



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

**Sistemática del género *Garcinia* (Clusiaceae):
revisión taxonómica para Colombia y filogenia de
las especies Neotropicales**

Diana Marcela Medellín Zabala

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias, Departamento de Biología
Bogotá, Colombia
2015

**Sistemática del género *Garcinia* (Clusiaceae):
revisión taxonómica para Colombia y filogenia de
las especies Neotropicales**

Diana Marcela Medellín Zabala

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:
Magister en Ciencias – Biología

Directora:
Lauren Raz Ph.D.
Profesora Asociada, Instituto de Ciencias Naturales

Línea de Investigación:
Sistemática

Grupo de Investigación:
Sistemática y Evolución de Gimnospermas y Angiospermas Neotropicales (SEGAN)

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias, Departamento de Biología
Bogotá, Colombia
2015

*“Todas las teorías son legítimas y ninguna tiene importancia.
Lo que importa es lo que se hace con ellas”*

Jorge Luis Borges.

Para mis padres y hermano, por ser mi mayor fuente de inspiración, de apoyo y amor incondicional, y por ser la razón de mi más profunda admiración. Para mi abuelita Mercedes por ser la energía que me acompaña en cada paso que doy.

Agradecimientos

Al Programa de Estímulos a la Investigación *Thomas van der Hammen* del Jardín Botánico de Bogotá *José Celestino Mutis*, por haberme apoyado en el inicio de mi proyecto. A la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad Nacional de Colombia, por financiar mi trabajo bajo el Programa Nacional de Proyectos para el Fortalecimiento de la Investigación, la Creación y la Innovación en Posgrados (2013-2105). Al Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional (IBUN) por abrirme sus puertas y permitirme trabajar en el laboratorio de Cultivos Vegetales. Al Jardín Botánico de Missouri (MO) por haberme otorgado una de las Becas Bascom 2015 para revisar el material, y llevar a cabo varias actividades de mi investigación.

A Lauren por presentarme el mundo de las Clusias, por su disposición, dirección, apoyo profesional y personal, enseñanzas y amistad por más de siete años. A Peter Stevens por compartirme su pasión por las plantas y por su asesoría y supervisión durante mi visita a MO. A Fernanda Cabral por su amistad y colaboración en los ensayos de laboratorio en la Universidad de Missouri-St. Louis (UMSL). A Michael Nee por compartirme su conocimiento del género en Bolivia. A Álvaro Cogollo por compartirme sus experiencias de campo recolectando *Garcinias* en la década de los 80. A Norberto López por su disposición en el Jardín Botánico de Medellín. A Carlos Sarmiento por su apoyo personal y profesional para terminar mi Maestría. A Carolina Romero y Alba Arbeláez por su amistad y disposición en MO, y a los profesores Carlos Parra, Orlando Rivera, Favio González, Diego Giraldo, Martha Calderón, Luis Fernando García, Jaime Uribe, Clara Orozco, y Germán Amat, del Instituto de Ciencias Naturales, por haber sido parte de mi formación en el Pregrado y Posgrado.

A mi familia por brindarme apoyo, cariño y un hogar unido. A lo más lindo de Nariño por acompañarme desde el principio hasta el final en esta experiencia. A Vivi por ser mi llamado a la cordura, mi amiga y hermana. A Cata por su amistad, cariño y compañía durante el Posgrado, y a mis amigas de la infancia por crecer juntas y ser incondicionales a pesar de tener vidas tan diferentes. Gracias.

Resumen

Garcinia es un género de la familia Clusiaceae que incluye más de 250 especies de arbustos y árboles comunes en los bosques húmedos tropicales de tierras bajas. El 95% de las especies son de Asia, Australia y África tropical, por lo cual su estudio se ha dirigido principalmente a las especies del Viejo Mundo. A pesar de ser un género con atributos ecológicos y económicos importantes, su conocimiento en Colombia y en el Neotrópico es reducido, por lo cual, se realizó un tratamiento taxonómico del género para Colombia, con la revisión de las colecciones más importantes del país (COL, COAH, HUA, MEDEL, JAUM) y del Neotrópico (MO, NY), con el uso de caracteres morfométricos y herramientas estadísticas para apoyar la diferenciación entre especies. Se construyeron mapas de puntos de distribución y una clave taxonómica para la identificación de dichas especies, con base en el formato de la serie *Flora de Colombia*. También se realizó un análisis filogenético de las especies neotropicales a partir de secuencias de ITS, GBSSI, *rbcL* y *matK*, para evaluar la congruencia entre los análisis y la monofilia del grupo, aplicando los métodos de máxima parsimonia e inferencia Bayesiana. A partir de los análisis multivariados y de la revisión, se encontraron siete especies del género en Colombia, distribuidas desde los 0 a 2200 m de altitud, todas con frutos comestibles. Los análisis filogenéticos demostraron que a pesar de que los marcadores con mayor información para diferenciar entre especies de este grupo son ITS y *matK*, GBSSI y *rbcL* también aportan información, por lo cual, la hipótesis con mayor muestreo taxonómico, resolución, soporte y robustez, es la obtenida con el análisis bayesiano de los cuatro genes. De esta manera, se postula la hipótesis filogenética más robusta para el género hasta hoy, que demuestra la evidencia suficiente para sugerir a las especies neotropicales como un grupo natural.

Palabras clave: *Garcinia*, taxonomía, Colombia, caracteres morfométricos, filogenia, Neotrópico, máxima parsimonia, inferencia Bayesiana.

Abstract

Garcinia is a genus of the family Clusiaceae that includes more than 250 species of shrubs and trees that are common in moist and lowland tropical forests. The 95% of species are from Asia, Africa and Australia, so its study has been led mainly to the Old World species. Despite its ecological and economic importance, *Garcinia* has been poorly studied in, Colombia and in the Neotropics in general. Herein a taxonomic treatment is provided for the genus in Colombia, based on a revision of the most important herbarium collections in the country (COL, COAH, HUA, MEDEL, JAUM) and in the Neotropics (MO, NY, MEXU), using morphometric characters and statistical tools to support the differentiation among species. Maps of distribution points and a taxonomic key for the identification of these species were constructed, following the format of the series *Flora de Colombia*. A second objective of this study was to evaluate the monophyly of the neotropical species, for which a phylogenetic analysis was performed using ITS, GBSSI, *rbcL* and *matK* sequences analyzed with maximum parsimony and Bayesian inference. Based on multivariate analysis and the revision, I found that there are seven species of *Garcinia* in Colombia, distributed from 0 to 2200 m altitude, all with edible fruits. Phylogenetic analysis showed that although ITS and *matK* are the most informative markers to differentiate among species of this group, GBSSI and *rbcL* also provide information, therefore, the hypothesis with more taxonomic sampling, resolution, support and robustness, is the tree obtained with the Bayesian analysis using the four genes. Thus, with this work I suggest the most robust phylogenetic hypothesis for the genus to date, showing that the Neotropical species are a monophyletic group.

Key words: *Garcinia*, taxonomy, morphometric characters, phylogeny, Neotropics, maximum parsimony, Bayesian inference.

Contenido

| | Pág. |
|--|--------------|
| Resumen..... | IXX |
| Lista de figuras..... | XIV |
| Lista de tablas..... | XIV |
| Lista de símbolos y abreviaturas | XVIII |
| Introducción | 1 |
| 1. Capítulo 1: Análisis multivariado y revisión taxonómica de las especies de <i>Garcinia</i> en Colombia..... | 5 |
| 1.1 Introducción | 5 |
| 1.2 Metodología | 6 |
| 1.2.1 Revisión bibliográfica y nomenclatural | 6 |
| 1.2.2 Revisión de colecciones | 7 |
| 1.2.3 Trabajo de campo | 7 |
| 1.2.4 Análisis morfométrico..... | 7 |
| 1.2.4.1 Muestreo taxonómico..... | 7 |
| 1.2.4.2 Regresión logística multinomial..... | 9 |
| 1.2.4.3 Árbol de clasificación y regresión (CART) | 9 |
| 1.2.4.4 Análisis de Función Discriminante (AFD)..... | 9 |
| 1.2.4.5 Análisis de Componentes Principales (ACP)..... | 10 |
| 1.2.4.6 Análisis Discriminante y de Componentes Principales..... | 11 |
| 1.2.5 Construcción de la clave taxonómica..... | 11 |
| 1.2.6 Elaboración de mapas de puntos | 12 |
| 1.3 Resultados | 12 |
| 1.3.1 Análisis multivariado de algunos caracteres morfométricos de las especies de <i>Garcinia</i> reportadas en Colombia | 12 |
| 1.3.1.1 Análisis multivariados para el complejo de especies compuesto por <i>Garcinia gardneriana</i> , <i>G. intermedia</i> , <i>G. recondita</i> y <i>G. tonduziana</i> | 12 |
| 1.3.1.1.1 Análisis Discriminante y de Componentes Principales..... | 12 |
| 1.3.1.2 Análisis multivariados para las especies nativas en Colombia | 15 |
| 1.3.1.2.1 Regresión logística multinomial y CART | 15 |
| 1.3.1.2.2 Análisis de Función Discriminante (AFD)..... | 16 |
| 1.3.1.2.3 Análisis Discriminante y de Componentes Principales..... | 17 |
| 1.3.2 Tratamiento taxonómico del género <i>Garcinia</i> para Colombia..... | 19 |
| 1.3.2.1 Descripción genérica y clave taxonómica..... | 19 |
| 1.3.2.2 Descripción y mapas de puntos de distribución de las especies..... | 22 |

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 1.3.2.2.1 | <i>Garcinia gardneriana</i> (Planch. & Triana) Zappi | 22 |
| 1.3.2.2.2 | <i>Garcinia intermedia</i> (Pittier) Hammel | 24 |
| 1.3.2.2.3 | <i>Garcinia macrophylla</i> Mart. | 29 |
| 1.3.2.2.4 | <i>Garcinia madruno</i> (Kunth) Hammel..... | 33 |
| 1.3.2.2.5 | <i>Garcinia magnifolia</i> (Pittier) Hammel | 37 |
| 1.3.2.2.6 | <i>Garcinia mangostana</i> L. | 40 |
| 1.3.2.2.7 | <i>Garcinia tonduziana</i> comb. nov. | 42 |
| 1.4 | Discusión..... | 46 |
| 1.3 | Conclusiones | 48 |
| 2. | Capítulo 2: Evaluación de la monofilia de las especies Neotropicales de <i>Garcinia</i> | 51 |
| 2.1 | Introducción | 51 |
| 2.2 | Metodología | 52 |
| 2.2.1 | Muestreo taxonómico..... | 52 |
| 2.2.2 | Marcadores moleculares..... | 53 |
| 2.2.2.1 | Espaciador de transcripción interna (ITS)..... | 53 |
| 2.2.2.2 | Enzima almidón sintasa unida a gránulo - GBSSI | 56 |
| 2.2.2.3 | RuBisCO (<i>rbcL</i>)..... | 56 |
| 2.2.2.4 | Maturasa K (<i>matK</i>)..... | 57 |
| 2.2.3 | Optimización del protocolo de extracción de ADN | 57 |
| 2.2.3.1 | Preparación de la solución CTAB..... | 57 |
| 2.2.3.2 | Protocolo de extracción de ADN | 58 |
| 2.2.4 | Optimización del protocolo de amplificación de ADN..... | 58 |
| 2.2.5 | Análisis filogenético | 59 |
| 2.2.5.1 | Alineamiento de las secuencias..... | 59 |
| 2.2.5.2 | Análisis de sensibilidad..... | 59 |
| 2.2.5.3 | Análisis con Parsimonia | 60 |
| 2.2.5.4 | Análisis con Inferencia Bayesiana | 60 |
| 2.3 | Resultados | 61 |
| 2.3.1 | Reconstrucciones Filogenéticas | 62 |
| 2.3.1.1 | ITS..... | 62 |
| 2.3.1.2 | GBSSI | 65 |
| 2.3.1.3 | ITS y GBSSI | 67 |
| 2.3.1.4 | <i>rbcL</i> | 67 |
| 2.3.1.5 | <i>matK</i> | 72 |
| 2.3.1.6 | <i>rbcL</i> y <i>matK</i> | 74 |
| 2.3.1.7 | ITS, GBSSI, <i>rbcL</i> y <i>matK</i> | 76 |
| 2.3.1.8 | ITS y <i>matK</i> | 79 |
| 2.3.1.9 | Tapete navajo (Navajo rugs) | 82 |
| 2.4 | Discusión..... | 84 |
| 2.5 | Conclusiones | 90 |
| 3. | Conclusiones y recomendaciones | 93 |
| 3.1 | Conclusiones | 93 |
| 3.2 | Recomendaciones..... | 94 |
| A. | Anexo: Protocolos de cuantificación y cualificación de ADN | 95 |
| A.1 | Cuantificación por Fluorometría..... | 95 |
| A.2 | Protocolo de electroforesis..... | 95 |

| | |
|---|------------|
| B. Anexo: Iniciadores (primers) y protocolos de PCR | 97 |
| B.1 Primers | 97 |
| B.2 Protocolo de PCR..... | 97 |
| B.3 Programas de termociclador..... | 98 |
| C. Anexo: Evaluación de la convergencia en la búsqueda <i>MCMC</i> de los análisis con Inferencia Bayesiana..... | 99 |
| D. Anexo: Productos y socialización de resultados | 103 |
| Bibliografía | 105 |

Lista de figuras

| | Pág. |
|--|-------------|
| Figura 1. Ejes I y II del Análisis Discriminante mostrando las diferencias entre especies y la variabilidad observada (84,7%) con un ACP para 31 variables morfométricas..... | 13 |
| Figura 2. Ejes I y II del Análisis Discriminante mostrando las diferencias entre especies y la variabilidad observada (100%), con un ACPrincipales para 31 variables morfométricas..... | 14 |
| Figura 3. Eje I del Análisis Discriminante entre <i>G. gardneriana</i> , <i>G. intermedia</i> y <i>G. tonduziana</i> en función de 31 variables morfométricas..... | 15 |
| Figura 4. Árbol de clasificación y regresión de variables morfométricas de especies de <i>Garcinia</i> presentes en Colombia..... | 16 |
| Figura 5. Ejes I y II de dos Análisis Discriminantes aplicados a variables morfométricas, discriminando entre seis especies de <i>Garcinia</i> , en función de 9 y 31 variables. | 17 |
| Figura 6. Ejes I y II del Análisis Discriminante de las seis especies de <i>Garcinia</i> , con un Análisis de Componentes Principales para 31 variables morfométricas. | 18 |
| Figura 7. Eje I del Análisis Discriminante entre las seis especies de <i>Garcinia</i> en función de 31 variables cualitativas y cuantitativas..... | 18 |
| Figura 8. Caracteres vegetativos y reproductivos de <i>Garcinia gardneriana</i> | 23 |
| Figura 9. Caracteres diagnósticos de <i>Garcinia intermedia</i> | 25 |
| Figura 10. Caracteres vegetativos y reproductivos de <i>Garcinia intermedia</i> | 27 |
| Figura 11. Mapa de puntos de distribución de <i>Garcinia gardneriana</i> y <i>G. intermedia</i> | 28 |
| Figura 12. Caracteres diagnósticos de <i>Garcinia macrophylla</i> | 30 |
| Figura 13. Caracteres vegetativos y reproductivos de <i>Garcinia macrophylla</i> | 32 |
| Figura 14. Caracteres diagnósticos de <i>Garcinia madruno</i> | 34 |
| Figura 15. Caracteres vegetativos y reproductivos de <i>Garcinia madruno</i> | 35 |
| Figura 16. Mapa de puntos distribución de <i>Garcinia macrophylla</i> y <i>G. madruno</i> | 36 |
| Figura 17. Caracteres diagnósticos de <i>Garcinia magnifolia</i> | 38 |
| Figura 18. Caracteres de <i>Garcinia magnifolia</i> | 39 |
| Figura 19. Caracteres diagnósticos de <i>Garcinia mangostana</i> | 41 |
| Figura 20. Caracteres vegetativos y reproductivos de <i>Garcinia tonduziana</i> | 43 |
| Figura 21. Mapa de puntos de distribución de <i>G. magnifolia</i> , <i>G. mangostana</i> y <i>G. tonduziana</i> | 45 |
| Figura 22. Patrón floral de las especies de <i>Garcinia</i> en Colombia..... | 46 |
| Figura 23. Posición de la región ITS..... | 53 |
| Figura 24. Consenso estricto de 19 árboles igualmente parsimoniosos de 1229 pasos, obtenidos del análisis con secuencias de ITS..... | 63 |
| Figura 25. Topología de ITS obtenida con inferencia Bayesiana..... | 64 |

| | |
|---|-----|
| Figura 26. Consenso estricto de 71 árboles igualmente parsimoniosos de 466 pasos, obtenidos del análisis con secuencias de GBSSI..... | 65 |
| Figura 27. Topología de GBSSI obtenida con inferencia Bayesiana..... | 66 |
| Figura 28. Consenso estricto de 9 árboles igualmente parsimoniosos de 1741 pasos, obtenidos del análisis combinado con secuencias de ITS y GBSSI. | 68 |
| Figura 29. Topología de ITS y GBSSI obtenida con inferencia Bayesiana. | 69 |
| Figura 30. Consenso estricto de 93 árboles igualmente parsimoniosos de 156 pasos, obtenidos del análisis con secuencias de <i>rbcL</i> | 70 |
| Figura 31. Topología de <i>rbcL</i> obtenida con inferencia Bayesiana. | 71 |
| Figura 32. Consenso estricto de 2 árboles igualmente parsimoniosos de 621 pasos, obtenidos del análisis con secuencias de <i>matK</i> | 72 |
| Figura 33. Topología de <i>matK</i> obtenida con inferencia Bayesiana. | 73 |
| Figura 34. Consenso estricto de 47 árboles igualmente parsimoniosos de 797 pasos, obtenidos del análisis combinado con secuencias de <i>rbcL</i> y <i>matK</i> | 74 |
| Figura 35. Topología del análisis combinado de <i>rbcL</i> y <i>matK</i> obtenida con inferencia Bayesiana... | 75 |
| Figura 36. Consenso estricto de 71 árboles igualmente parsimoniosos de 2582 pasos, obtenidos del análisis combinado con secuencias de ITS, GBSSI, <i>rbcL</i> y <i>matK</i> | 76 |
| Figura 37. Topología del análisis combinado de ITS, GBSSI, <i>rbcL</i> y <i>matK</i> obtenida con inferencia Bayesiana. | 78 |
| Figura 38. Consenso estricto de 86 árboles igualmente parsimoniosos de 1888 pasos, obtenidos del análisis combinado con secuencias de ITS y <i>matK</i> | 80 |
| Figura 39. Topología del análisis combinado de ITS y <i>matK</i> obtenida con inferencia Bayesiana... | 81 |
| Figura 40. Tapete navajo de la topología obtenida con el análisis bayesiano, al combinar secuencias de ITS y <i>matK</i> | 83 |
| Figura 41. Flores de especies representativas de <i>Garcinia</i> y algunos de sus géneros segregados..... | 87 |
| Figura 42. Gráficas que evidencian convergencia en el análisis de ITS con 20 millones de generaciones de búsqueda MCMC. | 99 |
| Figura 43. Gráficas que evidencian convergencia en el análisis de GBSSI con 20 millones de generaciones de búsqueda MCMC. | 100 |
| Figura 44. Gráficas que evidencian convergencia en el análisis de <i>rbcL</i> con 20 millones de generaciones de búsqueda MCMC. | 100 |
| Figura 45. Gráficas que evidencian convergencia en el análisis de <i>matK</i> con 30 millones de generaciones de búsqueda MCMC. | 101 |
| Figura 46. Gráficas que evidencian convergencia en el análisis combinado de <i>rbcL</i> y <i>matK</i> con 30 millones de generaciones de búsqueda MCMC. | 101 |
| Figura 47. Gráficas que evidencian convergencia en el análisis combinado de ITS y GBSSI con 20 millones de generaciones de búsqueda MCMC. | 102 |
| Figura 48. Gráficas que evidencian convergencia en el análisis combinado de ITS, GBSSI, <i>rbcL</i> y <i>matK</i> con 30 millones de generaciones de búsqueda MCMC. | 102 |

Lista de tablas

| | Pág. |
|---|-------------|
| Tabla 1. Variables morfométricas, discretas y continuas, utilizadas en los análisis multivariados de las especies de <i>Garcinia</i> presentes en Colombia. | 8 |
| Tabla 2. Números de acceso de GenBank de las secuencias utilizadas en los análisis filogenéticos.. | 52 |
| Tabla 3. Resultados del análisis con máxima parsimonia realizado para cada marcador y para las matrices combinadas..... | 59 |
| Tabla 4. Modelo de sustitución y parámetros para el set de datos de cada marcador, obtenidos con jModeltest | 60 |
| Tabla 5. Protocolo de PCR utilizado en el IBUN para amplificación de ITS y GBSSI..... | 93 |

Lista de abreviaturas

| Abreviatura | Término |
|------------------|---|
| ACP | Análisis de componentes principales |
| ADN | Ácido desoxirribonucleico |
| ADNcp | ADNde cloroplasto |
| AFD | Análisis de función discriminante |
| AIC | Criterio de selección de Akaike |
| ARNr | Ácido ribonucleico ribosomal |
| BME | β -mercaptoetanol |
| CART | Árbol de clasificación y regresión |
| COAH | Herbario Amazónico Colombiano |
| COL | Herbario Nacional Colombiano |
| CTAB | Bromuro de hexadeciltrimetilamonio |
| DAP | Diámetro al pecho |
| DELTA | Description Language for Taxonomy |
| EDTA | Ácido etilendiaminotetraacético |
| GBSSI | Granule-bound starch synthase |
| HUA | Herbario Universidad de Antioquia |
| H ₂ O | Agua |
| IB | Inferencia Bayesiana |
| IBUN | Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional de Colombia |
| IC | Índice de consistencia |
| ICN | Instituto de Ciencias Naturales |
| IPNI | The International Plant Names Index |
| IR | Índice de retención |
| ITS | Internal transcribed spacer |
| JAUM | Herbario del Jardín Botánico de Medellín |
| K | Herbario del Jardín Botánico de Kew |
| LRT | Prueba de radio de verosimilitud |
| <i>matK</i> | Maturase K |
| MCMC | Cadenas de Markov Monte Carlo |
| MEDEL | Herbario Gabriel Gutiérrez Villegas |
| MEXU | Herbario Nacional de México |
| MO | Herbario del Jardín Botánico de Missouri |
| MP | Máxima Parsimonia |
| NaCl | Cloruro de sodio |
| Nerv. | Nervios |
| Nerv/cm | Nervios por centímetro |
| NY | Herbario del Jardín Botánico de New York |

| Abreviatura | Término |
|--------------------|--|
| pb | Pares de bases |
| PCR | Polymerase Chain Reaction |
| PP | Probabilidad posterior |
| PVP | Polivinilpirrolidona |
| <i>rbcL</i> | Ribulose biphosphate carboxylase large chain |
| <i>s.l.</i> | <i>sensu lato</i> (latín) |
| <i>s.n.</i> | Sin numeración |
| TBR | Tree-bisection-reconnection |
| Tris HCl | Tris Hidrocloruro |
| UNAM | Universidad Nacional Autónoma de México |
| VIF | Factor de inflación de la varianza |

Introducción

Garcinia L. es un género de la familia Clusiaceae (Guttiferae), nombrado por Linneo en homenaje a Laurent Garcin (1638-1757), un botánico suizo de la Compañía Holandesa de las Indias Orientales, quien publicó la primera descripción del mangostino (Osman *et al.*, 2006). Este grupo incluye más de 250 especies de arbustos y árboles siempre verdes, dioicos y con látex amarillo o blanco, comunes en los bosques húmedos y tropicales de tierras bajas (Stevens, 2006). El 95% de las especies son de Asia, Australia y África tropical, por lo cual su estudio se ha dirigido principalmente a las especies del Viejo Mundo. El mangostino (*Garcinia mangostana* L.) es de origen asiático y hoy en día se encuentra cultivado en todo el trópico. Es popularmente conocida como “la reina de las frutas” por el mesocarpio dulce y jugoso y por sus propiedades medicinales.

