for this reason, it must be considered the possibility that the analyzed flavonoids locate in organs different to the ones revised, for instance, in reproductive organs, that take place in phases different to the vital cycle, with a stationary or daily variation in the production, as well as the destruction possibility of the compound during previous phases of their identification or during the extraction. Supporting this information, Vargas *et al.* (2006) determined luteolin and kaempferol in fruits of *P. guajava* when evaluating different organs for the detection of flavonols and flavones.

Cuadro 4. Promedio y desviación estándar de las concentraciones de flavonoides (mg.L⁻¹) presentes en los grupos generados por el análisis Cluster correspondientes a especies de *Psidium*.

Table 4. Average and standard deviation of the flavonoids concentrations (mg.L⁻¹) present in the groups generated by the Cluster analysis corresponding to *Psidium* species.

Cluster/flavonoide	luteonina	kaempferol	miricetina	quercetina	apigenina
Grupo 1	0,012±0,028	0	0,042±0,03	0,032±0,04	0,014±0,015
Grupo 2	0,004±0,009	0	0,015±0,013	0,32±0,106	0,011±0,007
Grupo 3	0	0	0,276±0,05	0,09±0,127	0,021±0,016
Grupo 4	0	0	0,045±0,042	0,102±0,115	0,08±0,047
Grupo 5	0,096±0,122	0,028±0,011	0,043±0,009	0,092±0,030	0,022±0,009

lugar en fases distintas al ciclo vital, que haya variación estacional o diaria en su producción, así como la posibilidad de destrucción del compuesto durante las fases previas a su identificación o durante su extracción. Apoyando esta aseveración, Vargas *et al.* (2006), determinaron luteonina y kaempferol en frutos de *P. guajava* cuando evaluaron diferentes órganos para la detección de flavonoles y flavanas.

La miricetina fue uno de los flavonoides que aportó mayor variabilidad para el agrupamiento observado en el CP2; en el cuadro 3 se puede distinguir que los grupos 1, 4 y 5 presentaron concentraciones promedio similares (0,042-0,045 mg.L⁻¹), mientras que los grupos 2 y 3 obtuvieron los valores más bajo y más alto, respectivamente (0,015 y 0,276 mg.L⁻¹); esto se puede evidenciar en la figura 2, donde se observa el distanciamiento de los dos últimos grupos a los que se hace mención.

Vargas *et al.* (2006), cuando analizaron los contenidos de miricetina en los diferentes órganos de *P. guajava* determinaron que la mayor concentración se localizaba en la corteza, y en segundo lugar en las hojas. En este sentido Dinelli *et al.* (2006) establecieron que la concentración de flavonoides varía de planta a planta, incluso en diferentes órganos de una misma planta.

Con relación a lo anterior, es de interés recordar que en esta investigación se emplearon hojas maduras de las especies analizadas, tomando como referencia resultados de ciertas investigaciones como las de Sultana y Anward (2008), quienes compararon el contenido de flavonoides en corteza, hojas y frutos de plantas medicinales,

Miricetin was one of the flavonoids which provided higher variability for the cluster observed in CP2; in table 3 can be distinguished that clusters 1, 4 and 5 presented similar average concentrations (0.042-0.045 mg.L⁻¹), while clusters 2 and 3 had the lowest and highest levels, respectively (0.015 and 0.276 mg.L⁻¹); this can be evidenced in figure 2, where is observed the spacing of the last two clusters mentioned.

Vargas *et al.* (2006), analyzing the miricetin contents in the different organs of *P. guajava*, determined that the highest concentration was in the cortex, and secondly in the leaves. On this sense, Dinelli *et al.* (2006) established that the concentration of flavonoids varies from plant to plant, and even in different organs of a plant.

In relation to the latter, it is important to remember that on this research ripened leaves of the analyzed species were used, considering as reference results of some researches such as those of Sultana and Anward (2008), who compared the flavonoid content in the cortex, leaves and fruits of curative plants, among these is *Eugenia jambolana* (Myrtaceae), determining that the leaves and fruits presented higher content of these compounds, which agree to the previous reports. Silva *et al.* (2006) established that the leaves have high concentration of phytochemicals (such as flavonoids and phenolic acids), since the reaction of the photosynthesis is mainly carried out in these organs.

When comparing the flavonoids in the analyzed species on table 4, is evident that miricetin was the flavonoid that was present in all the

entre estas *Eugenia jambolana* (Myrtaceae), determinando que las hojas y los frutos presentaron mayor contenido de estos compuestos, lo cual coincide con reportes previos. Silva *et al.* (2006) establecieron que las hojas poseen alta concentración de fitoquímicos (tales como flavonoides y ácidos fenólicos) ya que la reacción de la fotosíntesis se lleva a cabo principalmente en estos órganos.

Al comparar en el cuadro 4 los flavonoides en las especies analizadas, es evidente que miricetina fue el flavonoide que estuvo presente en todos los ejemplares; luteonina no se detectó en *P. acutangulum* y *P. maribense*, mientras que kaempferol no se determinó en estas dos especies, así como tampoco en *P. salutare*, ni en *P. sartorianum*.

En la investigación de Sultana y Anward (2008), no se detectó miricetina en la corteza de *E. jambolana*, permitiéndose la comparación aún cuando se trata de otro género de Myrtaceae y de haberse analizado un órgano diferente; en este trabajo también se evaluó el contenido de flavonoides de especies frutales (*Malus pumila*, *Prunus salicin*, *Prunus armeniaca*, *Fragaria ananassa* y *Morus alba*). Entre los resultados más relevantes se determinó que el kaempferol estuvo presente en todas las especies analizadas, encontrándose la mayor concentración en *M. alba* (284,3 mg.kg⁻¹), y la menor en *P. salicin* (0,7 mg.kg⁻¹). Con respecto a la miricetina, ésta sólo se detectó en *F. ananassa* y *P. salicin*, siendo significativamente mayor la concentración (P<0,05) en la primera especie con respecto a la segunda (3382,9 mg.kg⁻¹

samples; luteolin was not detected in *P. acutangulum* and *P. maribense*, meanwhile, kaempferol was not either present in these two species nor in *P. salutare* or *P. sartorianum*.

In the research of Sultana and Anward (2008), miricetin was not detected in the cortex of *E. jambolana*, comparing it even when it is about other genre of Myrtaceae and after analyzed a different organ; in this research, the flavonoid content of fruit species was also analyzed (*Malus pumila*, *Prunus salicin*, *Prunus armeniaca*, *Fragaria ananassa* and *Morus alba*). Among the most relevant results, was determined that kaempferol was present in all the analyzed species, the highest concentration was in *M. alba* (284.3 mg.kg⁻¹), and the lowest in *P. salicin* (0.7 mg.kg⁻¹). Regarding miricetin, this was only detected in *F. ananassa* and *P. salicin*, being significantly higher the concentration (P<0.05) in the first specie regarding the second (3382.9 mg.kg⁻¹ and 564.1 mg.kg⁻¹, respectively). The absence of this flavonoid in *Malus pumila* and *Prunus armeniaca*, agreed to the previous researches carried out in the same species.

In the genre *Camarea* (Malpighiaceae) when different species were compared, the most frequently found glycoside was kaempferol 3-*O*-galactoside, but without detecting in *Camarea elongata* and *Camarea ericoides* (Motta *et al.*, 2009).

In table 5 can be evidenced that the samples correspondent to the species *P. guajava* and *P. guineense* were not uniform in relation to the presence of the analyzed flavonoids; for

y 564.1 mg.kg⁻¹, respectivamente). La ausencia de este flavonoide en *Malus pumila* y en *Prunus armeniaca*, coincidió con investigaciones previas realizadas en las mismas especies.

En el género *Camarea* (Malpighiaceae) cuando se compararon diferentes especies, el glicósido más frecuente fue kaempferol 3-O-galactósido, no detectándose sólo en *Camarea elongata* y *Camarea ericoides* (Motta *et al.*, 2009).

En el cuadro 5 se puede evidenciar, que los ejemplares correspondientes a las especies *P. guajava* y *P. guineense* no presentaron uniformidad en cuanto a la presencia de los flavonoides analizados; así por ejemplo, en *P. guajava*, el 31% de los ejemplares presentaron luteonina y sólo el 13% kaempferol. A este respecto, es importante recordar que los mismos se recolectaron en diversas localidades del territorio nacional, pudiendo representar la ubicación geográfica un factor de variación. En este sentido Vargas *et al.* (2006), acotaron que los resultados pueden presentar variaciones dependiendo del material genético y de las condiciones donde crecen las plantas.