Las flores de *Garcinia s.l.* exhiben una gran diversidad morfológica, y diferentes interpretaciones de esta diversidad han llevado a que varios géneros hayan sido segregados de *Garcinia* durante los últimos 250 años. La preferencia por una circunscripción genérica amplia ha surgido en los últimos 30 años, pero aún no se ha publicado una clasificación infragenérica estable (Sweeney, 2008). Históricamente, uno de los principales problemas de *Garcinia* ha sido su incorrecta distinción del género *Rheedia* L. que era un género exclusivo del Nuevo Mundo, mientras que *Garcinia* era considerado como un género nativo y exclusivo del Viejo Mundo. Robson (1958) discutió el error que existe al separar a *Rheedia* de *Garcinia*, afirmando que las características florales que supuestamente distinguían a estos dos grupos, como el número de partes del perianto y el grado de fusión de los estambres, ocurren en ambos grupos (Hammel, 1989; Adams, 1970). De ahí que existan varios estudios en donde se ha tratado a *Rheedia* como sinónimo de *Garcinia* (Adams, 1972; Fournet, 1978; Rivero *et al.*, 2006; Lim, 2012).

Según Stevens (2006), la familia Clusiaceae se clasifica de la siguiente manera:

- I. Subfamilia Kielmeyeroideae Engler (1888)
 1. Tribu Calophylleae Choisy (1824): incluye 12 géneros
 2. Tribu Endodesmieae Engler (1921): incluye 2 géneros
- II. Subfamilia Clusioideae Engler (1888)
 1. Tribu Clusieae Choisy (1824): incluye 4 géneros
 2. Tribu Garcinieae Choisy (1824): incluye a **Garcinia** y *Chrysochlamys*
 3. Tribu Symphonieae Choisy (1824): incluye 7 géneros

De acuerdo al APG III (Stevens, 2001) Kielmeyeroideae es considerada actualmente como una familia distinta de Clusiaceae (Calophyllaceae), debido a que hay datos moleculares que apoyan su separación (Ruhfel *et al.*, 2011). Sin embargo, aún no se ha publicado una nueva clasificación de Clusiaceae que excluya formalmente a Kielmeyeroideae.

Muchos de los géneros de la familia son comunes en el Viejo y Nuevo Mundo. Es probable que su distribución refleje la continuidad de los continentes en el pasado ya que algunas especies son comunes en más de un continente (Woodson *et al.*, 1980). Muchas de las especies comestibles de esta familia pertenecen al género *Garcinia*. Son de gran importancia económica porque contienen valiosos metabolitos secundarios denominados xantonas. Estos metabolitos son potentes antioxidantes que eliminan radicales libres, evitando daños en la membrana celular y en el ADN que más adelante pueden conducir a enfermedades cardiovasculares o a cáncer. Las xantonas también poseen propiedades antimicrobiales, anti-inflamatorias y antivirales (Lim, 2012). Hasta hoy, se han identificado 515 xantonas presentes en 20 familias de plantas terrestres, de las cuales 100 se encuentran en las clusiáceas y más de 40 en el mangostino (*G. mangostana*) (Han *et al.*, 2009).

Concepto de especie

El *concepto de especie* que mejor recoge la idea original de Darwin acerca de la divergencia que se da entre los individuos de una misma población, como producto de la selección natural con el paso de las generaciones, y que culmina con la aparición de nuevas especies, es el sugerido por Simpson (1951), conocido como concepto **evolutivo** de especie. Éste se define como un linaje (sucesión de poblaciones ancestro-descendiente) que evoluciona separadamente de otros linajes y que tiene una estructura evolutiva propia. Este concepto tiene la facultad de englobar las fuerzas evolutivas que actúan sobre las poblaciones, y además, da la pauta para considerar procesos de extinción y sobre todo de especiación. Para Mayden (1997) el concepto evolutivo es el único capaz de acomodar o acoger a todos los grupos conocidos que hacen parte de la diversidad biológica. Con este concepto los atributos y patrones de especie pueden ser interpretados correctamente con respecto a un único descendiente. Sin embargo, por sí mismo no permite reconocer a los linajes, es decir, este concepto no propone un método capaz de reconocer y delimitar especies (Taylor *et al.*, 2000). Por lo tanto, un concepto de especie que describe y delimita a estos grupos, es aquel que engloba la idea fundamental de que las especies son unidades evolutivas, como producto de la especiación, con una *metodología* capaz de reconocerlas y delimitarlas (Eguiarte *et al.*, 2007). Así, el concepto evolutivo puede funcionar como el *concepto primario* y monista que abarque a todas las entidades consideradas como especies. Los demás conceptos, secundarios, pueden funcionar como herramientas operacionales, que en cada caso, y a través de la variación que hay en la naturaleza, pueden ser utilizados para descubrir entidades de acuerdo con el concepto primario (De Queiroz, 2007).

En el reconocimiento de las especies es suficiente el uso de cualquier tipo de caracteres morfológicos, conductuales, fisiológicos, entre otros, para descartar o integrar individuos a entidades biológicas (Eguiarte *et al.*, 2007). Este tipo de reconocimiento se formalizó antes de la teoría evolutiva con Linneo, quien introdujo en 1759 el concepto de especie como *una forma de reconocer y dar nombre a las distintas entidades biológicas creadas por un ser superior*. De hecho, este tipo de reconocimiento a través de cualquier carácter morfológico se conoce en honor a Linneo como concepto morfológico o linneano de especie (Mayden, 1997). En este trabajo se ha seguido este concepto, teniendo en cuenta que existen

herramientas estadísticas para delimitar grupos con soporte robusto, y que a su vez, este concepto operativo se puede considerar como una herramienta para brindarle rigor metodológico al concepto evolutivo (primario) de especie.

Justificación

A pesar de que *Garcinia* es un género con atributos ecológicos y económicos importantes, su conocimiento en Colombia y en el Neotrópico es reducido. Por lo tanto, es necesario realizar una revisión del género para resolver sus problemas taxonómicos, conocer las especies presentes en Colombia y aumentar el nivel de determinación en las principales colecciones del país. Por otra parte, es importante realizar un primer análisis molecular del género que incluya información de las especies neotropicales con el fin de conocer su posición filogenética y evaluar su monofilia.

Objetivo general

Realizar un estudio sistemático de las especies neotropicales del género *Garcinia* (Clusiaceae).

Objetivos específicos

- Aportar un tratamiento taxonómico de *Garcinia* para Colombia, con descripciones, mapas de puntos de distribución, y una clave para la identificación de las especies.
- Optimizar un protocolo para la extracción de ADN de material de herbario para las especies de este grupo.
- Evaluar la monofilia de las especies neotropicales de *Garcinia* a partir de datos moleculares.

1. Capítulo 1: Análisis multivariado y revisión taxonómica de las especies de *Garcinia* en Colombia

1.1 Introducción

Las flores de *Garcinia s.l.* exhiben una gran diversidad morfológica, y diferentes interpretaciones de esta diversidad han llevado a que varios géneros hayan sido segregados de *Garcinia* durante los últimos 250 años. La preferencia para una circunscripción genérica amplia es de los últimos 30 años, pero aún no se ha publicado una clasificación infragenérica estable (Sweeney, 2008). Uno de los principales problemas de *Garcinia* ha sido su incorrecta separación del género *Rheedia*. Anteriormente, *Rheedia* era considerado como un género exclusivo del Nuevo Mundo, y a *Garcinia* como un género nativo y exclusivo del Viejo Mundo. Estas diferencias se basaban en características particulares en su morfología floral. Más adelante, Robson (1958) discutió el error que existía al separar a *Rheedia* de *Garcinia*, afirmando que las características que supuestamente distinguían a estos dos grupos, como el número de partes del perianto y el grado de fusión de los estambres, no eran constantes y que, por el contrario, ocurrían en ambos géneros (Hammel, 1989; Adams, 1970). De esta manera, Adams (1972), Fournet (1978), Jones (1980), Kearns *et al.*, (1998), Schatz (2001) y en otros estudios más recientes (Rivero *et al.*, 2006; Lim, 2012), se ha considerado a *Rheedia* como un sinónimo de *Garcinia*. No obstante, aún se encuentran tratamientos como el de D'Arcy (1980), en donde se mantiene la separación de los géneros por carecer de transferencias válidas de las especies de *Rheedia* a *Garcinia*.

Debido a que en Colombia y en varios países del Neotrópico aún no hay una delimitación clara de las especies de este grupo, e incluso existen varios complejos de especies difícilmente diferenciables, se realizaron múltiples análisis multivariados con caracteres

morfométricos de las especies reportadas en Colombia, muchas de las cuales también se distribuyen en Centro América y Sur América, para identificar los caracteres que poseen mayor poder discriminante o que pueden conducir a una diagnóstico, y así, establecer límites claros entre dichas especies, sobre todo en las del complejo que incluye a *G. intermedia* (Pittier) Hammel, *G. recondita* ined., *G. tonduziana* com. nov. y *G. gardneriana* (Pl. & Tr.) Zappi. Estas especies forman un complejo debido a que tienen características vegetativas y reproductivas muy similares que dificultan su diferenciación. En este capítulo el nombre *G. recondita* hace referencia a los individuos de *G. intermedia* que fueron redeterminados por Barry Hammel en mayo de 2015 como especie nueva. Hammel distingue a *G. recondita* de *G. intermedia* con base en la evidencia del nervio submarginal en el envés de las hojas de *G. recondita* y la carencia del mismo en las hojas de *G. intermedia*. En este capítulo también se prueba la hipótesis de que *Garcinia recondita* constituye una especie distinta con base en criterios morfométricos. Luego de resolver los problemas taxonómicos con el uso de estos análisis, se realizó la revisión taxonómica del género para el país, con el fin de describir la diversidad del género en Colombia, completar las transferencias de *Rheedia* a *Garcinia*, y aportar el primer tratamiento taxonómico para uno de los géneros de la familia Clusiaceae a la serie *Flora de Colombia*. De esta manera, se espera que este tratamiento pueda utilizarse como una herramienta para facilitar el reconocimiento y la determinación del material del grupo, en las principales colecciones del país.

1.2 Metodología

1.2.1 Revisión de bibliografía y nomenclatura

Para plantear el marco de referencia del estudio se revisó el estado del arte consultando artículos, protólogos y catálogos disponibles en bases de datos, bibliotecas y revistas en línea como IPNI, The Plant List, Jstor Global Plants y Biodiversity Heritage Library. Se revisaron las especies reportadas para el Neotrópico, sus basiónimos, sinónimos nomenclaturales y sinónimos taxonómicos, sistematizando la información en una base de datos.

1.2.2 Revisión de colecciones

Se revisaron los especímenes de *Garcinia* y *Rheedia* depositados en los herbarios nacionales e internacionales que tienen las colecciones más representativas del género (COL, COAH, JAUM, MEDEL, HUA, MO, NY, K, MEXU; se accedió al material por visitas presenciales y visitas a las plataformas con colecciones virtuales). Para las especies de Colombia también se recopiló la información de los nombres comunes, obtenidos de las etiquetas de los ejemplares y de la consulta en la base de datos de los nombres comunes de plantas de Colombia (www.biovirtual.unal.edu.co/nombrescomunes/). Para completar la información adquirida en los herbarios nacionales se realizaron dos visitas al herbario del Jardín Botánico de Missouri (MO) ya que cuenta con la colección del Neotrópico más representativa del género y de la familia. Adicionalmente, se solicitaron muestras de tejido en sílica gel disponibles en el banco de ADN de MO para dar lugar al trabajo de laboratorio.

1.2.3 Trabajo de campo

Debido a la carencia de material fértil en las colecciones de *Garcinia*, se realizaron dos salidas de campo en época de floración y fructificación a varios de los municipios reportados con mayor diversidad en el grupo, Jardín, Medellín y Río Claro (Antioquia) con tres objetivos: (1) diferenciar las especies con caracteres florales, (2) enriquecer la colección fértil del género en COL y (3) recolectar muestras frescas de tejido en sílica gel para los análisis de laboratorio.

1.2.4 Análisis morfométrico

1.2.4.1 Muestreo taxonómico

Para los análisis multivariados se tomaron datos de 41 caracteres morfométricos (21 variables discretas y 20 continuas) de las especies de *Garcinia* reportadas para Colombia (Tabla 1). Los especímenes de *G. mangostana* fueron excluidos de todos los análisis debido a su diferenciación en la nervadura, tipo de inflorescencia y configuración de las flores, típica en las especies de la sección *Garcinia* del Viejo Mundo (Sweeney, 2008). El tamaño

de la muestra de cada especie varió entre 15 y 99 especímenes debido a la disponibilidad de ejemplares almacenados en los herbarios visitados. Se dio lugar a un análisis inicial con el complejo de especies compuesto por *G. gardneriana*, *G. intermedia*, *G. recondita* y *G. tonduziana* para buscar las posibles variables que pudieran discriminar entre estas especies. La matriz de datos para este análisis contó con 97 individuos (15 *G. gardneriana*, 45 *G. intermedia*, 21 *G. tonduziana* y 16 *G. recondita*) de Colombia, Perú, Ecuador, Brasil, Bolivia, Paraguay, Costa Rica, Panamá, El Salvador y Guatemala. Posteriormente, se dio lugar a un segundo análisis incluyendo no solo a las especies del complejo, sino también a las otras tres especies que hay en Colombia (30 *G. macrophylla*, 99 *G. madruno* y 44 *G. magnifolia*). La matriz de este segundo análisis contó con un total de 270 individuos.

Tabla 1. Variables morfológicas, discretas y continuas, utilizadas en los análisis multivariados de las especies de *Garcinia* presentes en Colombia. 2° = secundarios, inter2° = intersecundarios, nerv. = nervios.

| Variables discretas | Variables continuas |
|---|---|
| Color del látex: blanco/amarillo | Altura (m) |
| Forma de la hoja: elíptica, lanceolada, elíptico-lanceolada | Diámetro al pecho -DAP- (cm) |
| Ápice de la hoja: acuminado, obtuso, agudo, muy acuminado | Longitud de la hoja (cm) |
| Base de la hoja: aguda, obtusa, inequilátera, levemente aguda | Ancho de la hoja (cm) |
| Grosor hojas: coriáceas, muy coriáceas, poco coriáceas | Densidad de nervadura secundaria (nerv./cm) |
| Fusión nervios 2° e inter2° hacia el margen: presente/ausente | Densidad de nervadura intersec. (nerv./cm) |
| Nervio submarginal: evidente/inconspicuo | Longitud del pecíolo (cm) |
| Canales de resina en el envés: evidentes/inconspicuos | Ancho del pecíolo (cm) |
| Número de pétalos | Longitud del pedicelo (cm) |
| Forma de los pétalos: rotundos | Diámetro del disco nectarífero (mm) |
| Color de la corola: blanco | Longitud de los pétalos (mm) |
| Número de sépalos | Ancho de los pétalos (mm) |
| Disposición de los estambres: libres | Longitud de los sépalos (cm) |
| Forma de las anteras: bitecas y globosas | Longitud de los estambres (mm) |
| Dehiscencia de las anteras: longitudinal | Ancho de los estambres (mm) |
| Inflorescencia: fascículos axilares | Longitud de las anteras (mm) |
| Color del fruto maduro: amarillo | Longitud del fruto (cm) |
| Forma del fruto: elipsoide, ovoide, globoso | Ancho del fruto (cm) |
| Tipo de epicarpio: liso/rugoso | Longitud de las semillas (cm) |
| Forma de las semillas: elíptica/ovoide | Ancho de las semillas (cm) |
| Número de semillas por fruto | |

Se aplicó un análisis de función discriminante (AFD) y un análisis discriminante y de componentes principales (AFD+ACP) a las dos matrices de datos. Para el segundo análisis también se hizo una regresión logística multinomial y se obtuvo un árbol de clasificación y regresión (CART) como método complementario a la regresión, utilizando el paquete StatR en la interface RWizard v. Beta 1.0 (Guisande *et al.*, 2014).

1.2.4.2 Regresión logística multinomial

Debido a que hay variables que presentan más de dos categorías, se realizó una regresión logística multinomial previa al análisis discriminante, con el fin de evaluar la calidad del modelo que utiliza el AFD para discriminar, e identificar el porcentaje de individuos correctamente asignados, por validación cruzada. En esta validación se excluye a un individuo para luego agrupar a las especies, y se comparan las agrupaciones con y sin dicho individuo. Este proceso se repite hasta excluir a todos los individuos del análisis, uno por uno, midiendo el grado de acierto de que cada individuo caiga en una agrupación o especie en particular. Si este porcentaje de acierto supera al 90%, entonces el modelo para discriminar es válido.

1.2.4.3 Árbol de clasificación y regresión (CART)

Se obtuvo un árbol de clasificación y regresión (CART), el cual muestra las variables que mejor discriminan a las especies y es complementario a la regresión (Guisande *et al.*, 2014). Según este análisis, las variables que están más cerca a la raíz del árbol (primeros nodos), son las que tienen una mayor capacidad de discriminación.

1.2.4.4 Análisis de Función Discriminante (AFD)

Es una técnica estadística multivariada de clasificación, ampliamente utilizada para caracterizar clases de elementos cuando se dispone de un cierto número de variables. El análisis discriminante permite, a partir de una clasificación inicial, obtener una nueva clasificación en función de los valores observados de un conjunto de variables. El método consiste en la determinación de unas funciones de las variables originales, llamadas *funciones discriminantes*, que permiten decidir en qué clase debe estar cada elemento, utilizando como criterio de asignación la proximidad (o similitud) de cada elemento a las distintas clases o grupos existentes (Guisande *et al.*, 2014). Para comprobar si el Análisis Discriminante es apropiado para un conjunto de datos específico, se debe tener en cuenta el resultado de la validación cruzada (regresión multinomial) que muestra el porcentaje de casos asignados correctamente en aquellos elementos de la muestra cuya clase es conocida (Guisande *et al.*, 2014).

La construcción de las funciones discriminantes (combinaciones lineales de las variables originales), se realiza buscando aquellas que hacen máxima la separación entre grupos, lo que equivale a minimizar la variabilidad dentro de las clases. Las funciones obtenidas permiten discriminar de la mejor forma posible entre los elementos pertenecientes a las distintas clases o grupos. La asignación de los elementos a clases se realiza mediante el *criterio de Bayes*, el cual plantea que cada elemento se asigna a la clase para la que es mayor la probabilidad de pertenencia, condicionada por los valores que toman las funciones discriminantes.

Se realizó un primer AFD incluyendo las variables obtenidas en el CART, y un segundo AFD con todas las variables para evaluar diferencias y similitudes entre las agrupaciones de ambos diagramas.

1.2.4.5 Análisis de Componentes Principales (ACP)

Este análisis consiste en la transformación del conjunto de variables originales en otro conjunto de variables (componentes principales), obtenidas de su combinación lineal. Las nuevas variables, en igual número que las antiguas, conservan toda la información (variabilidad del conjunto de objetos) de las variables iniciales, pero la mayoría de los componentes principales tienen una variabilidad tan pequeña que pueden ser ignoradas, de tal manera que unos pocos componentes, generalmente tres o menos, permiten representar y explicar razonablemente el conjunto de objetos de la muestra sin pérdida importante de información (Guisande *et al.*, 2014).

La principal virtud del ACP consiste en la reducción de la complejidad de los datos al pasar de muchas variables a pocas variables (generalmente una o dos), que pueden ser representadas gráficamente. Frente a esta ventaja, el inconveniente de las nuevas variables está en la pérdida parcial de información y en el hecho de que las variables originales tienen un significado real del que carecen en general los componentes, que son mezcla o combinación de variables. El *primer componente principal* es la *combinación lineal de las variables iniciales que tienen máxima varianza*. El segundo componente es la combinación

lineal de las variables originales con máxima varianza con la condición adicional de ser independiente de la primera (ortogonal), y así sucesivamente se pueden obtener todos los componentes principales, que siendo independientes entre sí, contienen información distinta. Por lo tanto, cada componente principal explica la máxima variabilidad residual posible, es decir, la variabilidad que aún no han explicado las anteriores (Guisande *et al.*, 2014).

Para encontrar las combinaciones óptimas de las variables originales se siguió el criterio de la varianza, en donde se seleccionan los componentes que explican un porcentaje suficiente de la varianza (80-90%). Ya que en muchos modelos estadísticos multivariados es necesario utilizar variables que no estén correlacionadas porque pueden resultar redundantes y contener prácticamente la misma información, existen funciones como el factor de inflación de la varianza (VIF), que descartan a dichas variables (Guisande *et al.*, 2014). Sin embargo, para el análisis de componentes principales se excluyó este factor para no eliminar ninguna variable, ya que esto puede sesgar el modelo y además, es preferible mantener una variable que aporta información, a costa de aumentar la variabilidad, que suprimirla.

1.2.4.6 Análisis Discriminante y de Componentes Principales

Esta función combina la potencia del Análisis Discriminante que permite determinar si unas categorías se pueden diferenciar con base en unas variables, para luego aplicar un Análisis de Componentes Principales a cada una de las categorías, y así, determinar cuáles son las variables que presentan mayor variación dentro de cada categoría. Este análisis se realizó con el fin de combinar en un diagrama el AFD y el ACP.

1.2.5 Construcción de la clave taxonómica

Con base en los resultados sobre los análisis morfométricos de la revisión del material y de la revisión de las fotografías de los tipos disponibles en JSTOR Global Plants (<http://plants.jstor.org>), y con ayuda del software DELTA (Dallwitz *et al.*, 2000) se construyó una clave taxonómica para la identificación de las especies.

1.2.6 Elaboración de mapas de puntos

Se registró la geo-información de los especímenes presentada en las etiquetas, en TROPICOS y otras bases de datos, para la construcción de un archivo de localidades por especie. Para las especies de Colombia se construyeron mapas de puntos de distribución siguiendo el formato de *Flora de Colombia* (ICN, 1983).

1.3 Resultados

1.3.1 Análisis multivariado de algunos caracteres morfométricos de las especies de *Garcinia* reportas en Colombia

De las 41 variables utilizadas, diez resultaron constantes y por lo tanto fueron excluidas de los análisis. Todas las especies revisadas presentan inflorescencia masculina en fascículos axilares, cuatro pétalos blancos y rotundos, dos sépalos, estambres libres con anteras bitecas, globosas, con dehiscencia longitudinal y fruto amarillo al madurar.

1.3.1.1 Análisis multivariados para el complejo de especies compuesto por *G. gardneriana*, *G. intermedia*, *G. recondita* y *G. tonduziana*

1.3.1.1.1 Análisis Discriminante y de Componentes Principales

Para este análisis el tipo de epicarpio también resultó constante en los cuatro grupos (epicarpio liso), por lo cual se excluyó. Por lo tanto, la matriz utilizada para este análisis contó con 30 variables y 97 especímenes correspondientes a cuatro especies. El gráfico de la figura 1 muestra las agrupaciones con este análisis. Para la primera función discriminante las variables más importantes fueron la longitud del disco (22,6%), el ancho de los estambres (21,51%) y el diámetro de las anteras (16,62%), y para la segunda función la fusión de los nervios hacia el margen (41,43%), los canales de resina (17,46%) y la longitud de los sépalos (12,36%).

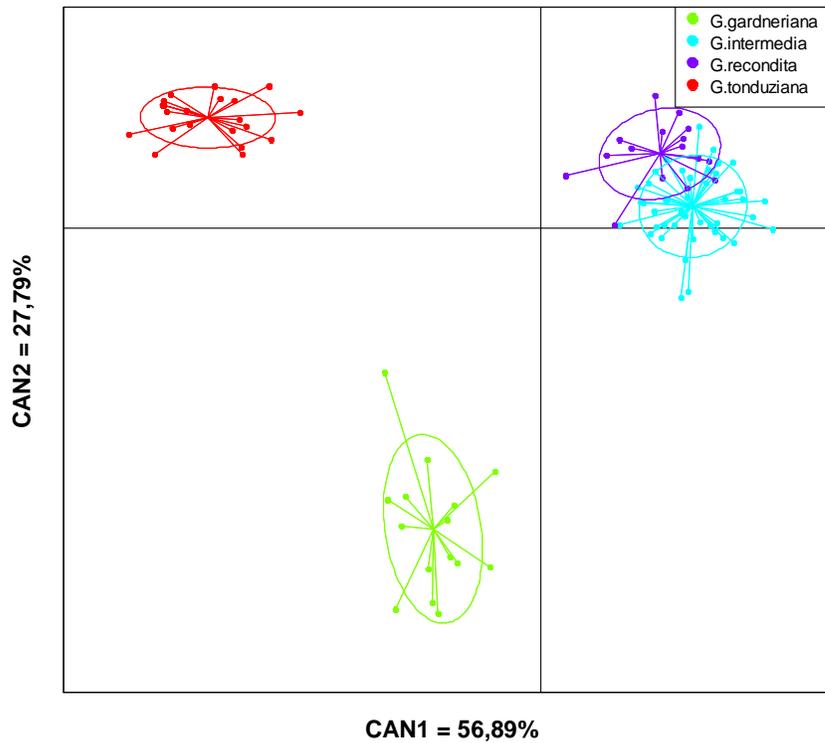


Figura 1. Ejes I y II del Análisis Discriminante que muestra las diferencias entre especies y la variabilidad observada (84,7%), con un Análisis de Componentes Principales para 30 variables morfométricas.

En el gráfico se observa la diferenciación de *Garcinia gardneriana* y *G. tonduziana*. Sin embargo, *G. intermedia* y *G. recondita* se sobrelapan, por lo cual, los individuos corresponden sustancialmente a la misma especie. Por lo tanto, se rechaza la hipótesis de que *G. recondita* corresponde a una especie diferente, ya que el único carácter por el cual se separaron fue la evidencia del nervio submarginal en *G. recondita*. Sin embargo, al igual que en otras especies del género, en *G. intermedia* puede presentarse o no dicho nervio, por lo tanto, este carácter no soporta la diferenciación de estas dos especies y los individuos de *G. recondita* corresponden a *G. intermedia*.

La figura 2 muestra el análisis discriminante y de componentes principales incluyendo a los individuos de “*Garcinia recondita*” dentro del grupo de *G. intermedia*. En este análisis se identificó correctamente al 100% de los casos, y al 98,96% de los casos por validación cruzada. Además, los dos ejes explicaron el 100% de la variabilidad (CAN1=67,24% y CAN2=32,76%).

Con base en estos resultados no se reconoce a *Garcinia recondita* como especie, por lo tanto, los especímenes así determinados por Hammel no son más que otros individuos de *Garcinia intermedia*. En este caso, las variables más importantes para esta agrupación fueron, para la primera función discriminante (eje horizontal): el ancho de los estambres (24,72%), la longitud del disco (21,24%), el diámetro de las anteras (13,15%), la forma de la hoja (12,57%) y la fusión de los nervios secundarios e intersecundarios (11,24%), y para la segunda función discriminante (eje vertical), de nuevo la fusión de la nervadura (41,22%), la evidencia de los canales de resina (16,37%) y el diámetro de las anteras (12,22%).

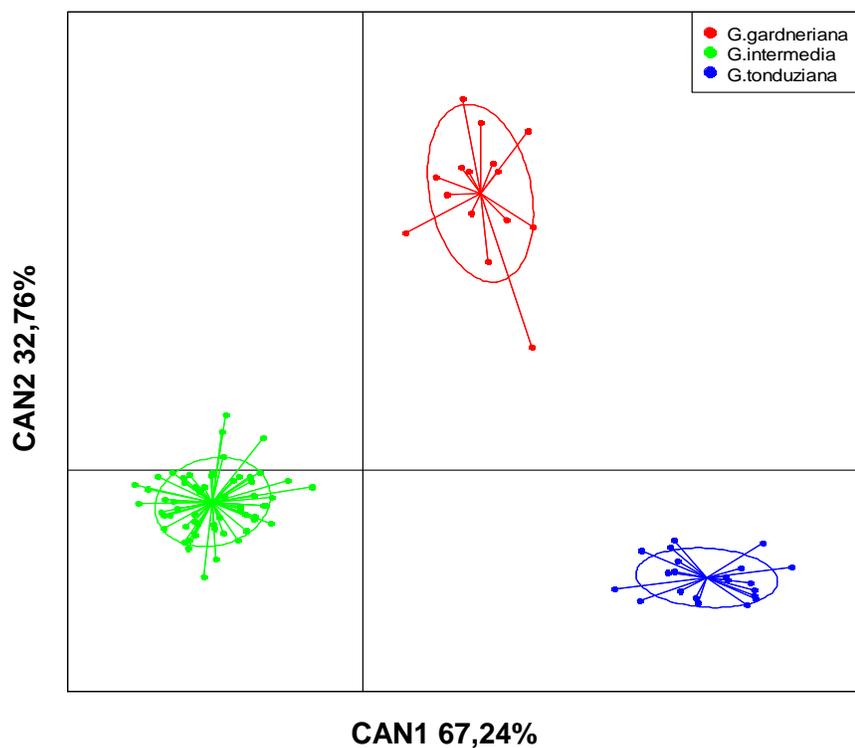


Figura 2. Ejes I y II del Análisis Discriminante que muestra las diferencias entre especies y la variabilidad observada (100%), con un Análisis de Componentes Principales para 30 variables morfológicas.

Las cinco variables más importantes para la agrupación de la primera función contribuyeron con un 82,92% a la agrupación, y el 17,08% es responsable de otras variables como el ancho, base y ápice de la hoja, la densidad de nervios secundarios, la longitud y ancho del peciolo, la forma del fruto y de la semilla (Fig. 3).

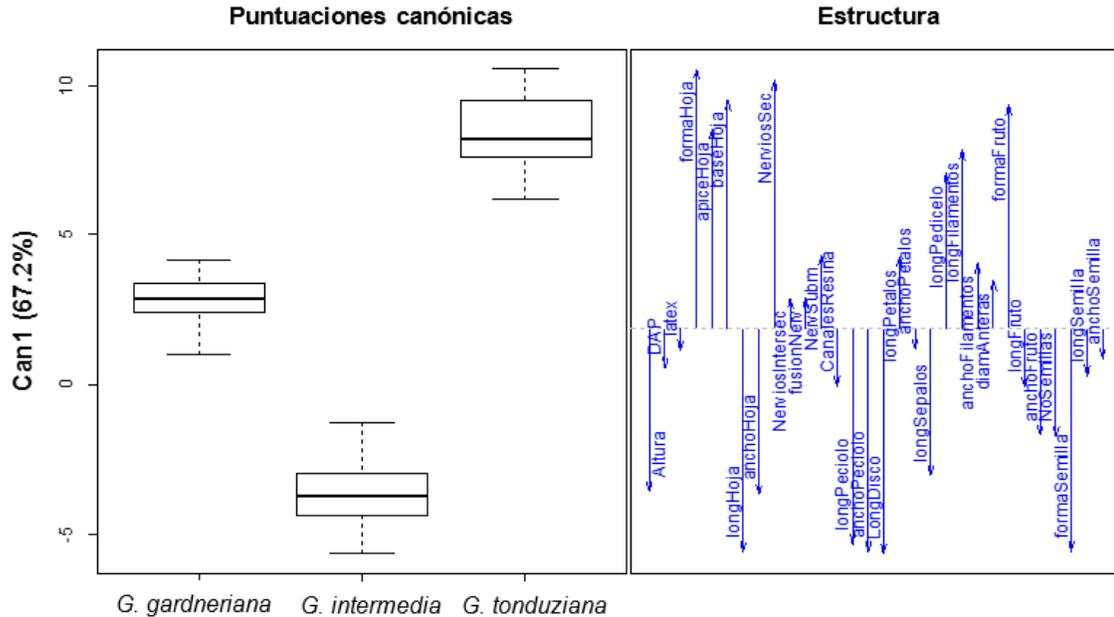


Figura 3. Eje I del Análisis Discriminante entre *G. gardneriana*, *G. intermedia* y *G. tonduziana*, en función de 30 variables morfométricas.

1.3.1.2 Análisis multivariados para las especies nativas de *Garcinia* presentes en Colombia

La matriz para estos análisis contó con 31 variables y 270 individuos correspondientes a seis especies, 15 *G. gardneriana*, 61 *G. intermedia*, 21 *G. tonduziana*, 30 *G. macrophylla*, 99 *G. madruno* y 44 *G. magnifolia*.

1.3.1.2.1 Regresión logística multinomial y árbol de clasificación y regresión (CART)

Con la regresión logística multinomial se identificó correctamente al 100% de los casos. El CART de la figura 4 muestra las variables más importantes y que discriminan mejor entre especies. La fusión de los nervios secundarios e intersecundarios, la forma del fruto, y la evidencia de canales resiníferos son las variables que están más cerca de la raíz del árbol (primeros nodos) y por lo tanto, las que tienen una mayor capacidad de discriminación.

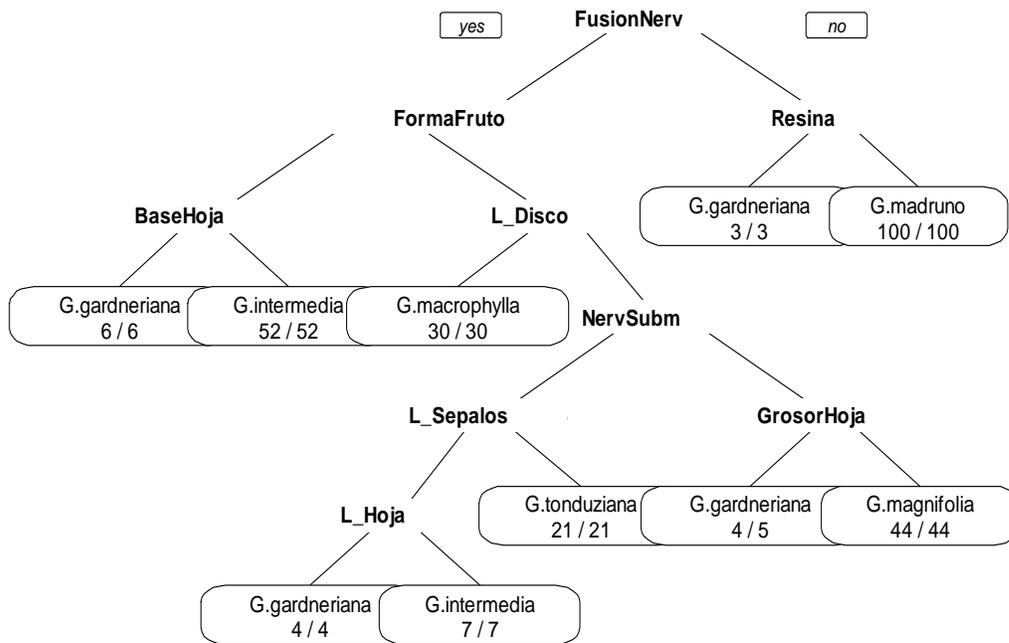


Figura 4. Árbol de clasificación y regresión de variables morfométricas para seis especies de *Garcinia*. Los números debajo de las especies corresponden a la proporción de individuos correctamente clasificados con las nueve variables de la regresión.

1.3.1.2.2 Análisis de Función Discriminante (AFD)

Ya que el modelo discriminante evaluado con la regresión fue válido, se dio lugar a los dos análisis discriminantes mencionados en la metodología, uno con 31 variables y otro con las nueve variables propuestas en el CART. Con el primer análisis se explicó el 89,1% de la variabilidad, mientras que el segundo con solo nueve caracteres, explicó el 97,6% de la variabilidad (Fig. 5). Sin embargo, en el gráfico con nueve variables no todas las agrupaciones se diferenciaron bien, de manera que a pesar de que se tomen las variables con mayor poder discriminante, si su contribución en la agrupación no corresponde al 100%, van a existir otras variables que aunque no tienen tanto poder discriminante, son importantes en el análisis. Además, al utilizar todas las variables se asignó correctamente al 100% de los casos y el 98,16% de los casos empleando validación cruzada. En contraste, con las nueve variables se identificó correctamente un 98,15% de los casos y 95,94% por validación cruzada. De manera que las especies resultan mejor diferenciadas al emplear todas las variables.

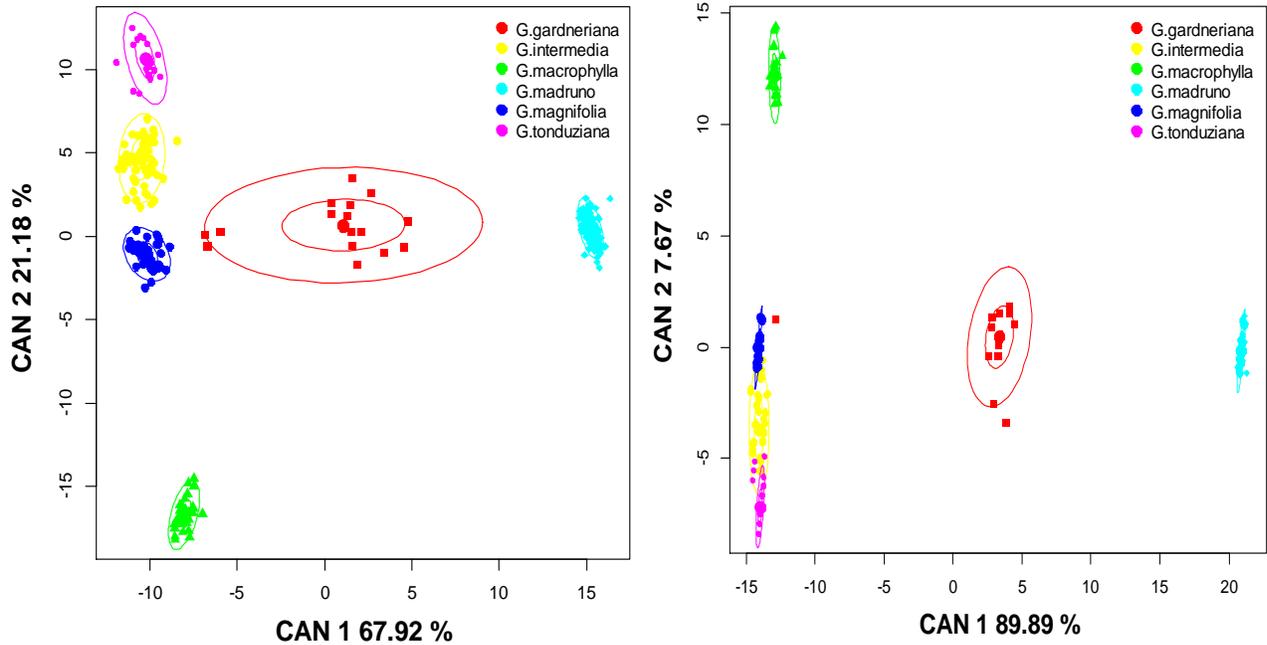


Figura 5. Ejes I y II de dos Análisis Discriminantes aplicados a variables morfométricas en el que se discrimina entre especies de *Garcinia*, en función de 31 variables (izquierda) y 9 variables (derecha). Con 31 variables se explicó el 89,1% de la variabilidad (67,92% (CAN1) + 21,18% (CAN2)). Con 9 variables se explicó el 97,6% de la variabilidad (89,89% (CAN1) + 7,67% (CAN2)).

1.3.1.2.3 Análisis Discriminante y de Componentes Principales

El diagrama obtenido en este análisis se muestra en la figura 6. Las variables que le dan estructura a esta agrupación, es decir, las mayormente responsables de esta clasificación, para la primera función discriminante, fueron la evidencia de canales de resina en el envés de las hojas (39,53%), la fusión de nervios secundarios e intersecundarios hacia el margen de la hoja (36,52%) y el epicarpio (19,87%) (Fig. 7). Para la segunda función discriminante fueron la longitud del disco nectarífero (29,75%), los canales de resina (18,14%), la forma de la hoja (15,17%), la forma del fruto (10,58%), la fusión de los nervios (7,47%) y el ancho de los estambres (5,46%).

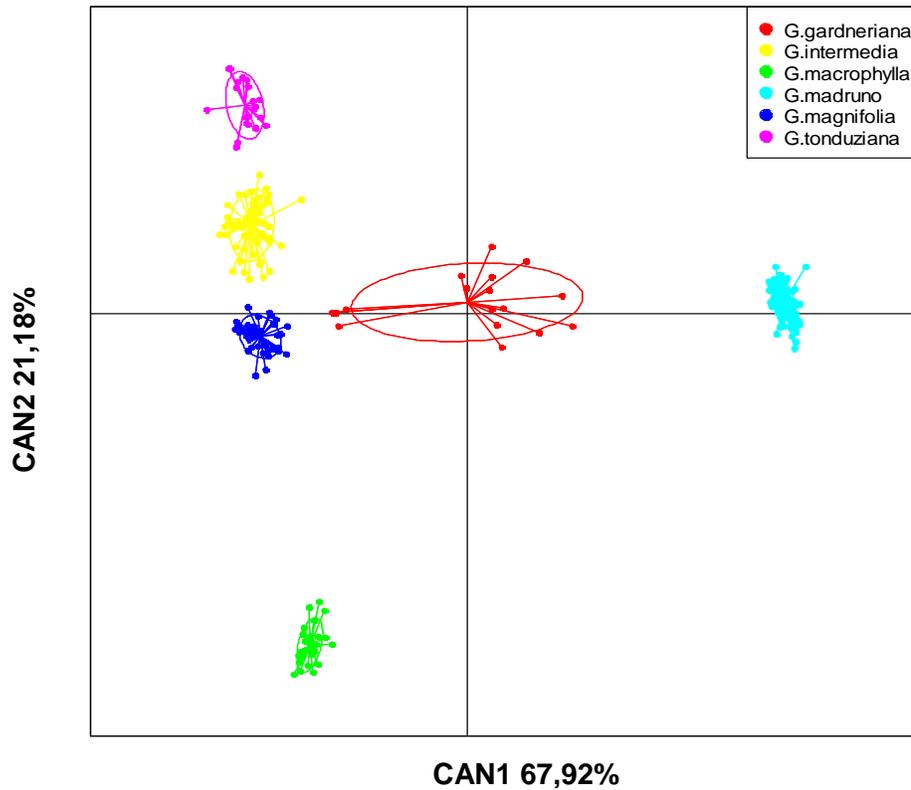


Figura 6. Ejes I y II del Análisis Discriminante de las seis especies nativas de *Garcinia*, con un Análisis de Componentes Principales para 31 variables morfológicas.

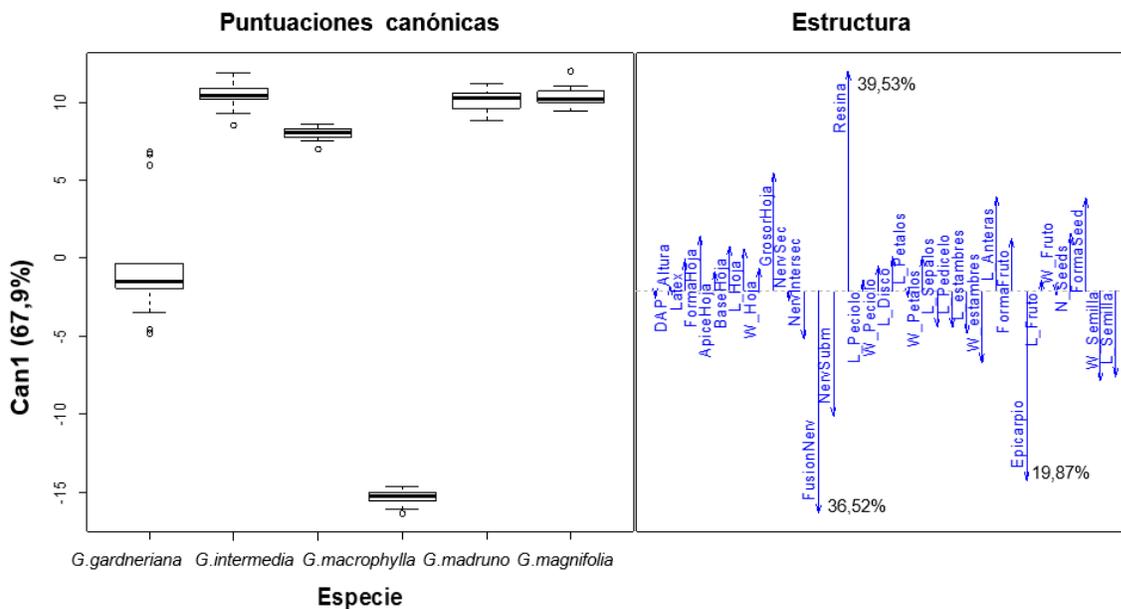


Figura 7. Eje I del Análisis Discriminante entre las seis especies de *Garcinia* en función de 31 variables cualitativas y cuantitativas.

1.3.2 Tratamiento taxonómico del género *Garcinia* para Colombia

En la revisión se encontraron reportes de diez nombres de especies de *Garcinia* en Colombia: *Garcinia acuminata* Pl. & Tr., *G. benthamiana* (Pl. & Tr.) Pipoly, *G. brasiliensis* Mart., *G. gardneriana* (Pl. & Tr.) Zappi, *G. intermedia* (Pittier) Hammel, *G. macrophylla* Mart., *G. madruno* (Kunth) Hammel, *G. magnifolia* (Pittier) Hammel, *G. mangostana* L. y *G. recondita* ined. Sin embargo, no todos los nombres corresponden a especies particulares, por lo cual se rechazaron por invalidez o se sinonimizaron, en los respectivos casos.

1.3.2.1 Descripción genérica y clave taxonómica

A partir de la medición de los 270 especímenes utilizados para los análisis morfométricos, la revisión de 437 ejemplares, la recopilación de información, las sinonizaciones y observaciones realizadas, se encontraron en total siete especies de *Garcinia* en Colombia, seis nativas y una introducida, distribuidas entre los 0 y 2200 m de altura, todas con frutos comestibles.

Garcinia

Garcinia L., Species Plantarum 1: 443. 1753. **Sinónimos.** *Rheedia* L., *Verticillaria* Ruiz & Pavon.

Especie Tipo. *Garcinia mangostana* L.