Así mismo, Gardeli *et al.* (2008), en un estudio fitoquímico demostraron que el perfil de los aceites esenciales obtenidos en *Myrtus communis* (Myrtaceae) difirieron de acuerdo al origen, así como se encontraron diferencias cuantitativas de los componentes individuales presentes, relacionando estas diferencias con la localización geográfica y por la existencia de quimiotipos; refieren que la variación estacional y los factores ambientales tales como temperatura, longitud del día, nutrientes, entre otros, juegan un

instance, in *P. guajava*, 31% of the samples had luteolin and only 13% kaempferol. On this matter, it is important to mention, that samples were collected in different areas in the country, representing the geographic location of a variation factor. On this sense, Vargas *et al.* (2006), mentioned that the results might present variations depending on the genetic material and the conditions where the plants grow.

Likewise, Gardeli *et al.* (2008), in a phytochemical research, proved that the profile of the essential oils found in *Myrtus communis* (Myrtaceae) differed according to the origin, as well as they found quantitative differences of the individual components present, relating these differences with the geographic localization and the existence of chemotypes, refer that the stationary variation and the environmental factors, such as temperature, longitude of the day, nutrients, among others, have important roles on their chemical composition. These factors influence on the bio-synthetic pattern of the plants, consequently, on the relative proportion of the main characteristics compounds.

On the other hand, it has mentioned that flavonoids are frequently used in chemo-taxonomy, since they constitute excellent chemical markers among the metabolic compounds of the plants. Its used is widely recommended considering that its pattern tend to be specific, are relatively steady and the bio-synthesis/accumulation is independent from the environmental influence (Markham, 1989). Likewise,

Cuadro 5. Presencia de flavonoides en las especies analizadas considerando el número de ejemplares examinados.

Table 5. Presence of flavonoids in the analyzed species considering the number of examined samples.

Espece	Flavonoides presentes: Kaempferol=KA; Luteonina=LU; Miricetina=MI	Porcentaje de ejemplares examinados que presentaron estos flavonoides
<i>Calycolpus moritzianus</i>	KA, LU, MI	100%
<i>Psidium acutangulum</i>	MI	100%
<i>Psidium guajava</i>	KA, LU, MI	KA (13%), LU (31%), MI (100%)
<i>Psidium guineense</i>	KA, LU, MI	KA (8%), LU (8%), MI (100%)
<i>Psidium maribense</i>	MI	100%
<i>Psidium salutare</i>	LU, MI	100%
<i>Psidium sartorianum</i>	LU, MI	100%

rol importante en su composición química. Estos factores influyen sobre el patrón biosintético de las plantas y consecuentemente sobre la proporción relativa de los principales compuestos característicos.

En contraposición, se ha referido que los flavonoides son frecuentemente utilizados en quimiotaxonomía, ya que constituyen excelentes marcadores químicos entre los compuestos metabólicos de las plantas. Se recomienda ampliamente su uso considerando que sus patrones tienden a ser específicos, son relativamente estables y su biosíntesis/acumulación es independiente de la influencia ambiental (Markham, 1989). Así mismo, se ha establecido que la composición de los flavonoides es principalmente determinada por factores genéticos y muchas de las referencias coinciden en que los factores no genéticos (condiciones ambientales, prácticas culturales, etc.) tienen un gran efecto sobre su concentración, más que con su composición relativa (Arozarena *et al.*, 2002).

Conclusiones

Los flavonoides que permitieron agrupar a las distintas especies de *Psidium* y a *Calycolpus moritzianus* fueron principalmente: kaempferol, luteonina y miricetina, dicho arreglo varió considerando la presencia y concentración de los mismos. En *P. guajava* y *P. guineense* no se obtuvieron resultados consistentes con relación a la presencia de estos flavonoides, lo cual pudo deberse a la alta diversidad de orígenes de las muestras. Estos resultados se deben complementar

it has established that the composition of flavonoids agrees in the sense that the non-genetic factors (environmental conditions, cultural practices, among others) have an effect on the concentration, rather than on the relative composition (Arozarena *et al.* 2002).

Conclusions

The flavonoids that allowed grouping the different species of *Psidium* and *Calycolpus moritzianus* were mainly: kaempferol, luteolin and miricetin, such arrangement varied considering the presence and concentration of these. In *P. guajava* and *P. guineense* none consistent results were obtained in relation to the presence of these flavonoids, which could have been due to the high diversity of the samples' origin. These results should be complemented to other sources of information, to establish the taxonomic limits of the genre. In future researches it is recommendable the incorporation of *Psidium* species coming from similar geographic conditions, with the aim of reducing the possible variation derived from the influence of this factor.