Árboles y arbustos erectos generalmente glabros, dioicos, ocasionalmente polígamos (Woodson *et al.*, 1980) (no visto); látex amarillo o blanco. **Hojas** simples, opuestas, enteras, coriáceas, con numerosas venas laterales, paralelas y a veces arqueadas, que forman retículos cerca al margen, y una vena submarginal evidente o no, muy cerca del margen; canales de resina evidentes o no, diferenciables de los nervios terciarios por ser líneas más delgadas, verdes oscuras, casi paralelas al nervio primario, que se distribuyen a lo largo de toda la hoja desde el nervio primario hasta el margen, mientras que los nervios terciarios son líneas perpendiculares a los nervios secundarios e intersecundarios, del mismo color que estos nervios, y generalmente distribuidos hacia el margen de la hoja; pecíolos gruesos o

delgados, usualmente con una cuña de tejido axilar formando una fosa, sin estípulas. **Inflorescencia masculina** organizada en fascículos axilares con más de 20 flores por nodo. **Flor estaminada** con un disco nectarífero extra estaminal rodeado por numerosos estambres libres (>15), insertos en varios verticilos; anteras bitecas, globosas, longitudinalmente dehiscentes. **Inflorescencia femenina** axilar con dos flores por nodo, o en una flor solitaria terminal. **Flor pistilada** o perfecta (Woodson *et al.*, 1980) (no visto) con ovario usualmente ovoide, inserto en un anillo rodeado de estaminodios; 3-12 estigmas coherentes formando una capa sobre el estilo usualmente corto y grueso, a veces obsoleto; 2-12 carpelos con un óvulo por carpelo. **Cáliz** con 2-4 sépalos decusados, redondos y coriáceos; sin dimorfismo sexual. **Corola** con 2-4(5) pétalos blancos, amarillos o rojizos, redondos, membranáceos o coriáceos, sin dimorfismo sexual. **Fruto** en drupa o baya indehiscente con corteza gruesa, suave, rugosa o tuberculada, y mesocarpio comestible, dulce y jugoso. **Semillas** 1-5, usualmente elipsoides, con arilo.

Composición, hábitat y distribución. El 90% de las especies de *Garcinia* son nativas de Asia, Australia y África, que incluye cerca de 250 especies presentes en la mayoría de países tropicales (Jones, 1980; Woodson *et al.*, 1980; Stevens, 2006). Los árboles generalmente se encuentran en el sotobosque de regiones húmedas. El género está representado en Colombia por siete especies.

Clave para las especies colombianas de *Garcinia*

- 1 Hojas con el nervio submarginal conspicuo y evidente a más de 5 mm del margen; inflorescencia en una flor solitaria terminal; fruto globoso, epicarpio liso, color púrpura al madurar.....*G. mangostana*
- 1' Hojas con el nervio submarginal inconspicuo o conspicuo a 1 mm del margen, aprox.; inflorescencia en fascículos axilares; fruto globoso, ovalado o elíptico, epicarpio liso o rugoso, color anaranjado o amarillo al madurar.....2

-
- 2 Hojas con canales de resina evidentes en el envés de las hojas; fruto elíptico o globoso, amarillo al madurar, exocarpio rugoso, con 1-3 semillas ovoides.....*G. madruno*
- 2' Hojas con o sin canales de resina evidentes en el envés de las hojas; fruto globoso o elíptico, anaranjado o amarillo al madurar, exocarpio liso, con 1-5 semillas ovoides o elípticas.....3
- 3 Tallos redondos al secar, hojas con canales de resina inconspicuos en el envés; pecíolos cortos y finos sin cuñas axilares; fruto con 1-2 semillas elípticas.....*G. intermedia*
- 3' Tallos redondos o angulosos al secar; hojas sin canales de resina evidentes; pecíolos largos o cortos, finos o estriados, con o sin cuñas axilares; frutos usualmente con más de 2 semillas ovoides o elípticas.....4
- 4 Hojas de 7-15 x 1,2-2,8 cm, estrechamente lanceoladas, ápice acuminado, base simétrica o inequilátera, agrupadas en penachos hacia el final de las ramas, rojizas al secar; pecíolos finos levemente enrollados sobre su eje.....*G. tonduziana*
- 4' Hojas de más de 15 x 3 cm, elípticas, oblongas o elíptico-ovaladas, ápice corto, base equilátera, dispuestas a lo largo de las ramas, rojizas, verdes o marrón al secar; pecíolos rectos, finos o gruesos.....5
- 5 Tallos redondos al secar; hojas de 13-18 x 6-7 cm, verdes al secar, coriáceas a levemente coriáceas, nervio submarginal no evidente a simple vista; pecíolos finos sin tejido axilar formando cuñas.....*G. gardneriana*
- 5' Tallos angulosos al secar; hojas con más de 23 x 8 cm, verdes, marrón o rojizas al secar, muy coriáceas, nervio submarginal evidente o inconspicuo; pecíolos fuertemente estriados con tejido axilar formando cuñas.....6
- 6 Hojas con ápice acuminado, color marrón a verde claro al secar, usualmente con el haz más brillante; frutos ovalados de 10-12 x 5-7 cm.....*G. macrophylla*
- 6' Hojas con ápice obtuso, color marrón al secar, con ambas superficies igualmente opacas; frutos globosos de 3-5 cm de diámetro.....*G. magnifolia*

1.3.2.2 Descripción y mapas de puntos de distribución de las especies

1.3.2.2.1 *Garcinia gardneriana* (Planch. & Triana) Zappi - Kew Bulletin 48(2): 410. 1993.

Basionimo. *Rheedia gardneriana* Planch. & Triana Ann. Sci. Nat., Bot. Sér. 4, 14: 321. 1860. **Tipo.** Brasil, *Gardner 1922* (holotipo K; isotipo K).

Rheedia spruceana Engl. – Fl. Bras. (Martius) 12(1): 463. 1888. Tipo. Perú, *Spruce 4484* (isosintipo MPU, BR, F).

Garcinia brasiliensis Mart. – Flora 24(2, Beibl.): 34. 1841. Tipo. Brasil, *Martius, C.F.P. von s.n.* (sintipo M).

Árbol de 6-18 m y DAP 10 cm, aprox.; ramas horizontales con tallos redondos; látex amarillo o anaranjado. **Hojas** elípticas, de 9-18 x 6-7 cm, ápice conspicuamente acuminado, fino y duro, que pica como una aguja, numerosos nervios secundarios e intersecundarios, aprox. 3 nervios secundarios por cm y 2 intersecundarios por cm, nervio submarginal inconspicuo a simple vista; pecíolos de 10-15 x 1,5-2,5 mm, finos, ligeramente enrollados hacia la base. **Inflorescencia masculina** en fascículos axilares con más de 20 flores por nodo, botones florales verdes a blancos. **Flor estaminada** con un disco nectarífero extra estaminal de aprox. 1,6 cm de diámetro rodeado por numerosos estambres libres (>20) de 1-6 x 2-4,4 mm. **Cáliz** con 2 sépalos coriáceos de 2,5 mm de longitud. **Inflorescencia femenina** axilar con dos flores por nodo. **Flor pistilada** con ovario ovoide, inserto en un anillo rodeado de estaminodios. **Corola** con 4 pétalos blancos, membranáceos, de 3-6 x 2-4cm (Fig. 8). **Fruto** en baya o drupa ovoide, amarilla, de 2,5-4cm de diámetro, con 1-4 semillas cubiertas por un arilo acidulo; pedicelo del fruto de aprox. 8 mm de largo. **Semillas** ovaladas, pardas, de aprox. 1,8 cm de longitud.

Hábitat y distribución. *Garcinia gardneriana* se encuentra en bosques húmedos tropicales o en llanuras inundables. Se distribuye desde Colombia hasta Paraguay, y es especialmente cultivada en Brasil y Bolivia. En Colombia se encuentra en el Amazonas entre los 70 y 300 m de altura (Fig. 11).

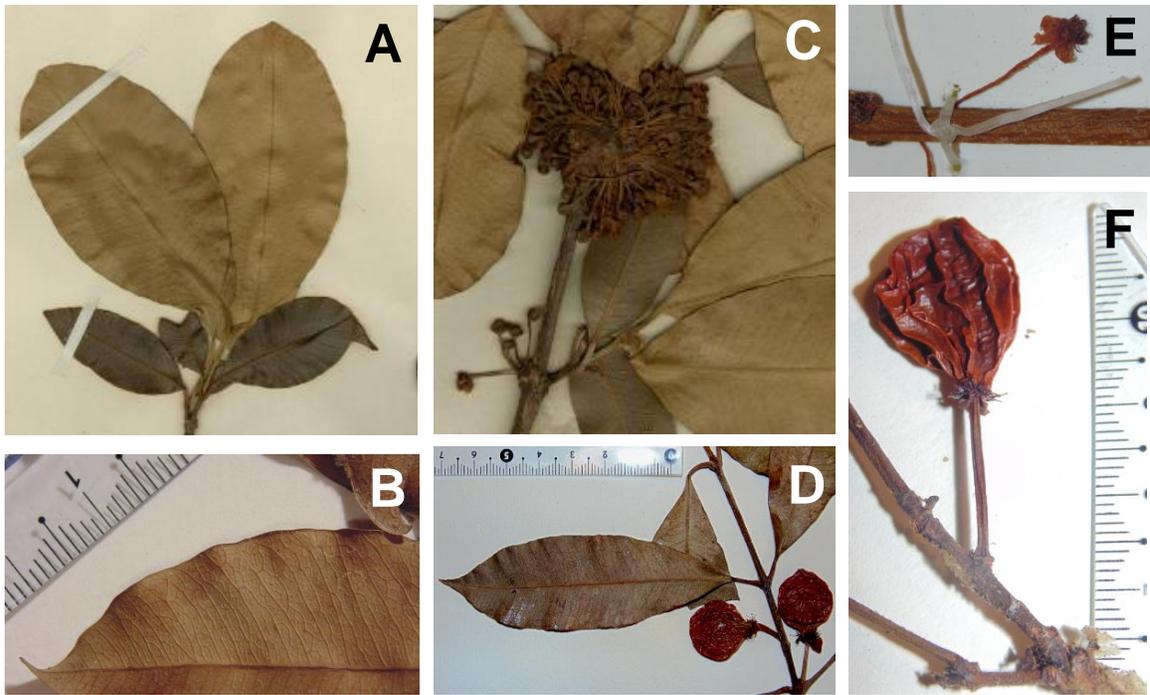


Figura 8. Caracteres de *Garcinia gardneriana*. A. Hojas simples, opuestas, enteras, ovaladas con el ápice conspicuamente acuminado. B. Nervio submarginal inconspicuo. C. Inflorescencia masculina en fascículos axilares. D. Frutos en bayas con estambres persistentes. E. Flor masculina. F. Detalle del fruto con cáliz y estambres persistentes, y pedicelo anguloso. (Fotografías tomadas de los siguientes especímenes: A., C., E. Paraná, Brasil, 13 dic. 1914, *Dusén s. n.* (MO). B., D., F. Tumi Chucua, Provincia de Vaca Diez, Beni, Bolivia, 29 sep. 1981, *Solomon 6533* (MO)).

Nombres vernáculos y usos. “Bacupari” (Amazonas). La pulpa es de sabor agridulce y es consumida fresca. También entra en la preparación de jugos, mermeladas, sorbetes y dulces. La madera es utilizada para construcción y carpintería. Empieza a producir frutos luego de los 6-8 años y produce entre 100 y 200 frutos por cosecha (Geilfus, 1994).

Atributos farmacológicos: Recientes estudios sugieren que el fruto de esta especie posee metabolitos con efectos antiinflamatorios y que podría ser utilizada para tratar infecciones urinarias, e incluso tener propiedades anticancerígenas (Castardo *et al.*, 2008). Xantonas, benzofenonas polipreniladas, biflavonoides y tres nuevas xantonas 1,3,5,6-tetraoxigenadas llamadas “rheediaxantonas A, B y C” fueron aisladas de las raíces de *G. gardneriana* (Lim, 2012). Castardo *et al.* (2008) demostraron que los extractos hidroalcohólicos de las hojas, corteza y semillas de esta especie reducen los niveles de

carraginata inducida en la inflamación de extremidades de ratón. Este y muchos otros estudios demuestran efectos antiinflamatorios importantes de los extractos hidroalcohólicos de esta especie a través de la interacción con diferentes vías de señalización intracelulares, sin interferir con la formación de los metabolitos de ácido araquidónico (Castardo *et al.*, 2008).

1.3.2.2.2 *Garcinia intermedia* (Pittier) Hammel - Annals of the Missouri Botanical Garden 76(3): 927–928. 1989. **Basónimo.** *Rheedia intermedia* Pittier. Contr. U.S. Natl. Herb. 13: 454, fig. 81. 1912. **Tipo.** Sin localidad, *von Türckheim 8180* (holotipo MO; isotipo MO, F, US).

Rheedia edulis (Seem.) Pl. & Tr. Ann. Sci. Nat., Bot. sér. 4, 14: 310. 1860. Tipo. Panamá, *Seemann 1635* (isotipo K).

Árbol siempreverde de 10-20 m de altura y 10-25 cm de DAP; base recta, fuste cilíndrico, copa piramidal verde oscura, corteza marrón oscura con lenticelas en líneas verticales; ramitas angulares, glabras, a menudo rojizas al secar; látex amarillo o blanco. **Hojas** elípticas, coriáceas, color verde lustroso en el haz y verde pálido en el envés, de 9-30 x 2,5-9,5 cm, ápice agudo o acuminado, base aguda, nervios laterales paralelos, fuertemente arqueados; nervios secundarios aprox. 1-2 por cm e intersecundarios 1-4 por cm; nervios secundarios e intersecundarios fusionados con los nervios terciarios formando una nervación reticular hacia el borde de la hoja; nervio submarginal inconspicuo o evidente muy cerca del margen (Fig. 9); pecíolos de 1-3 x 0,15-0,3 cm de ancho. **Inflorescencia masculina** en fascículos axilares con aprox. 15 flores pequeñas, botones florales verdes a blancos con pedicelos finos de 8-10 mm de longitud, más largos en el fruto. **Flor estaminada** con un disco nectarífero extra estaminal de 1,5-2 cm de diámetro, rodeado por aprox. 20 estambres de 0,5-2,1 x 0,1-0,3 cm, distribuidos en 2-3 verticilos, de filamentos libres, glabros, basalmente engrosados y ocasionalmente persistentes en el fruto; anteras bitecas de 0,15-0,5 mm de longitud, color marrón. **Inflorescencia femenina** axilar con dos flores por nodo. **Flor pistilada** con ovario cubierto por un estigma marrón de 1,5 mm de diámetro; a veces se presentan vestigios de apéndices estaminados.

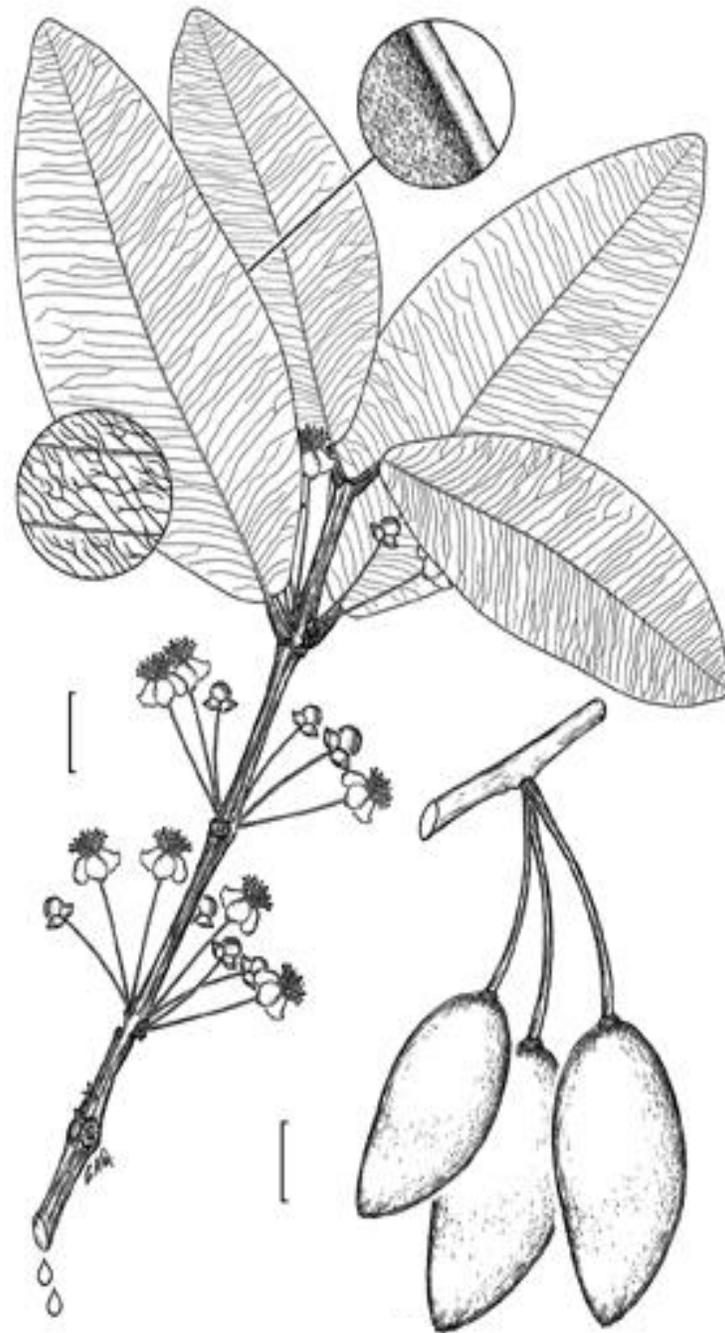


Figura 9. Caracteres diagnósticos de *Garcinia intermedia*. Hojas simples, opuestas, enteras y ovoides. Nervio submarginal usualmente evidente muy cerca del margen. Nervios secundarios e intersecundarios fusionados con los nervios terciarios formando nervación reticular hacia el borde de la hoja. Inflorescencia masculina en fascículos axilares con flores pediceladas y numerosos estambres. Frutos en bayas elípticas con epicarpio liso. Ilustración de Claudia Alarcón. Tomada y editada de Zamora *et al.*, 2004.

Cáliz con 2 sépalos de 2 mm de longitud. **Corola** con 4 pétalos blancos de 2,1-4,3 x 1,6-3,8 cm, alternados con los sépalos. **Fruto** ovoide o elipsoide que generalmente termina en punta, de 2-4,5 x 1,5-3 cm, epicarpio liso y suave, amarillo brillante o anaranjado al madurar, mesocarpio blanco, carnoso y con sabor acidulo. **Semillas** 1-2 elipsoides, de 1,5-2 x 0,9-2 cm, marrón o rojo oscuro, cubiertas por un arilo (Fig. 10).

Hábitat y distribución. *Garcinia intermedia* se encuentra en bosques húmedos y muy húmedos, creciendo generalmente en el sotobosque. Se adapta para crecer sobre diferentes tipos de suelo y ambientes cerca a los 1220 m de altitud. Es nativa de México (Jalisco, Michoacan, Oaxaca, Veracruz) y otros países de América Central (Belize, Costa Rica, El Salvador, Honduras, Nicaragua, Panamá). También se encuentra en Colombia y Ecuador. En Colombia se distribuye en los departamentos de Antioquia, Cauca, Chocó, Santander, Sucre, Nariño, Caldas y Valle del Cauca, en un amplio gradiente altitudinal, entre los 10 y 2090 m de altitud (Fig. 11).

Nombres vernáculos y usos. “Madroño de monte” (Antioquia), “naranja” (Antioquia), “madroño” (Valle del Cauca, Nariño), “machare” (Chocó). El nombre “madroño” fue dado por los españoles a los árboles de *Rheedia* por la semejanza que creyeron encontrar en la superficie rugosa de los frutos de algunas especies, con la ericácea peninsular *Arbutus unedo*, el madroño castellano que figura en el escudo de Madrid (Patiño, 2002). Sin duda este nombre se aplicó antes de conocer las especies de fruto liso que son comunes en las garcinias del Neotrópico. El fruto de *G. intermedia* es consumido en jugos, mermeladas y jaleas, y cultivado esporádicamente en los trópicos y en Australia (Lim, 2012), sin embargo, en Colombia no es frecuente en el mercado. La madera es resistente a termitas y es usada en construcciones. Además, es utilizado como un árbol ornamental (Lim, 2012).

Atributos farmacológicos. Se han aislado varios componentes bioactivos de sus hojas como biflavonoides. Estos componentes exhiben actividad trypanocidal contra epimastigotes de *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico de la enfermedad de Chagas (Lim, 2012).

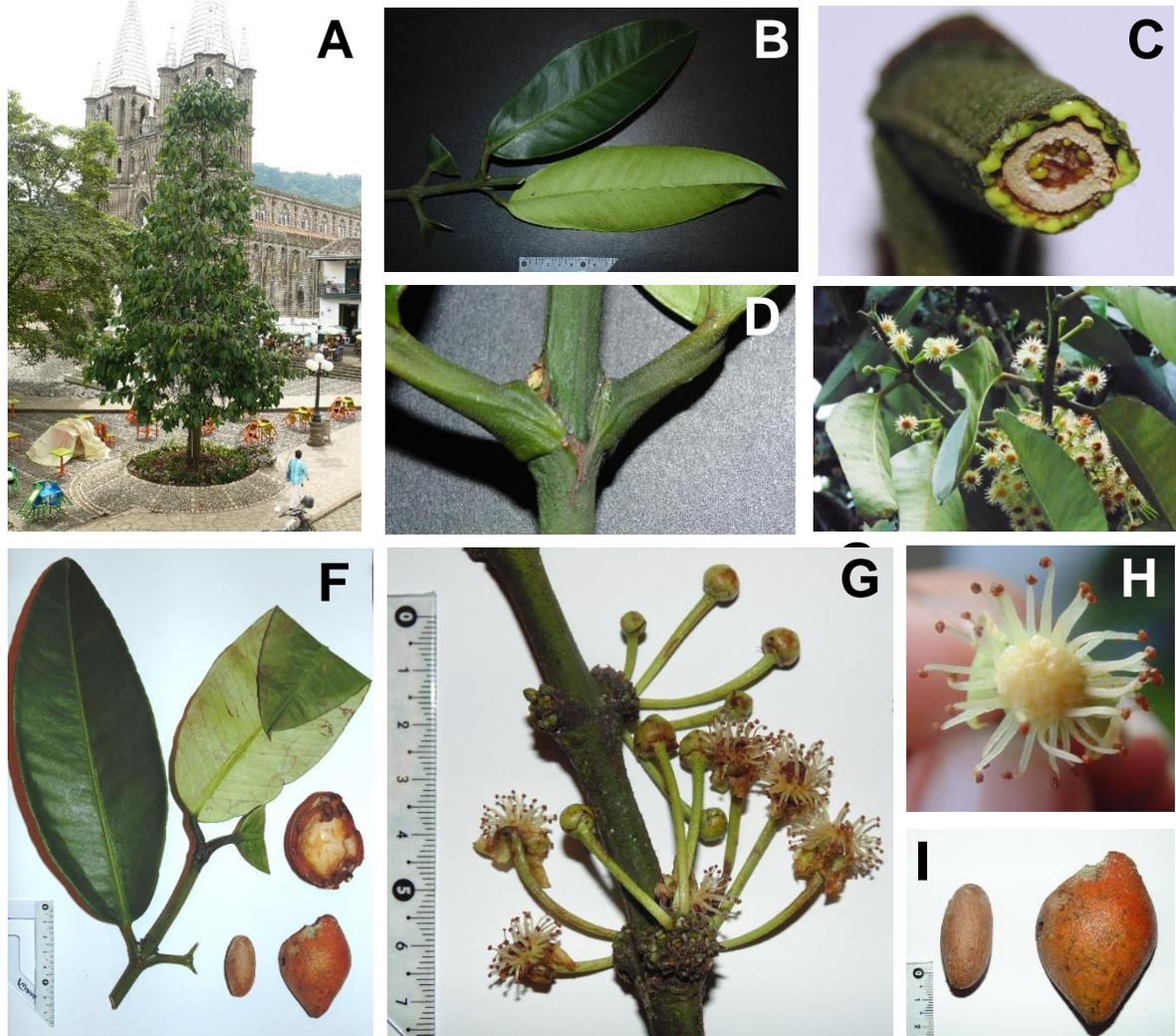


Figura 10. Caracteres vegetativos y reproductivos de *Garcinia intermedia*. A. Forma de vida arbóreo y ramificación monopodial. B. Hojas simples, opuestas, ovoides, enteras y coriáceas; ápice acuminado. C. Látex amarillo. D. Cuñas axilares en los pecíolos (menos profundas que en *G. macrophylla*). E. Inflorescencia masculina en fascículos axilares. F. Detalle de haz y envés de las hojas; fruto en drupa elipsoide; epicarpio suave; semilla elipsoide. G. Inflorescencia de flores estaminadas. H. Detalle de flor masculina. I. Fruto y semilla. (Fotografías tomadas en Jardín, Antioquia, en feb. 2014 y feb. 2015).

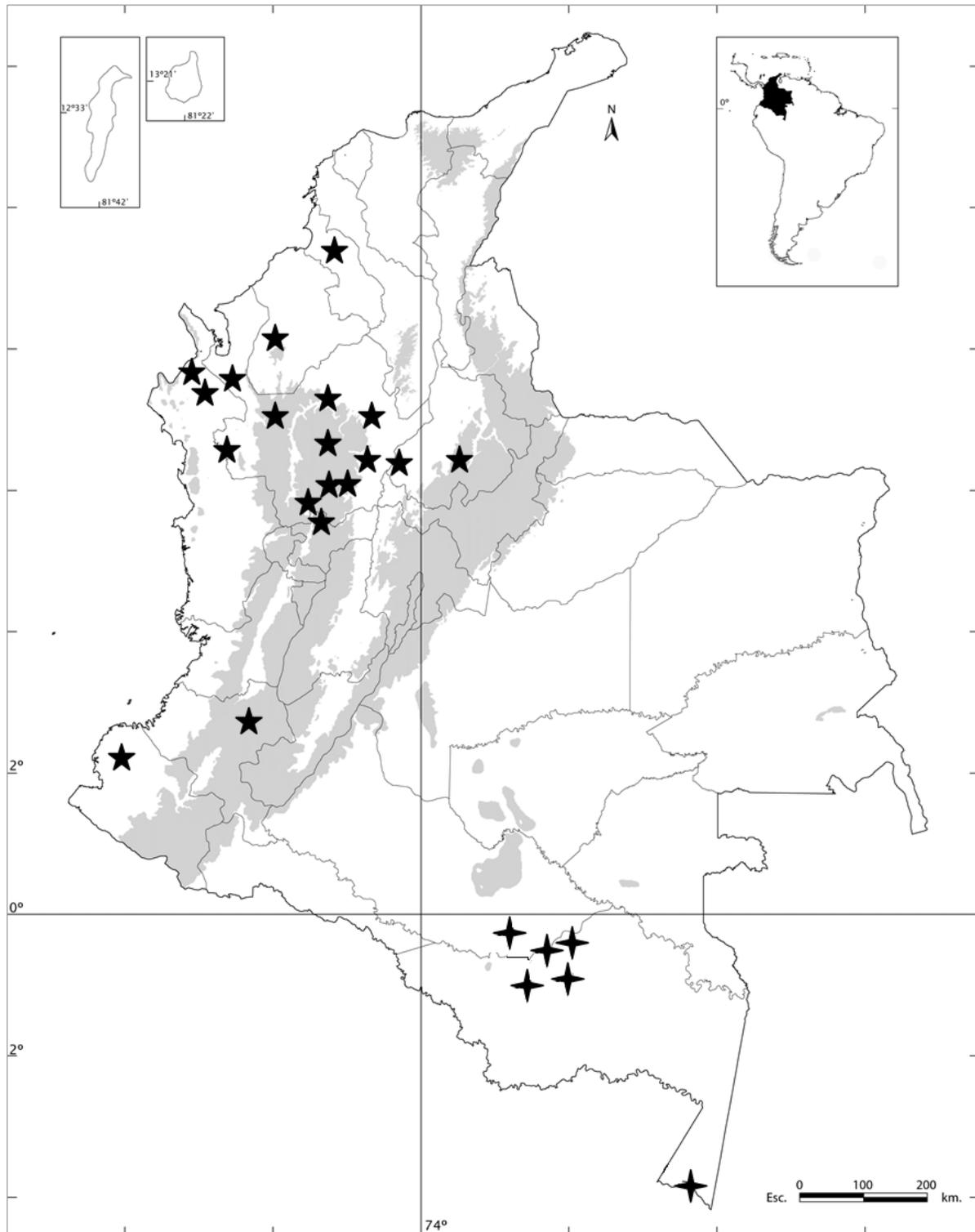


Figura 11. Mapa de puntos de distribución de  *Garcinia gardneriana* y  *G. intermedia*.

1.3.2.2.3 *Garcinia macrophylla* Mart. - Flora 24(2, Beibl.): 35. 1841. **Basónimo:** *Rheedia macrophylla* (Mart.) Planch. & Triana Ann. Sci. Nat., Bot. sér. 4, 14: 309. 1860. **Tipo.** Brasil, *Martius s.n.* (holotipo M; isotipo M).

Rheedia benthamiantha Pl. & Tr., Ann. Sci. Nat. Bot. Sér. 4. 14: 320; *Garcinia bentamiana* (Planch. & Triana) Pipoly - Nuevo Cat. Fl. Vasc. Venezuela 332. 2008. Tipo. Guyana, *Schomburgk 523* (sintipo BM, K).

Rheedia sagotiana Engler in Mart., Fl. Brasil. 12(1): 460, t. 102. 1908. Tipo. Guyana, *Sagot 1182* (holotipo BR; isotipo K, F, MPU, US).

Árboles siempreverdes, dioicos, de 5-25 m de alto y 10-40 cm de DAP; corteza áspera, marrón oscura y con follaje abundante; copa piramidal; ramitas glabras, fuertemente anguladas; látex amarillo. **Hojas** elípticas-lanceoladas, de 23-35 x 8-11 cm, glabras, rígidas y muy coriáceas, lustrosas de color verde oscuro en el haz y verde claro en el envés, apicalmente cortas y acuminadas, basalmente truncadas, generalmente de color marrón a verde al secar, venas laterales generalmente a 4-10 mm de distancia, separadas irregularmente, con aprox. una vena secundaria por cm, arqueadas; vena inconspicua submarginal a menos de 1 mm del margen, los nervios intersecundarios se fusionan con los terciarios formando retículos hacia el margen; pecíolos gruesos, de 2-4 x 0,3-0,5 cm, levemente estriados y angulosos, con una cuña o solapa conspicua de tejido axilar formando una fosa (Fig. 12 y 13). **Inflorescencia masculina** en fascículos axilares con numerosas flores de pedicelos largos y blancos (Fig. 13); botones florales blancos. **Flor estaminada** con 15 estambres libres de 1-2,5 x 0,3-1 cm, dispuestos alrededor de un disco nectarífero hemisférico de 4-4,5 mm de diámetro; anteras amarillas de 0,5 mm de diámetro. **Inflorescencia femenina** axilar con dos flores por nodo, en menor número de fascículos que las inflorescencias masculinas. **Flor pistilada** con ovario ovoide cubierto por un estigma plano, 4-lobado y peltado (Fig. 13); pedicelo de aprox. 2 cm de longitud. **Cáliz** con 2 sépalos ovados y coriáceos de 1,5-5 mm de longitud. **Corola** con 4 pétalos de 11-12 x 7-11 mm, membranáceos y obovados, color verde claro a blanco. **Fruto** amarillo o naranja con forma variable, elipsoide, ovoide o globoso, de 4-12 x 2-7 cm; epicarpio lustroso o levemente rugoso; látex amarillo; pedicelo de 4-5 cm de largo. **Semillas** 1-5, elipsoides, de aprox. 2,5 x 2 cm, color marrón, envueltas en un arilo blanco, mucilaginoso, jugoso, acidulo y escaso.

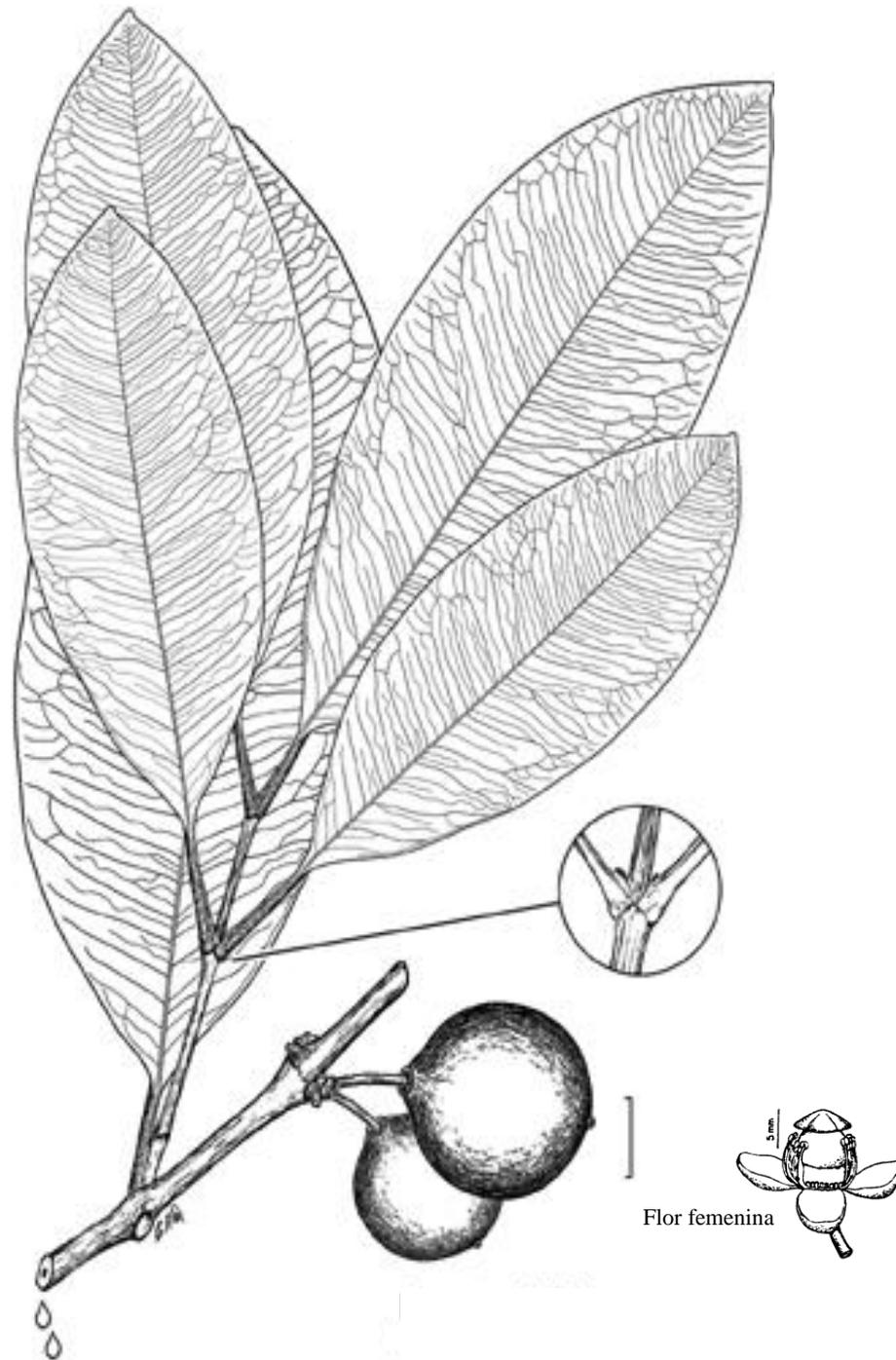


Figura 12. Caracteres diagnósticos de *Garcinia macrophylla*. Hojas simples, opuestas, enteras, elípticas-lanceoladas, muy coriáceas, apicalmente cortas y acuminadas, pecíolos gruesos, estriados y angulosos, con una cuña de tejido axilar formando una fosa. Flor femenina con un ovario ovalado inserto en un anillo rodeado por estaminodios, y cubierto por un estigma peltado. Frutos en bayas globosas y lustrosas. Ilustración de Claudia Alarcón. Tomada de Zamora *et al.*, 2004.

Hábitat y distribución. *Garcinia macrophylla* se encuentra en bosques tropicales, de colina e inundables. Es nativa de la Amazonía y se presenta como un árbol de sotobosque en bosques de tierras bajas. Florece en el régimen del clima amazónico a una temperatura media anual de 26-28°C y precipitación media anual de 1500-4000 mm. El árbol crece bajo luz a sombra moderada pero puede tolerar exposición al rayo directo del sol y a fuertes vientos. Se distribuye en Costa Rica, Suriname, Colombia, Perú, Brasil, Bolivia y Venezuela. En Colombia es muy común en el Chocó biogeográfico y en la cuenca amazónica. También se encuentra en Antioquia y Bolívar entre los 50 y 1550 m de altitud (Fig. 16).

Nombres vernáculos y usos. “Charichuelo liso” (Amazonas), “madroño” (Chocó). La pulpa blanca que rodea las semillas es acidula y comestible. En Colombia se ha reportado su consumo por comunidades indígenas del Medio Caquetá, además, es localmente cultivada en el Amazonas (Andrade *et al.*, 2007). Sus frutos son muy comerciales en los mercados populares de Bolivia. La resina que exuda la corteza y los frutos es utilizada en la medicina popular de Brasil para tratar lesiones e inflamaciones (Andrade *et al.*, 2007). Además, el fuste es utilizado como leña (León, 2000). Esta especie se trató de cultivar entre 1945 y 1949 en la Estación Agroforestal del Bajo Calima (Patiño, 2002).

Atributos farmacológicos. Andrade *et al.* (2007) realizaron un estudio en donde encontraron 28 componentes volátiles importantes que representaban el 93,7% del aceite total extraído de las flores de *Garcinia macrophylla*. Estos componentes contienen 60,8% de monoterpenos, 20,2% de sesquiterpenos, 9,1% de ácidos grasos derivados, 3,6% de benzoides y 4,4% de componentes indefinidos. En el aceite de las hojas también se encontraron 47 componentes equivalentes al 96,6% del aceite total. El aceite ha sido caracterizado por la predominancia de hidrocarburos sesquiterpénicos (69,3%) y ácidos grasos derivados (22,6%) y en menor porcentaje, sesquiterpenos oxigenados y componentes benzóicos (1%) que tienen un valor farmacológico importante ya que los terpenos son utilizados actualmente en el tratamiento de algunos tipos de cáncer por su acción antimitótica (Bruneton, 2001; Wagner *et al.*, 2003). Sin embargo, faltan estudios que amplíen el conocimiento de los metabolitos que contiene esta especie.

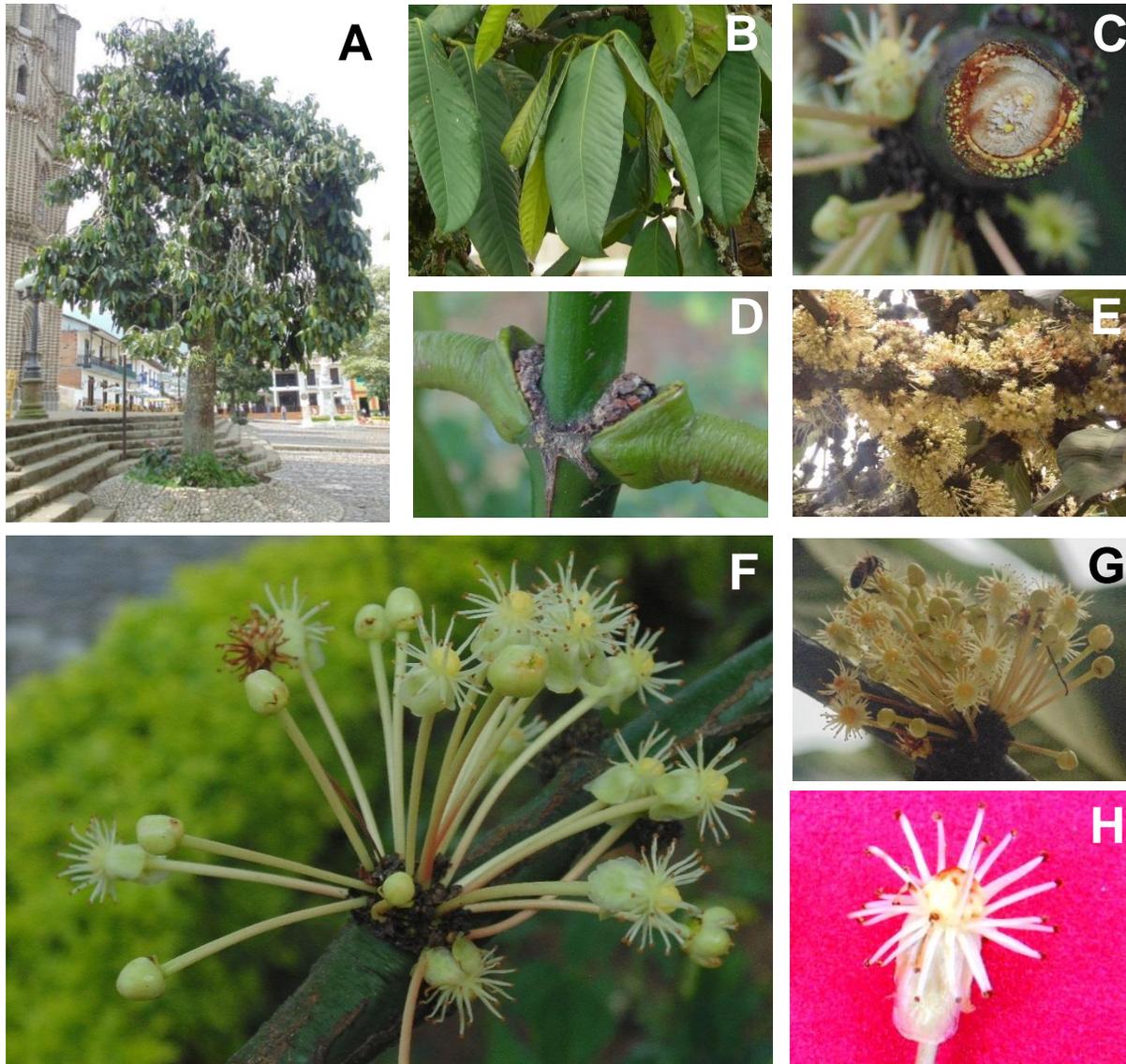


Figura 13. Caracteres vegetativos y reproductivos de *Garcinia macrophylla*. A. Forma de vida arbóreo. B. Hojas simples, opuestas, ovoides, enteras, coriáceas, ápice acuminado y nervadura muy marcada. C. Látex amarillo. D. Cuñas axilares en los pecíolos. E. Inflorescencias masculinas organizadas en fascículos axilares. F. Inflorescencia de flores estaminadas. G. Visita de una *Apis mellifera* a flores de madroño. H. Detalle de flor masculina con estambres libres, cuatro pétalos blancos, membranáceos y disco nectarífero amarillo. (Fotografías tomadas en Jardín, Antioquia, feb. 2014 y feb. 2015).

1.3.2.2.4 *Garcinia madruno* (Kunth) Hammel - Ann. Missouri Bot. Gard. 76: 928. 1989.
Basionimo. *Rheedia madruno* (Kunth) Planch. & Triana Ann. Sci. Nat., Bot. sér. 4, 14: 315.
1860. **Tipo.** Colombia, *Pittier 916* (holotipo US).

Calophyllum madruno Kunth Nov. Gen. Sp. [H.B.K.] 5: 202 (quarto); 156 (folio). 1822. Tipo. Colombia, *Bonpland A.J.A. & F.W.H.A. von Humboldt 1723* (holotipo P; isotipo).

Verticillaria acuminata Ruiz & Pav. -- Syst. Veg. Fl. Peruv. Chil. 1: 140. 1798. Tipo. Perú, *Ruiz López, H. & J. A. Pavón y Jiménez s.n.* (holotipo G).

Árboles de 3-25 m de altura y 4-20 cm de DAP; tronco cilíndrico; corteza con lenticelas verticales; madera amarilla; látex amarillo o anaranjado. **Hojas** elípticas de 7-25 x 3-10 cm, haz brillante color verde oscuro y envés verde claro, ápice acuminado, base angostamente redondeada a aguda, nervios laterales secundarios e intersecundarios difícilmente diferenciables, 2-3 secundarios por cm y 4-5 intersecundarios por cm; nervio submarginal inconspicuo o evidente (Fig. 14); canales de resina evidentes en el envés; pecíolos finos de 8-20 x 1,5-3 mm (Fig. 15). **Inflorescencia masculina** en fascículos axilares con varias flores. **Flor estaminada** con más de 20 estambres libres de 1,5-5 x 0,2-1 mm, más anchos en la base, insertos debajo de un disco de 1,5-2 cm de diámetro; anteras amarillas de 0,2-0,5 mm de diámetro. **Inflorescencia femenina** axilar con dos flores por nudo; botones florales color verde claro. **Flor pistilada** con ovario cubierto por un estigma achatado y pedicelos de aprox. 2 cm de largo. **Cáliz** con 2 sépalos redondeados hacia el ápice, de 2-3 mm de longitud, intercalados con los pétalos. **Corola** con 4 pétalos de 4-8 x 3-4 mm, membranáceos, aromáticos, color verde claro a blanco. **Fruto** en drupa o baya ovoide a redonda, epidermis rugosa y dura, amarilla al madurar y marrón al secar, de 2-4,5 cm de diámetro, pedicelo de 1-3 x 0,2 cm, a veces con cáliz y estambres persistentes (Fig. 15). **Semillas** 1-3, ovoides, color marrón claro a oscuro, de 1-3 cm de longitud, envueltas en una pulpa carnosa, blanca y dulce.

Hábitat y distribución. *Garcinia madruno* se encuentra en bosques primarios o riparios, planicies inundables, sobre suelos arenosos o en bosques húmedos tropicales con precipitaciones medias anuales entre 1000 y 3000 mm. También se puede encontrar en relictos de bosque, rastrojos bajos, bordes de camino y suelos drenados. Se distribuye desde América Central (Costa Rica y Panamá) hasta Suramérica en Venezuela, Guyana, Guyana

Francesa, Suriname, Ecuador, Bolivia, Perú, Bolivia, Brasil y Colombia. En Colombia tiene una amplia distribución y se encuentra entre los 0 y 2200 m de altitud (Fig. 16).