End of english version

con otras fuentes de información para contribuir a establecer los límites taxonómicos del género. En próximas investigaciones se recomienda la incorporación de especies de *Psidium* procedentes de condiciones geográficas similares a fin de disminuir la posible

variación derivada de la influencia de este factor.

Literatura citada

- Albornoz A. 1980. Productos naturales, sustancias y drogas extraídas de las plantas. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela. 616 pp.
- Arozarena I., B. Ayestarán, M. Cantalejo, M. Navarro, M. Vera e I. Abril. 2002. Anthocyanin composition of Tempranillo, Garnacha and Cabernet Sauvignon grapes from high- and low-quality vineyards over two years. *European Food Research and Technology*. 214: 303–309.
- Bruce, H., L. Landrum y F. Grifo. 2003. Myrtaceae-Plumbaginaceae. 1-99 pp. En: *Flora of the Venezuelan Guayanan*. Berry, P., B. Holst, y K. Yatskievych (Eds.). Missouri Botanical Garden Press., Oregon. Vol. 7.
- Cole R., W. Habery W. Setzer. 2007. Chemical composition of essential oil of seven species of *Eugenia* from Monteverde, Costa Rica. *Biochemical Systematics and Ecology*. 35: 877-886.
- Cowan, M.M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12(4): 564-82.
- Dinelli, G., A. Bonetti, M. Minelli, I. Marotti, P. Catizone y A. Mazzanti. 2006. Content of flavonols in Italian bean (*Phaseolus vulgaris* L.) ecotypes. *Food Chemistry*. 90:105–114.
- Gardeli, C., P. Vassiliki, M. Athanasios, T. Kibouris y K. Michael. 2008. Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food Chemistry*. 107: 1120-1130.
- 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 Botanica Brasílica*. 23(1): 223-238.
- Hokche, O., P. Berry y O. Hubber. 2008. Nuevo Catálogo de la Flora Vasculare de Venezuela. Fundación Instituto Botánico de Venezuela Dr. Tobías Lasser. Caracas, Venezuela. 859 p.
- Izco, J. 1997. Botánica. McGraw Hill Interamericana de España, Madrid. 781 pp.
- Lapčák, O., B. Klejdus, L. Kokoška, M. Davidová, K. Afandi, V. Kubáò y R. Hampl. 2005. Identification of isoflavones in *Acca selowiana* y two species of *Psidium*. *Biochemical Systematics and Ecology*. 33: 983-992.
- Lucas, E., S. Belsham, E. Nic Lughadha, D. Orlovich, C. Sakuragui, M. Chase y P. Wilson. 2005. Phylogenetic patterns in the fleshy-fruited Myrtaceae- preliminary molecular evidence. *Plant Systematics and Evolution*. 251: 35-51.
- Marcano D. y M. Hasegawa. 2002. Fitoquímica orgánica. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico Universidad Central de Venezuela. 588 pp.
- Markham, K.R. 1989. Flavonas, flavonols and their glycosides. In *Methods in plant biochemistry*. Plant phenolics. 1:197–235, London, UK: Academic Press Ltd.
- Motta L., C. Furlan, A. Salatino y M. Salatino. 2009. Flavonoids and the taxonomy of *Camarea* (Malpighiaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*. 37: 201–205.
- Nahrstedt A. y V. Butterweck. 1997. Biologically active and other chemical constituents of the herb of *Hypericum perforatum* L. *Pharmacopsychiatry*. 30 (Suppl.):129-134.
- Pérez R., S. Mitchell y R. Vargas. 2008. *Psidium guajava*: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*. 117: 1-27.
- Sánchez-Vindas, E. 1990. Flora de Veracruz. Fascículo 62 (Myrtaceae). Instituto de Ecología, A.C. Xalapa. México y University of California Riverside, California. EEUU. 146 p.

- SAS Institute, Inc. 2008. SAS user's guide: Statistics. Versión 9.1.3., SAS Inst., Inc. NC, USA.
- Silva E., J. Souza, H. Rogez, J. Rees y Y. Larondella. 2006. Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region. *Food Chemistry*. 101(3): 1012–1018.
- Sultana B. y F. Anwar. 2008. Flavonols (kaempferol, quercetin, myricetin) contents of selected fruits, vegetables and medicinal plants. *Food Chemistry*. 108: 879–884.
- 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, O'Brien M, Gadek P y Quinn C. 2001. Myrtaceae revisited: A reassessment of infrafamilial groups. *American Journal of Botany*. 88(11): 2013-2025.