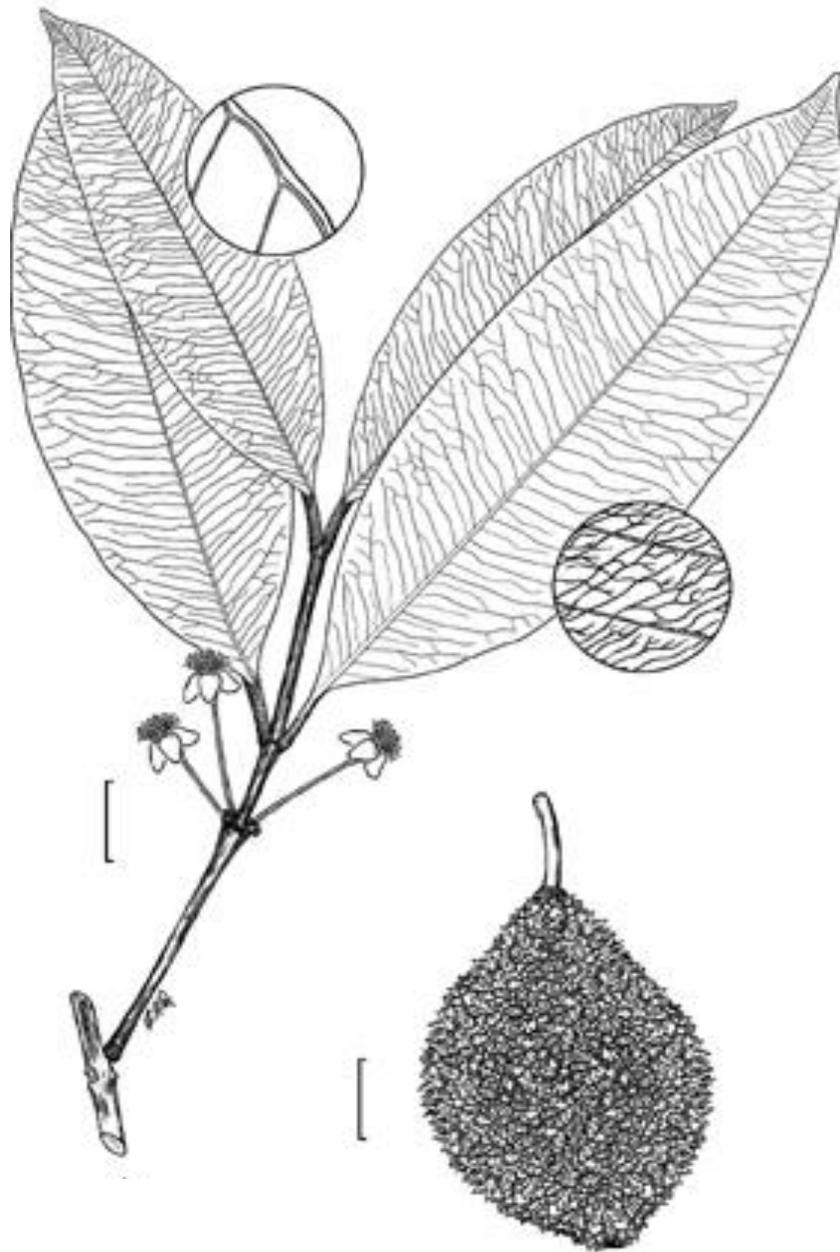


Figura 14. Caracteres diagnósticos de *Garcinia madruno*. Hojas simples, opuestas, enteras, elípticas, con ápice corto y acuminado; nervio submarginal evidente o no; canales de resina evidentes en el envés de la hoja. Pecíolos finos sin cuñas axilares. Inflorescencia masculina con menor número de flores en comparación con las inflorescencias masculinas de otras especies. Fruto en drupa o baya ovalada con epicarpio rugoso. Ilustración de Claudia Alarcón. Tomada de Zamora *et al.*, 2004.

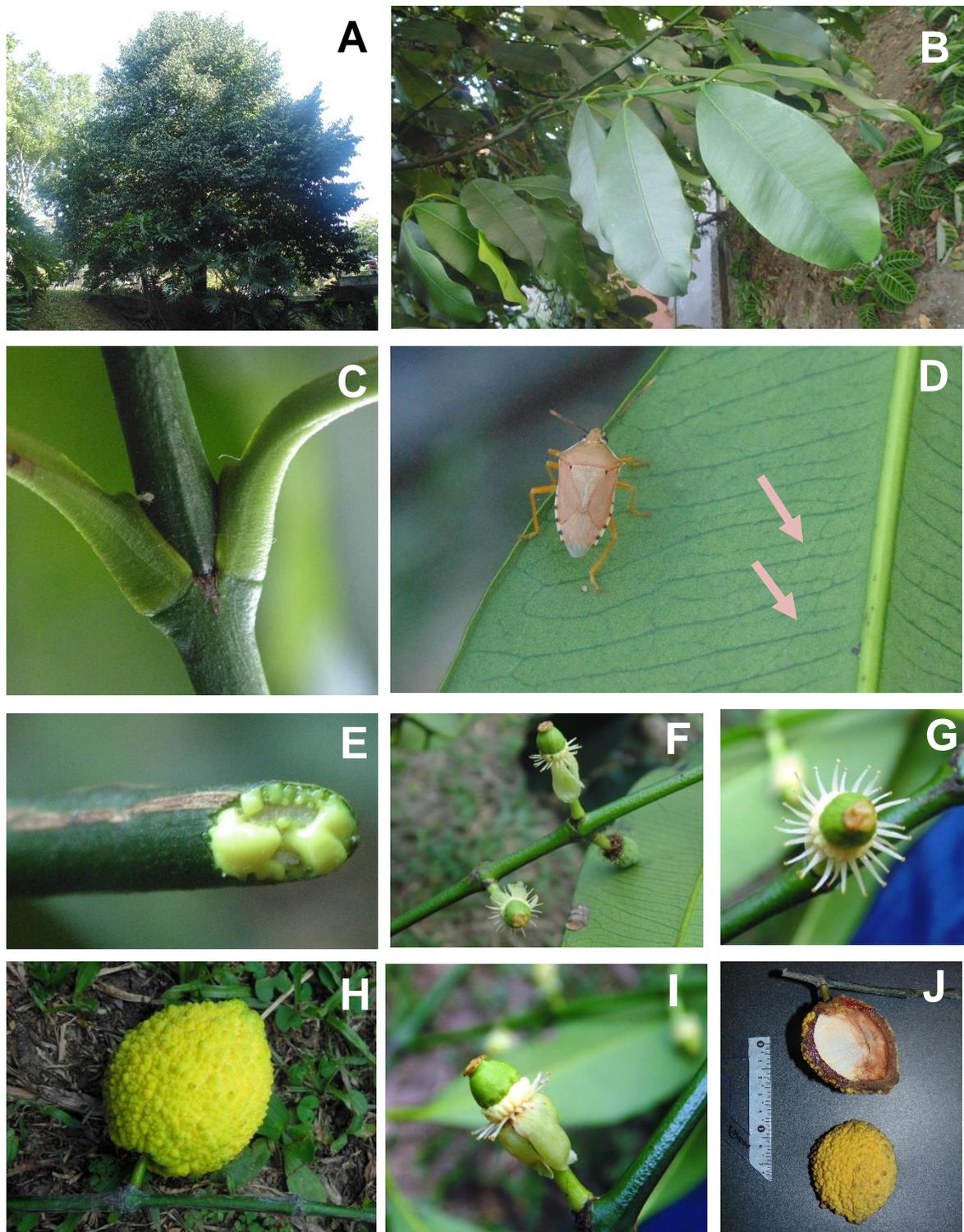


Figura 15. Caracteres vegetativos y reproductivos de *Garcinia madruno*. A. Forma de vida arbóreo. B. Hojas simples, opuestas, ovoides, enteras y coriáceas; ápice acuminado. C. Pecíolos sin cuñas axilares. D. Canales de resina evidentes en el envés. E. Látex amarillo. F. Inflorescencia de flores femeninas. G., I. Detalle de flor pistilada con el ovario inserto en un anillo rodeado de estaminodios y cubierto por un estigma aplanado. H., J. Fruto en drupa con epicarpio rugoso. (Fotos tomadas en Medellín, Antioquia, feb. 2014 y feb. 2015).

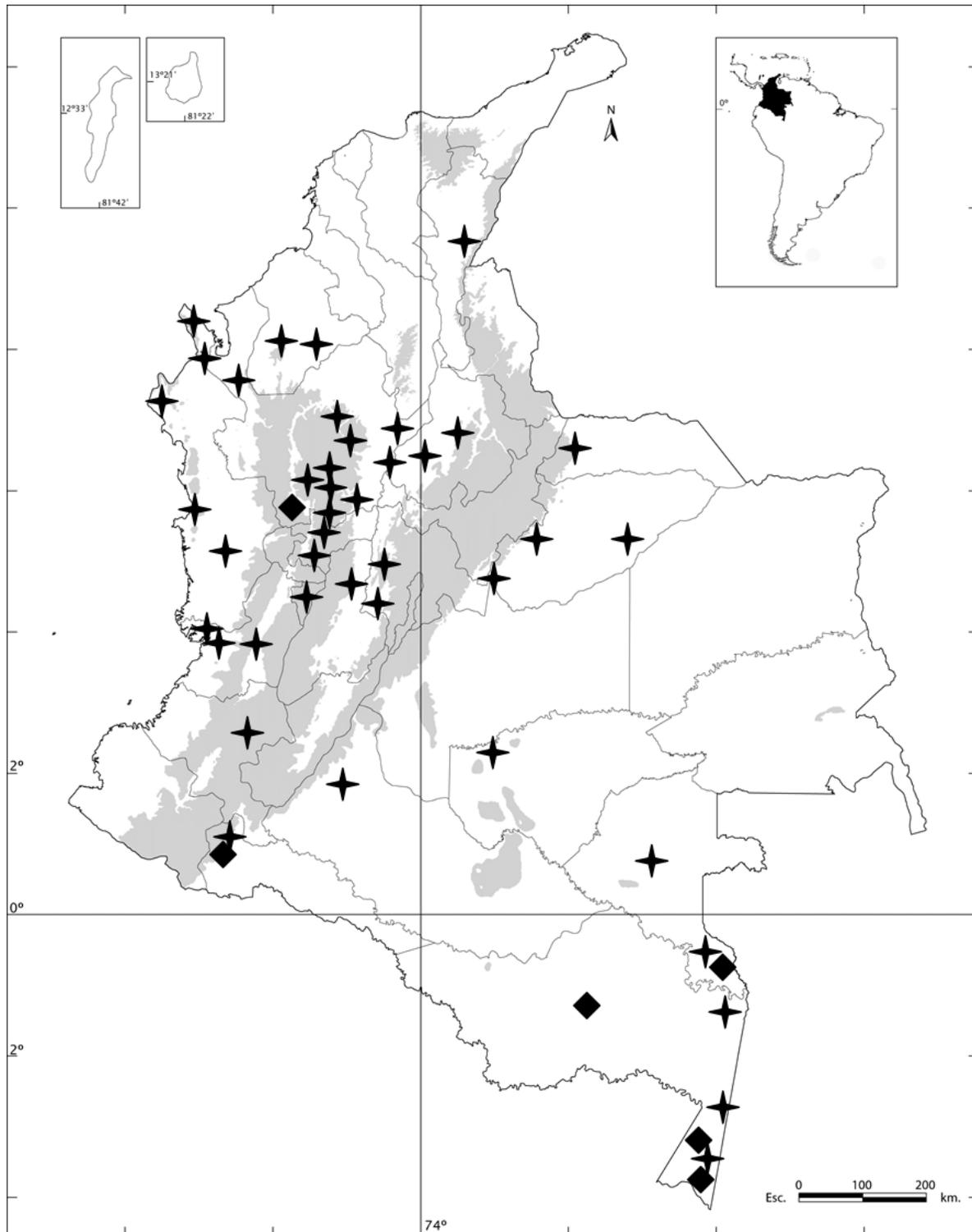


Figura 16. Mapa de puntos distribución de ◆ *Garcinia macrophylla* y ★ *G. madruno*.

Nombres vernáculos y usos. “Madroño” (Antioquia). El mesocarpio del fruto maduro es ácido y comestible. La infusión de la corteza se emplea para combatir la fiebre. Es ornamental. Algunas personas lo cultivan en las chagras y es comúnmente cultivado en sabanas.

Atributos farmacológicos. La fracción biflavonoide encontrada en el fruto de *Garcinia madruno* presenta actividad antioxidante (Lim, 2012). También se ha demostrado que los extractos de esta especie exhiben una moderada actividad contra bacterias Gram-negativas (*Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*) y Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*) (Lim, 2012).

1.3.2.2.5 *Garcinia magnifolia* (Pittier) Hammel - Annals of the Missouri Botanical Garden 76(3): 928. 1989. **Basiónimo.** *Rheedia chocoensis* Cuatrec.- Anales Inst. Biol. Univ. Nac. Mexico xx. 106 (1950). **Tipo.** Colombia, *Cuatrecasas 16387* (holotipo F; isotipo COL).

Rheedia magnifolia Pittier - Contr. U.S. Natl. Herb. Xiii. 454 (1912). Tipo. Costa Rica, *Pittier 16165* (isotipo US).

Árboles dioicos de 5-20 m de altura y 10-25 cm de DAP; látex amarillo o blanco; ramas generalmente angulares. **Hojas** ovaladas, enteras, muy coriáceas, de 26-52 x 13-24 cm, ápice obtuso o redondo, nervios secundarios prominentes, paralelos e irregulares, entre 1 y 2 nervios secundarios por cm y 2 nervios intersecundarios por cm; los numerosos nervios secundarios e intersecundarios se fusionan con los terciarios creando un retículo denso hacia el margen, generalmente los nervios secundarios llegan hasta la vena submarginal que se encuentra a menos de 2 mm del margen; pecíolos gruesos, de 2-5 x 0,5-1 cm, fuertemente estriados, con una cuña prominente en la base formando una fosa conspicua (Fig. 17). **Inflorescencia masculina** en fascículos axilares con más flores que las inflorescencias femeninas, que dejan cicatrices en los nudos (Fig. 17). **Flor estaminada** con más de 20 estambres libres, de 5-22 x 2-5 mm, insertos debajo de un disco carnoso y lobado de 1,5-2 cm de diámetro; anteras marrón de 0,3-0,9 mm de diámetro. **Inflorescencia femenina** axilar con menos de seis flores por nudo.

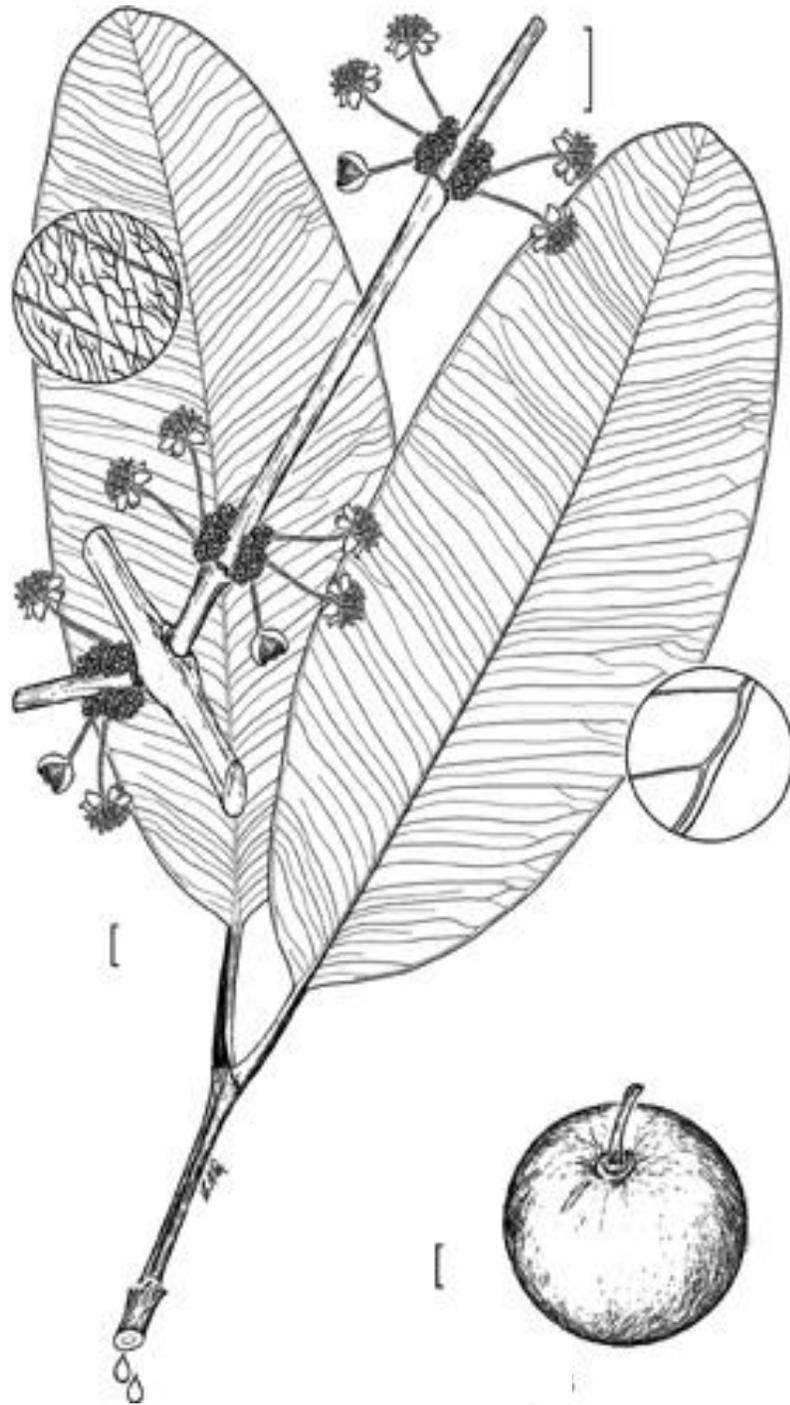


Figura 17. Caracteres diagnósticos de *Garcinia magnifolia*. Hojas simples, opuestas, ovaladas, enteras, ápice obtuso o redondo; numerosos nervios secundarios e intersecundarios se fusionan con los terciarios creando un retículo denso hacia el margen. Inflorescencia masculina con numerosas flores estaminadas que dejan cicatrices en los nudos. Fruto globoso y liso. Ilustración de Claudia Alarcón. Tomada de Zamora *et al.*, 2004.

Flor pistilada con ovario ovalado 3-4 locular, inserto en un anillo blanco rodeado por estaminodios, y cubierto por un estigma peltado, discoide o hemisférico, entero o lobado (Fig. 18). **Cáliz** con 2 sépalos amarillos a verdes, imbricados, de 1,8-2,5 mm de longitud. **Corola** con 4 pétalos blancos, membranáceos, de 4-5 x 3,8-4,1 mm. **Fruto** en drupa redonda, de 3-9 cm de diámetro, amarilla o naranja, caulifoliar, pericarpio ligeramente rugoso o suave (Fig. 17-18). **Semillas** 1-4, ovaladas, de 0,8-2,7 x 1,1-1,5 cm, color marrón, envueltas en un arilo pulposo, carnososo y dulce.

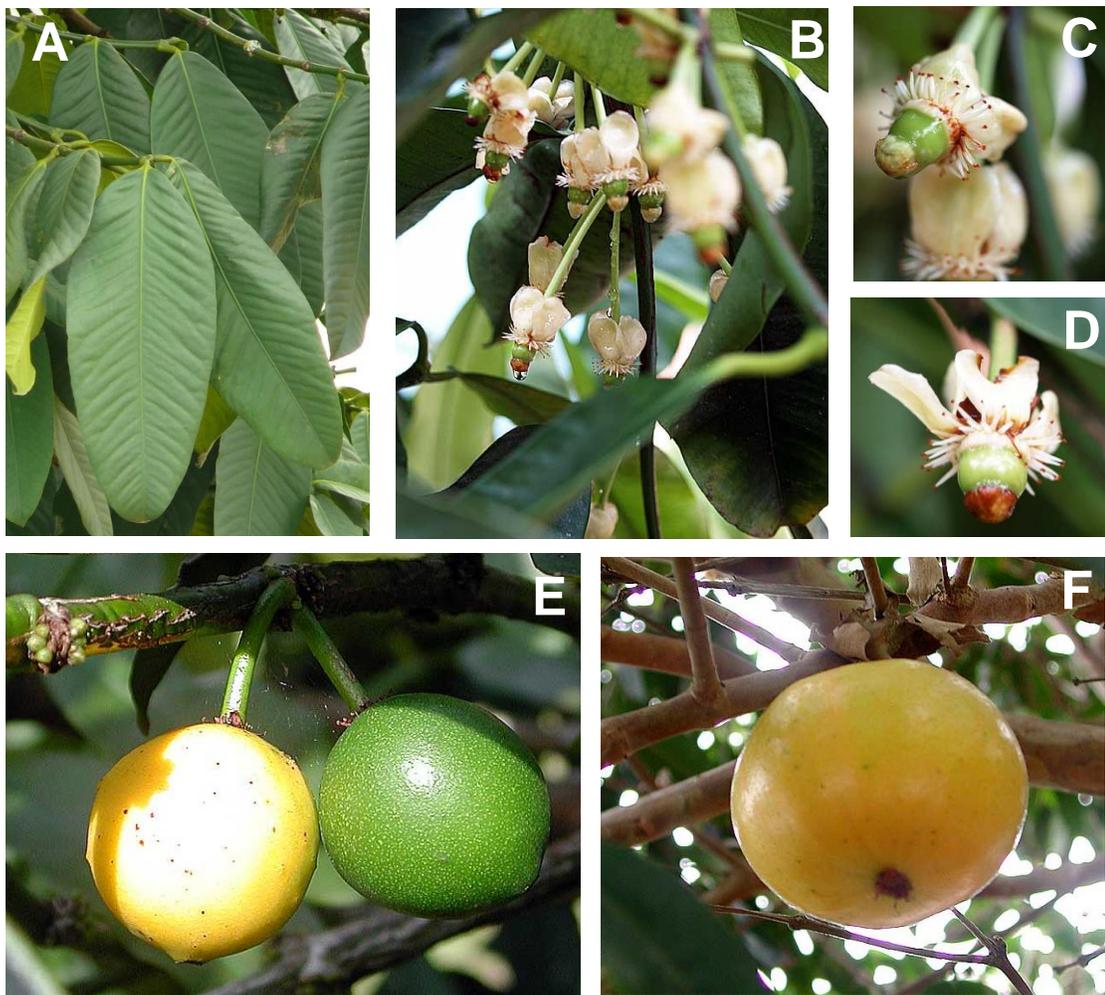


Figura 18. Caracteres de *Garcinia magnifolia*. A. Hojas simples, opuestas, ovoides, enteras, coriáceas, ápice obtuso y nervadura muy marcada. B. Inflorescencia de flores pistiladas. C., D. Detalle de flores pistiladas con ovario inserto en un anillo rodeado por estaminodios, y cubierto por un estigma peltado. E., F. Frutos globosos de epicarpio liso, usualmente amarillos al madurar. (Fotografías tomadas de <http://conabio.inaturalist.org/>, consultada en sep. 2015).

Hábitat y distribución. *Garcinia magnifolia* habita en bosques tropicales, pluviales y húmedos. Se distribuye desde Costa Rica hasta Colombia. En Colombia se encuentra en el Chocó biogeográfico en Antioquia, Chocó y Valle del Cauca, desde los 0 hasta los 1420 m de altura (Fig. 21).

Nombres vernáculos y usos. “Bebasajo” o “madroño” (Antioquia).

1.3.2.2.6 *Garcinia mangostana* L. Species Plantarum 1: 443–444. 1753. **Lectotipo.** “*Mangostans*” en Garcin, Philos. Trans. 38 (431): 232, no numerado (1734).

Mangostana garcinia Gaertn. [ilegit.] Tipo. (Sintipos: Rumph., en Herb. Amboin., vol. 1: 132, Tab. 43, 1741; Gaertn., en de Fruct., vol. 2: 105, Tab. 105).

Árboles siempreverdes, glabros, dioicos, de 7-10 m de altura; copa cónica o piramidal. La corteza nueva es suave y verde brillante, volviéndose gruesa y marrón con los años; látex amarillo o verde. **Hojas** elíptico-ovaladas, gruesas, coriáceas, de 12-20 x 6-9 cm, agudas en el ápice, obtusas o agudas en la base, margen grueso, levemente revolutas; venas laterales prominentes, cerca de 2 secundarias por cm y 2-3 intersecundarias por cm, que junto con los nervios terciarios forman una nervadura reticulada cerca del margen; vena submarginal a 5 mm del margen y a veces una segunda vena submarginal aún más cerca del margen (Fig. 19); pecíolos gruesos, de 1,5-5 x 0,5 cm, amarillos al secar. **Inflorescencia masculina** en fascículos axilares con pocas flores, a veces terminal en una o dos flores. **Flor estaminada** con más de 7 estambres rudimentarios, parcialmente connados en la base, insertos en el disco en 4-5 falanges. **Inflorescencia femenina** terminal de una flor solitaria. **Flor pistilada** con ovario globoso inserto en un receptáculo, cubierto por un estigma sécil blanco, achatado y 4-8 lobado; usualmente presentan estaminodios que rodean el gineceo; los pedicelos son gruesos, de 1,5-2 cm de largo, amarillos y angulosos al secar. **Cáliz** con 4 sépalos redondos, coriáceos y persistentes, arreglados en dos series, los 2 externos son más grandes, de aprox. 2 cm de diámetro, verdes o amarillos, y cubren a los 2 internos más cortos, rojizos o rosados. **Corola** con 4(5) pétalos ovalados, coriáceos y persistentes, rojizos y a veces amarillos o blancos, de aprox. 2 cm de diámetro (Fig. 19). **Fruto** en drupa púrpura, de 3-7 cm de diámetro, globoso de corteza gruesa, con estigma y sépalos persistentes; al

cortarlo transversalmente se diferencia el pericarpio, rosado y duro, con canales laticíferos que exudan látex amarillo (Fig. 19). **Semillas** 1-5, comprimidas y elipsoides, de 1-2 cm de longitud, envueltas en un arilo blanco, dulce y pulposo (Arias, 2002). Las frutas se forman sin polinización, y las semillas son apomícticas (formadas de tejido materno) (Rivero *et al.*, 2006), por esta razón se considera que los árboles cultivados, aunque se deriven de semillas, se comportan como un clon (Rivero *et al.*, 2006).

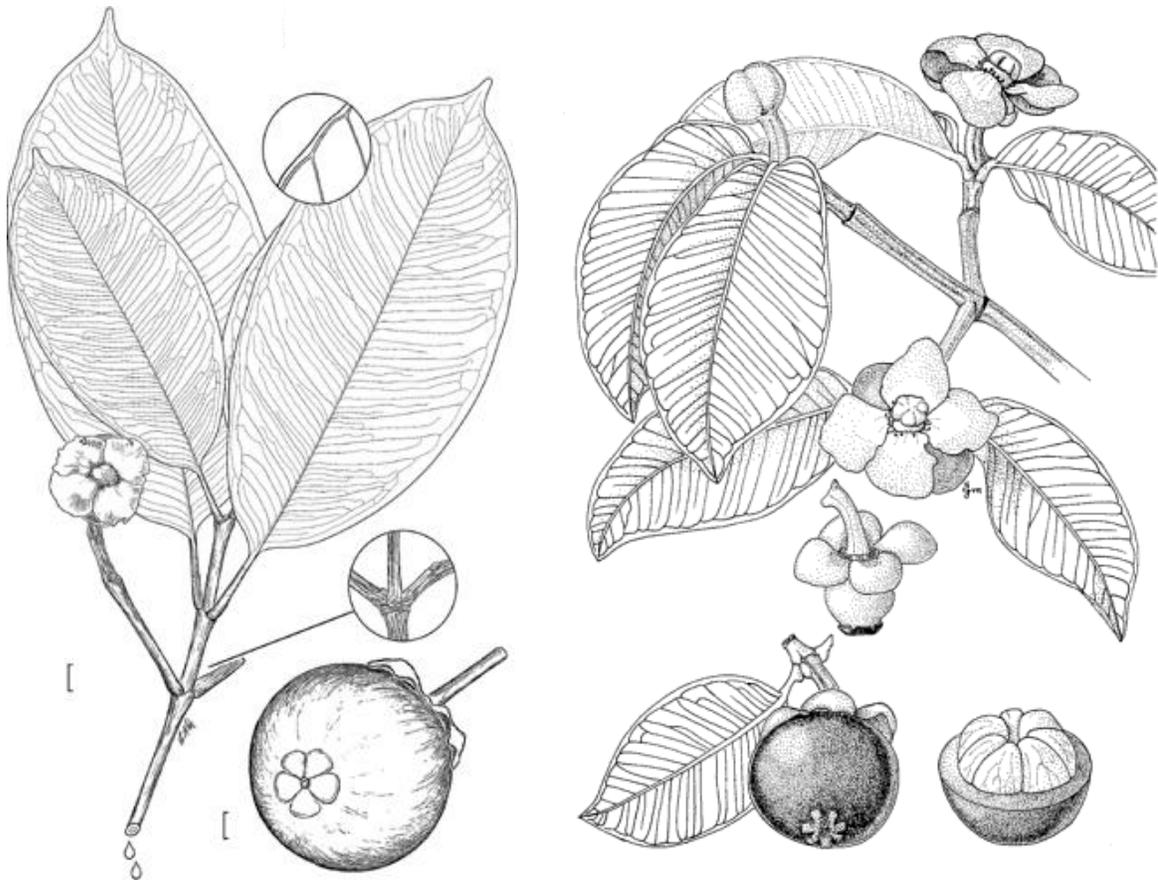


Figura 19. Caracteres diagnósticos de *Garcinia mangostana*. Hojas simples, opuestas, enteras, elípticas y con ápice acuminado. Presentan dos venas submarginales, una a 5 mm del margen y otra a 1-2 mm del margen. Los pecíolos son gruesos, estriados y angulosos. Las flores femeninas poseen 4 sépalos y 4 pétalos, redondos y coriáceos. El fruto es una baya púrpura globosa de epicarpio liso y mesocarpio blanco y dulce; generalmente se encuentra con sépalos, pétalos y estigma persistentes. Ilustración de Claudia Alarcón. Tomada y editada de Zamora *et al.* (2004) y Janick *et al.* (2008).

Hábitat y distribución. *Garcinia mangostana* crece en ambientes con alta humedad, entre 28 y 30°C de temperatura, precipitación de 1500 mm, suelos profundos y en donde la capa freática se encuentra a por lo menos 2 m de profundidad (Arias, 2002). Es nativa del archipiélago Malayo pero la localización exacta de su origen es incierta. Fue introducida en América, África y Oceanía (Zamora, 2004). Es exclusiva de los trópicos. En América se encuentra en Estados Unidos y desde Centro América hasta Venezuela. En Colombia se encuentra en Antioquia, Meta y Tolima entre los 1250-1600 m de altura (Fig. 21).

Nombres vernáculos y usos. “Mangostino” (Antioquia, Tolima), “mangostán” (Antioquia). Las frutas se consumen en su estado natural. Varias partes de la planta también tienen usos medicinales caseros. La cáscara de la fruta se utiliza en forma pulverizada para el tratamiento de diarrea, disentería y enfermedades de la piel. La infusión de las hojas y de la corteza se usa para bajar la fiebre y para los desordenes urinarios. Además es utilizado como ornamental (Rivero *et al.*, 2006).

Atributos farmacológicos. En diversos estudios se ha demostrado que las xantonas obtenidas de *G. mangostana* tienen actividades biológicas muy importantes (Gutierrez-Orozco *et al.*, 2013). Las xantonas más estudiadas son: α -, β -, y γ -mangostinas, garcinona E y gartanina. Algunas de las actividades documentadas de las xantonas son: antioxidante, antitumoral, antialérgicas, anti-inflamatorias, antivirales y antifúngicas (Gutierrez-Orozco *et al.*, 2013).

1.3.2.2.7 *Garcinia tonduziana* comb. nov. Basiónimo. *Rheedia tonduziana* Engl. -Bot. Jahrb. Syst. 58, Beibl. 130: 10. 1923. **Tipo.** Costa Rica, *Tonduz 11249* (holotipo F; isotipo BR).

Árbol de 5-12 m de altura; látex amarillo; ramitas delgadas, subtetrales, con hojas agrupadas en pequeños penachos hacia el final de las ramas, densamente foliadas. **Hojas** estrechamente lanceoladas, coriáceas, de 6-15 x 1,2-3,8 cm, ápice acuminado o

algunas veces obtuso (Fig. 20); base ocasionalmente inequilátera; numerosas venas laterales arqueadas a 60° aprox., 6-8 nervios secundarios por cm y 3-5 intersecundarios por cm; nervio submarginal inconspicuo y poco evidente al secar; nervio primario ocasionalmente amarillo o anaranjado en el envés (Fig. 20); peciolo finos, de 6-14 x 1-1,5 mm, fosa de tejido axilar ausente. **Inflorescencia masculina** en fascículos axilares con más de 7 flores por nudo, flores caulifloras en densos fascículos de nudos desfoliados (Fig. 20).

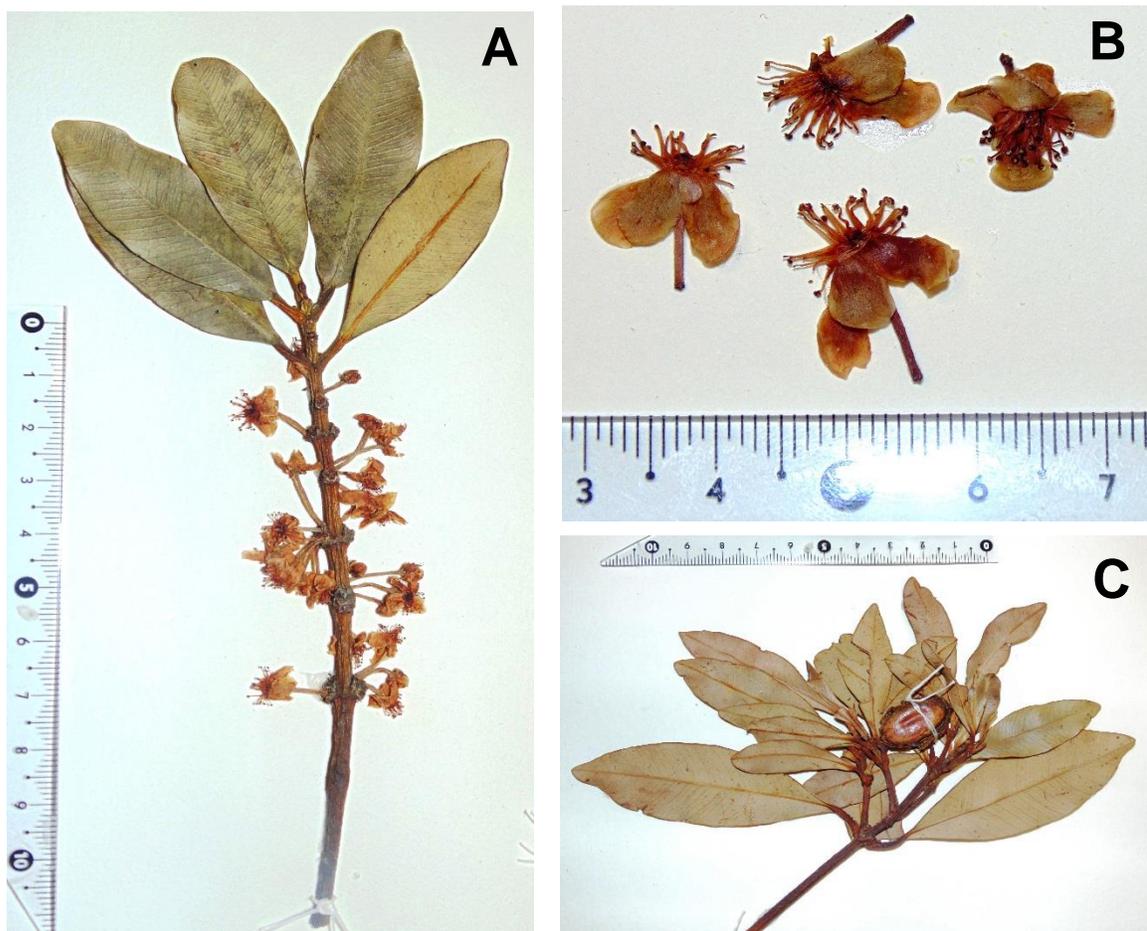


Figura 20. Caracteres diagnósticos de *Garcinia tonduziana*. A. y C. Hojas simples, opuestas, enteras, elípticas, pequeñas, organizadas en penachos al final de las ramas; nervio submarginal amarillo o anaranjado en el envés, ápice generalmente obtuso o a veces acuminado. A. Inflorescencia masculina en fascículos axilares con flores caulifloras que dejan cicatrices en los nudos desfoliados. B. Flores masculinas con más de 15 estambres libres, insertos bajo un disco; corola con 4 pétalos rotundos y membranáceos. C. Fruto en baya de epicarpio liso, con 1-2 semillas elipsoides por fruto. (Fotografías tomadas de los siguientes especímenes: A., B. Parque Nacional El Imposible, Ahuachapa, El Salvador, 9 de enero de 1990, *Serméño AS058* (MO), C. Valle de Río San Luis, Reserva Biológica Monteverde, Puntarenas, Costa Rica, 25 de marzo de 1987, *Haber 6811* (MO)).

Flor estaminada con más de 15 estambres libres de 1-6 x 0,2-0,5 mm, insertos debajo de un disco anaranjado de 0,8-1,5 cm de diámetro; anteras de 0,2-0,5 mm de diámetro; pedicelos finos de 0,6-3 cm de longitud. **Inflorescencia femenina** axilar con pocas flores por nudo en comparación con las inflorescencias masculinas. **Flor pistilada** con ovario verde, ovalado, cubierto por un estigma blanco sésil y pedicelo de 0,9-1,4 cm de largo. **Cáliz** con 2 sépalos ovados o rotundos de 1,3-1,5 mm de longitud. **Corola** con 4 pétalos redondos, membranáceos, blancos o amarillos, de 2-8 mm de diámetro (Fig. 20). **Frutos** elipsoides u ovalados, redondos en sección transversal, verdes a amarillos, de 2-3 x 1,5-3 cm. **Semillas** elipsoides, 1-2 por fruto, de aprox. 2 x 1 cm, cubiertas por un arilo acidulo, comestible.

Hábitat y distribución. *Garcinia tonduziana* habita en bosques húmedos. Se distribuye desde México hasta Perú. En Colombia se ha encontrado exclusivamente en Antioquia en bosques secundarios y reservas naturales entre los 230 y 520 m de altura (Fig. 21).

Nombres vernáculos y usos. "Limoncillo" (México), "jocomico" (Nicaragua), "jorco" (Costa Rica), "arrayán", "barillo", "chaparrón" (El Salvador), "satro" (Panamá), "allpahuyo" (Perú). El arilo blanco que cubre las semillas es acidulo y comestible. En Colombia es un fruto poco conocido.

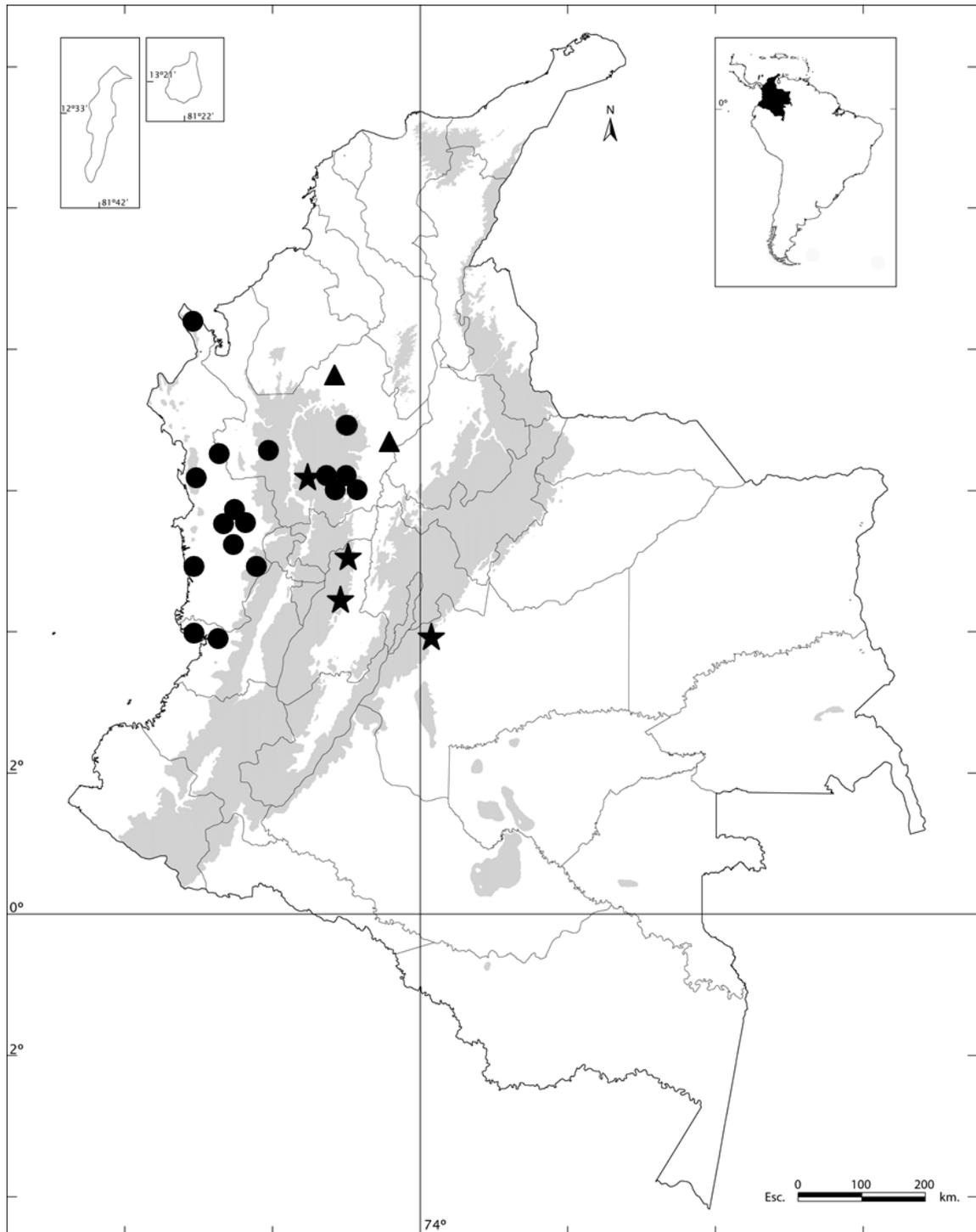


Figura 21. Mapa de puntos de distribución de ● *Garcinia magnifolia*, ★ *G. mangostana* y ▲ *G. tonduziana*.

1.4 Discusión

Garcinia es un género que a pesar de estar representado por pocas especies en Colombia, no está bien resuelto taxonómicamente debido a su gran diversidad floral que ha llevado a cambios en su clasificación. Sin embargo, con la revisión se encontró que tal diversidad no es muy marcada en las especies de Colombia y en general, en las especies del Neotrópico. Todas las especies del género presentes en el país poseen el mismo patrón floral, caracterizado por inflorescencias en fascículos axilares de flores unisexuales con 4 pétalos redondos y membranáceos, que se intercalan con los 2 sépalos ovalados, coriáceos, más pequeños que los pétalos. Las flores estaminadas poseen un disco nectarífero en el centro, rodeado de numerosos estambres libres organizados en más de dos verticilos, con anteras bitecas globosas que se abren longitudinalmente. Las flores pistiladas poseen un anillo lobado o anular debajo del ovario, rodeado de estaminodios libres, organizados en un solo verticilo. Este patrón floral es muy similar al del clado *Rheedia* propuesto por Sweeney *et al.* (2008) para las garcinias que tienen este tipo de flores en Madagascar y Las Comoras (Fig. 22), ya que las especies de Colombia presentan 4 pétalos y las africanas poseen 5 pétalos en sus flores.

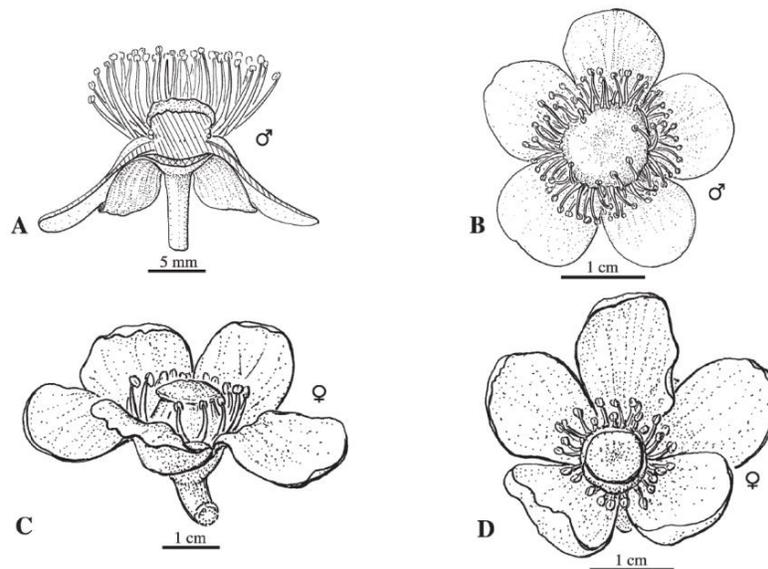


Figura 22. Patrón floral de las especies nativas de *Garcinia* en Colombia. A. Corte longitudinal de una flor estaminada. B. Vista superior de una flor estaminada. C. Vista lateral de una flor pistilada. D. Vista superior de una flor pistilada. Tomada y editada de Sweeney *et al.* (2008).

De acuerdo con la revisión y los análisis multivariados, de las siete especies de *Garcinia* presentes en Colombia, seis son fácilmente diferenciables por su morfología. *Garcinia mangostana* se diferencia por la nervadura de sus hojas, la inflorescencia terminal en flor solitaria, el color y tamaño de sus flores, y sus frutos color púrpura. Esta es la única especie introducida en América por lo que cuenta con una morfología que la diferencia de las especies neotropicales. Esta diferenciación también está soportada por estudios moleculares en donde ésta y otras especies del Viejo Mundo pertenecen a la sección *Garcinia* dentro del género (Sweeney, 2008). *Garcinia madruno* se diferencia por el epicarpio rugoso o tuberculado de sus frutos, los canales resiníferos muy evidentes en el envés, y el color verde oscuro en el haz y verde claro en el envés de las hojas, también muy evidente al secar. Además, es la especie con distribución más extensa en el país. *Garcinia magnifolia* y *G. macrophylla* son especies muy similares por el tamaño de sus hojas, frutos y de las cuñas axilares de los pecíolos, sin embargo, la nervadura de *G. magnifolia* es más profunda, el ápice de las hojas es obtuso, las hojas al secar son de color marrón más oscuro, y ocasionalmente sus frutos pueden presentar epicarpio levemente rugoso. *Garcinia tonduziana* es una especie de la que se tienen pocos reportes en Colombia (Fig. 21), pero gracias a la revisión de colecciones de otros países se pudo completar su descripción. Esta especie se caracteriza por presentar hojas lanceoladas, pequeñas, agrupadas en penachos hacia la punta de las ramas y con ápice obtuso y base ocasionalmente inequilátera. Sus frutos son muy similares a los de *G. intermedia*, por lo que eran consideradas sinónimos. Sin embargo, con la revisión y los análisis morfométricos, se comprobó que son dos especies, por lo cual, en este trabajo se propuso la nueva combinación para esta especie.

Con los análisis multivariados se rechazó la hipótesis de que *G. recondita* corresponde a una especie diferente (Fig. 1), por lo cual se re determinaron y manejaron a estos especímenes como *G. intermedia*. Aunque las hojas de *G. intermedia* son más grandes que las de *G. gardneriana*, su morfología vegetativa es muy similar. Con el AFD y el ACP se encontró que las variables que mejor discriminan a estas especies son el ancho de los estambres y el diámetro del disco nectarífero, y en menor medida, la nervadura y el diámetro de las anteras (Fig. 2-3). Ya que las variables que mejor diferencian a estas dos especies están en las flores estaminadas, se podrían confundir al encontrarlas infértiles, no obstante, su distribución es

clave para diferenciarlas ya que *G. intermedia* se encuentra en el Chocó Biogeográfico y al Norte de los Andes, mientras que *G. gardneriana* es común en la cuenca amazónica (Fig. 11).

En el análisis discriminante con las seis especies nativas, se encontró que al utilizar las 31 variables se explica el 89,1% de la variabilidad, mientras que al utilizar las nueve variables propuestas en el CART, se explica el 97,6% de la variabilidad (Fig. 5). Sin embargo, en las proyecciones se observa que con las nueve variables las agrupaciones no se diferencian tan bien como con las 31 variables totales. Por lo tanto, existen otras variables que aunque no tengan un gran poder discriminante y el porcentaje de variabilidad que expliquen sea bajo, son importantes en el análisis. Adicionalmente, se encontró que las variables responsables de las agrupaciones que más se repiten en los dos análisis (CART y AFD con ACP), son la longitud de la hoja, la evidencia de los canales resiníferos, la fusión de nervios secundarios e intersecundarios, el diámetro del disco nectarífero y la forma del fruto. No obstante, aunque estos caracteres son útiles para la identificación de las especies, no son suficientes para su diagnóstico.

1.5 Conclusiones

En Colombia se encuentran siete especies de *Garcinia*, una introducida (*G. mangostana* n.v. “mangostino”) y seis nativas: *G. intermedia*, *G. gardneriana*, *G. macrophylla*, *G. madruno*, *G. magnifolia* y *G. tonduziana*. Todas presentan frutos comestibles y se distribuyen desde los 0 hasta los 2200 m de altura. A pesar de que este género se caracteriza por tener una amplia diversidad en sus flores, estas seis especies presentan el mismo patrón floral de las especies del clado *Rheedia* propuesto por Sweeney *et al.* (2008) para las garcinias de Madagascar y Las Comoras, y es muy probable que todas las especies neotropicales de *Garcinia* tengan esta misma configuración en sus flores.

Garcinia madruno es la especie con más amplia distribución en Colombia, encontrándose desde el norte del Chocó biogeográfico hasta la cuenca amazónica. Es la especie con mayor

número de reportes ya que sus frutos son los más conocidos y consumidos. Los frutos de *G. intermedia*, *G. macrophylla*, *G. gardneriana* y *G. magnifolia* son conocidos en menor medida, aunque también son consumidos como alimento y usadas como plantas medicinales por algunas comunidades de las zonas donde habitan, especialmente en Antioquia, Chocó, Amazonas y Caquetá. Sin embargo, el mangostino sigue siendo la especie más reconocida del género por los numerosos cultivos que hay en el país.

Adicionalmente, muchas de estas especies han sido objeto de estudio en diversos trabajos farmacológicos, encontrando antioxidantes como biflavonoides y xantonas denominadas “Rheediaxantonas A, B y C” específicas de las garcinias, que han mostrado tener efectos antiinflamatorios e incluso propiedades anticancerígenas. También se han encontrado benzofenonas que actúan como filtro para las radiaciones UV. Estos resultados confirman su uso tradicional popular y destacan su importancia para el desarrollo de nuevos fármacos antiinflamatorios.

Por otra parte, los análisis multivariados con caracteres morfométricos demostraron que a pesar de que existe un grupo pequeño de variables que explican cerca del 97% de la variabilidad, y con un mayor poder discriminante, las agrupaciones de las especies no se definen tan bien como cuando se utilizan todas las variables en un análisis, ya que no siempre las variables están correlacionadas, y por lo tanto, aportan diferente información que aunque es poca, es relevante en este tipo de análisis.

Además, se demostró que los especímenes redeterminados como “*Garcinia recondita*” corresponden a *Garcinia intermedia*, y que *Garcinia tonduziana* es una especie distinta de *G. intermedia*, por lo cual se propuso la nueva combinación para esta especie.

2. Capítulo 2: Evaluación de la monofilia de las especies Neotropicales de *Garcinia*

2.1 Introducción

Los límites de *Garcinia* y de géneros afines como *Ochrocarpos* Thouars, *Rheedia* L., *Tsimatimia* Jumelle & H. Perrier y *Xanthochymus* Roxburgh, han sido debatidos por años (Planchon & Triana, 1860; Vesque, 1893; Engler, 1893, 1925; Jumelle *et al.*, 1910; Perrier de la Bâthie, 1948, 1951; Robson, 1958; Adams, 1970; Jones, 1980; Gustafsson *et al.*, 2002; Stevens, 2006; Sweeney, 2008; Sweeney *et al.*, 2008). En la última clasificación infragenérica de *Garcinia*, Jones (1980) adoptó un amplio concepto del género, incluyendo a *Ochrocarpos*, *Rheedia*, *Tsimatimia* y *Xanthochymus*, además, reconoció 14 secciones delimitadas por la morfología de las flores estaminadas. Posteriormente, varios estudios han examinado las relaciones evolutivas dentro de *Garcinia* utilizando muchas de las especies del Viejo Mundo, a partir de datos moleculares (Nazre, 1999; Sari, 2000; Gustafsson *et al.*, 2002; Yapwattanaphun *et al.*, 2004; Sulassih *et al.*, 2013). El estudio filogenético más amplio del género lo realizó Sweeney (2008) utilizando dos marcadores nucleares (ITS y GBSSI - almidón sintasa unida a gránulo-). Este estudio incluyó un amplio muestreo taxonómico, geográfico y morfológico (aprox. 28% de las especies del Viejo Mundo). Sus resultados demostraron un alto soporte para la circunscripción del género propuesta por Jones (1980), también apoyada por Stevens (2006).

No obstante, aunque existen estudios moleculares que apoyan la inclusión de *Rheedia* dentro de *Garcinia* (Gustafsson *et al.*, 2002; Sweeney, 2008), aún no se ha realizado un estudio con un mayor muestreo de especies Neotropicales que pueda demostrar si estas forman un clado dentro del género. Por esta razón, se realizó el primer análisis filogenético para el género, que vincula la información de los genes ITS, GBSSI, *rbcL* y *matK*, ampliando el muestreo

taxonómico de las especies Neotropicales de *Garcinia*, con el objetivo de probar su monofilia, optimizar un protocolo de extracción de ADN de material de herbario de este grupo, y evaluar la congruencia entre las topologías obtenidas con cada gen o set de genes, empleando los métodos de máxima parsimonia e inferencia Bayesiana.

2.2 Metodología

2.2.1 Muestreo taxonómico

El muestreo incluyó a cinco especies neotropicales (*G. intermedia*, *G. macrophylla*, *G. madruno*, *G. portoricensis*, *G. hessii*) y a 66 especies paleotropicales de *Garcinia* como grupo interno. Como grupo externo se seleccionaron a cinco especies de Asia y Madagascar que pertenecen a las secciones *Discostigma* (*G. eugeniifolia*, *G. rostrata*, *G. merguensis*) y *Paragarcinia* (*G. melleri*, *G. tsaratananae* – antes *Ochrocarpos tsaratananae* –) (Sweeney, 2008). Debido a que el género está representado por cerca de 9 especies en Centro América y Sur América, 16 especies y dos variedades en Las Antillas (Acevedo-Rodríguez *et al.*, 2012), hay representatividad en el tamaño de la muestra con más del 20% de las especies neotropicales. También hay bastante representatividad en la variabilidad morfológica pues *G. intermedia*, *G. madruno* y *G. macrophylla* son especies que tienen hojas de gran tamaño y características afines por crecer en ambientes muy húmedos, mientras que *G. hessii* y *G. portoricensis* son especies típicas de serpentinias y suelos alcalinos, y por lo tanto, tienen hojas muy pequeñas y mucho más coriáceas por responder fisiológicamente como si estuvieran ante sequías.

Para la optimización de los protocolos de extracción y amplificación de ADN se tomaron las muestras recolectadas en campo, las conservadas en sílica gel obtenidas de MO, y las muestras solicitadas de los especímenes de herbario almacenados en NY. Inicialmente se esperaba amplificar y utilizar exclusivamente secuencias de ITS y GBSSI (Sweeney, 2008), pero debido a la disponibilidad de secuencias de genes de cloroplasto en GenBank, se aumentó el muestreo de marcadores haciendo uso de las secuencias de *rbcL* y *matK* disponibles para estas especies.

El ADN de cloroplasto (ADNcp) también ha sido ampliamente usado para inferir filogenias en plantas a diferentes niveles taxonómicos (Gielly *et al.*, 1994; Yonemori *et al.*, 2008; Tang *et al.*, 2014). Además, algunos autores recomiendan comparar las filogenias basadas en ADN nuclear con las reconstrucciones basadas en secuencias de cloroplasto (herencia materna), sobre todo cuando se espera evolución reticular (por hibridación) en un grupo (Soltis *et al.*, 1998).

Aunque existen otros genes de cloroplasto como *trnL-F*, *ndhF* y *psbA-trnH* que son utilizados comúnmente en estudios filogenéticos, no fueron utilizados en este estudio porque proporcionan baja resolución debido a la poca variación o alta homoplasia en secuencias de las especies del clado Garcinieae/Symphonieae (Sweeney, 2008).

Los números de acceso de las secuencias utilizadas en el análisis se muestran en la Tabla 2.

2.2.2 Marcadores moleculares

2.2.2.1 Espaciadores transcritos internos 1 y 2 (ITS)

El ITS (internal transcribed spacer) es un marcador de ADN nuclear ribosomal. Estos genes están organizados en uno o más arreglos que contienen de cientos a miles de repeticiones en tándem (Rogers *et al.*, 1987). Cada repetición consiste de una región espaciadora no transcrita, un espaciador transcrito externo, y una región que codifica para las subunidades de ARNr larga (26S), pequeña (18S) y para la 5.8S (Kyndt *et al.*, 2005). Los dos espaciadores internos (ITS1 e ITS2) separan los tres genes y se derivan de las transcripciones precursoras durante la formación de los ARNr maduros (Fig. 23).

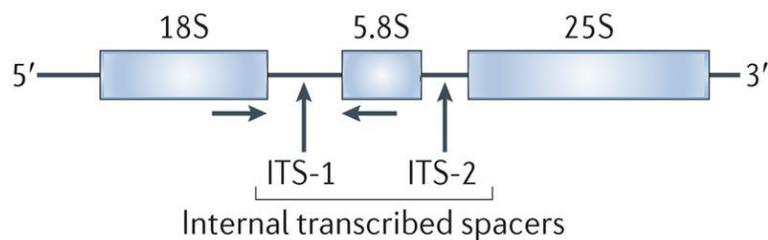


Figura 23. Posición de la región ITS. Los dos espaciadores transcritos internos del ADN ribosomal separan a las tres regiones codificantes que se muestran en azul. Tomada y editada de Underhill *et al.* (2014).

Tabla 2. Números de acceso y referencias de las secuencias utilizadas de ITS, GBSSI, *rbcL* y *matK* de las especies de estudio, disponibles en GenBank. NA = dato ausente.

| Especie | ITS | GBSSI | <i>rbcL</i> | <i>matK</i> | Referencias |
|--|------------|--------------|--------------------|--------------------|---|
| <i>G. acuminata</i> | AB110796.1 | NA | NA | NA | Yapwattanaphun <i>et al.</i> (2003) |
| <i>G. afzelii</i> | EU128430.1 | EU128260.1 | KC628029.1 | KC627468.1 | Sweeney (2008); Parmentier <i>et al.</i> (2013) |
| <i>G. amplexicaulis</i> | EU128480.1 | EU128281.1 | NA | NA | Sweeney (2008) |
| <i>G. asterandra</i> | EU128478.1 | NA | NA | NA | Sweeney (2008) |
| <i>G. atroviridis</i> | AB110797.1 | NA | KJ594716.1 | NA | Yapwattanaphun <i>et al.</i> (2003); Erickson <i>et al.</i> (2015) |
| <i>G. bancana</i> | AF367212.1 | EU128245.1 | NA | NA | Nazre <i>et al.</i> (2003); Sweeney (2008) |
| <i>G. benthamii</i> | NA | NA | AB925319.1 | AB924708.1 | Yapwattanaphun <i>et al.</i> (2003) |
| <i>G. cantleyana</i> var <i>grandiflora</i> | EU128477.1 | EU128266.1 | NA | NA | Sweeney (2008) |
| <i>G. cataractalis</i> | EU128476.1 | EU128240.1 | NA | NA | Sweeney (2008) |
| <i>G. celebica</i> | EU128475.1 | EU128243.1 | NA | NA | Sweeney (2008) |
| <i>G. chapieleri</i> | EU128474.1 | NA | NA | NA | Sweeney (2008) |
| <i>G. commersonii</i> | EU128438.1 | NA | NA | NA | Sweeney (2008) |
| <i>G. conrauana</i> | EU128473.1 | EU128306.1 | KC628310.1 | NA | Sweeney (2008); Parmentier <i>et al.</i> (2013) |
| <i>G. costata</i> | AB110798.1 | NA | NA | NA | Yapwattanaphun <i>et al.</i> (2003) |
| <i>G. cowa</i> | AF367213.1 | NA | HQ332054.1 | KJ510948.1 | Nazre <i>et al.</i> (2003); Ruhfel <i>et al.</i> (2011); Kong <i>et al.</i> (2014) |
| <i>G. dulcis</i> | AB110801.1 | EU128312.1 | NA | NA | Yapwattanaphun <i>et al.</i> (2003); Sweeney (2008) |
| <i>G. dumosa</i> | EU128467.1 | EU128268.1 | NA | NA | Sweeney (2008) |
| <i>G. eugenifolia</i> | EU128462.1 | EU128273.1 | HQ332055.1 | HQ331598.1 | Sweeney (2008); Ruhfel <i>et al.</i> (2011) |
| <i>G. forbesii</i> | AF367224.1 | NA | KJ594717.1 | NA | Nazre <i>et al.</i> (2003); Erickson <i>et al.</i> (2015) |
| <i>G. fruticosa</i> | EU128461.1 | EU128246.1 | NA | NA | Sweeney (2008) |
| <i>G. globulosa</i> | AF367221.1 | NA | NA | NA | Nazre <i>et al.</i> (2003) |
| <i>G. gnetoides</i> | EU128460.1 | EU128307.1 | KC628449.1 | KC627780.1 | Sweeney (2008); Parmentier <i>et al.</i> (2013) |
| <i>G. griffithii</i> | EU128458.1 | NA | NA | NA | Sweeney (2008) |
| <i>G. hanburyi</i> | AB110802.1 | NA | AB925386.1 | AB924775.1 | Yapwattanaphun <i>et al.</i> (2003) |
| <i>G. harmandii</i> | NA | NA | AB925699.1 | AB924823.1 | Yapwattanaphun <i>et al.</i> (2003) |
| <i>G. hessii</i> | NA | NA | NA | EF135543.1 | Davis <i>et al.</i> (2007) |
| <i>G. hombroniana</i> | EU128457.1 | EU128247.1 | HQ332056.1 | HQ331599.1 | Sweeney (2008); Ruhfel <i>et al.</i> (2011) |
| <i>G. intermedia_A</i> | EU128445.1 | EU128326.1 | JQ591099.1 | HQ331600.1 | Sweeney (2008); iBOL (2012); Ruhfel <i>et al.</i> (2011) |
| <i>G. intermedia_B</i> | EU128444.1 | NA | JQ591097.1 | HQ331601.1 | Sweeney (2008); iBOL (2012); Ruhfel <i>et al.</i> (2011) |
| <i>G. intermedia_C</i> | EU128443.1 | NA | JQ591098.1 | NA | Sweeney (2008); iBOL (2012) |
| <i>G. kola</i> | EU128453.1 | EU128309.1 | KC628604.1 | NA | Sweeney (2008); Parmentier <i>et al.</i> (2013) |
| <i>G. lanessanii</i> | EU128451.1 | NA | AB925626.1 | AB924998.1 | Sweeney (2008); Yapwattanaphun <i>et al.</i> (2003) |
| <i>G. latissima</i> | AF479789.1 | NA | FJ976136.1 | FJ670008.1 | Nazre <i>et al.</i> (2003); Novotny <i>et al.</i> (2011); Wurdack <i>et al.</i> (2007) |
| <i>G. livingstonei</i> | EU128450.1 | EU128298.1 | JX572619.1 | JX517696.1 | Sweeney (2008); Maurin <i>et al.</i> (2013) |
| <i>G. loureiroi</i> | NA | NA | AB925541.1 | AB924919.1 | Yapwattanaphun <i>et al.</i> (2003) |
| <i>G. lucida</i> | EU128449.1 | EU128300.1 | KC628666.1 | NA | Sweeney (2008); Parmentier <i>et al.</i> (2013) |
| <i>G. macrophylla_A</i> | EU128448.1 | EU128327.1 | FJ670165.1 | NA | Sweeney (2008); Novotny <i>et al.</i> (2011) |

| | | | | | |
|----------------------------|------------|------------|------------|------------|---|
| <i>G. macrophylla_C</i> | EU128447.1 | NA | KF981214.1 | NA | Sweeney (2008); Chave <i>et al.</i> (2014) |
| <i>G. macrophylla_B</i> | EU128442.1 | NA | NA | NA | Sweeney (2008) |
| <i>G. madruno_A</i> | AJ509215.1 | NA | GQ981746.1 | JQ587259.1 | Gehrig <i>et al.</i> (2003); Kress <i>et al.</i> (2009); iBOL (2012) |
| <i>G. madruno_B</i> | AY635538.1 | NA | JX987589.1 | JQ587258.1 | Dick <i>et al.</i> (2006); Maurin <i>et al.</i> (2013); iBOL (2012) |
| <i>G. madruno_C</i> | AY635536.1 | NA | JX987590.1 | JQ587257.1 | Dick <i>et al.</i> (2006); Maurin <i>et al.</i> (2013); iBOL (2012) |
| <i>G. malaccensis</i> | EU128437.1 | EU128248.1 | NA | NA | Sweeney (2008) |
| <i>G. mangostana</i> | EU128436.1 | EU128249.1 | JX664049.1 | HQ331601.1 | Sweeney (2008); Maurin <i>et al.</i> (2013); Ruhfel <i>et al.</i> (2011) |
| <i>G. mannii</i> | EU128428.1 | EU128262.1 | KC628276.1 | KC627647.1 | Sweeney (2008); Parmentier <i>et al.</i> (2013) |
| <i>G. melleri</i> | NA | NA | HQ332058.1 | HQ331603.1 | Ruhfel <i>et al.</i> (2011) |
| <i>G. merguensis</i> | NA | NA | AB925292.1 | AB924684.1 | Yapwattanaphun <i>et al.</i> (2003) |
| <i>G. multiflora</i> | KP092915.1 | NA | KP095024.1 | KP094071.1 | Liu <i>et al.</i> (2015) |
| <i>G. nervosa</i> | AF367222.1 | EU128313.1 | HQ332059.1 | HQ331604.1 | Nazre <i>et al.</i> (2003); Sweeney (2008); Ruhfel <i>et al.</i> (2011) |
| <i>G. nigrolineata</i> | EU128422.1 | EU128250.1 | NA | NA | Sweeney (2008) |
| <i>G. oliveri</i> | NA | NA | AB925841.1 | AB924719.1 | Yapwattanaphun <i>et al.</i> (2003) |
| <i>G. opaca var. minor</i> | EU128421.1 | EU128253.1 | NA | NA | Sweeney (2008) |
| <i>G. ovalifolia</i> | EU128419.1 | EU128302.1 | KC628471.1 | KC627491.1 | Sweeney (2008); Parmentier <i>et al.</i> (2013) |
| <i>G. pauciflora</i> | EU128411.1 | EU128295.1 | NA | NA | Sweeney (2008) |
| <i>G. penangiana</i> | NA | NA | HQ332060.1 | HQ331605.1 | Ruhfel <i>et al.</i> (2011) |
| <i>G. porrecta</i> | EU128410.1 | EU128256.1 | NA | NA | Sweeney (2008) |
| <i>G. portoricensis</i> | NA | NA | AF518377.1 | NA | Nazre <i>et al.</i> (2003) |
| <i>G. prainiana</i> | EU128409.1 | EU128286.1 | NA | NA | Sweeney (2008) |
| <i>G. punctata</i> | EU128391.1 | EU128291.1 | NA | KC627616.1 | Sweeney (2008); Parmentier <i>et al.</i> (2013) |
| <i>G. rigida</i> | EU128408.1 | NA | NA | NA | Sweeney (2008) |
| <i>G. rostrata</i> | EU128407.1 | EU128277.1 | HQ332061.1 | HQ331606.1 | Sweeney (2008); Ruhfel <i>et al.</i> (2011) |
| <i>G. rubriflora</i> | EU128406.1 | NA | NA | NA | Sweeney (2008) |
| <i>G. scortechinii</i> | EU128405.1 | EU128270.1 | HQ332062.1 | HQ331607.1 | Sweeney (2008); Ruhfel <i>et al.</i> (2011) |
| <i>G. smeathmannii</i> | EU128399.1 | EU128304.1 | KC628480.1 | KC627414.1 | Sweeney (2008); Parmentier <i>et al.</i> (2013) |
| <i>G. spicata</i> | EU128390.1 | EU128317.1 | HQ332063.1 | HQ331608.1 | Sweeney (2008); Ruhfel <i>et al.</i> (2011) |
| <i>G. staudtii</i> | EU128387.1 | EU128305.1 | HQ332064.1 | HQ331609.1 | Sweeney (2008); Ruhfel <i>et al.</i> (2011) |
| <i>G. subelliptica</i> | EU128383.1 | EU128319.1 | KF783276.1 | AB233746.1 | Sweeney (2008); Parthasarathy <i>et al.</i> (2013); Yapwattanaphun <i>et al.</i> (2003) |
| <i>G. syzygiifolia</i> | EU128400.1 | NA | NA | NA | Sweeney (2008) |
| <i>G. tetralata</i> | KR532162.1 | NA | KR529349.1 | KR530869.1 | Huang <i>et al.</i> (2015) |
| <i>G. tsaratananae</i> | NA | NA | HQ332065.1 | HQ331610.1 | Ruhfel <i>et al.</i> (2011) |
| <i>G. uniflora</i> | EU128379.1 | EU128263.1 | NA | NA | Sweeney (2008) |
| <i>G. urophylla</i> | EU128378.1 | EU128271.1 | HQ332066.1 | HQ331611.1 | Sweeney (2008); Ruhfel <i>et al.</i> (2011) |
| <i>G. verrucosa</i> | EU128376.1 | EU128321.1 | NA | NA | Sweeney (2008) |
| <i>G. warreni</i> | EU128375.1 | EU128288.1 | NA | NA | Sweeney (2008) |
| <i>G. xanthochymus</i> | KR532168.1 | EU128325.1 | AF518391.1 | KR530875.1 | Huang <i>et al.</i> (2015); Sweeney (2008); Nazre <i>et al.</i> (2003) |
| <i>G. urschii</i> | EU128377.1 | NA | NA | NA | Sweeney (2008) |

El gen ITS ha sido utilizado para inferir relaciones filogenéticas a nivel de género en familias como Caricaceae (Olson, 2002), Orchidaceae (Salazar *et al.*, 2009) y Cyperaceae (Chacón *et al.*, 2006), en el género *Solanum* a nivel del subgénero *Leptostemonum* (Levin *et al.*, 2006), y en especies de berenjenas Asiáticas (Meyer *et al.*, 2012). También ha sido manejado para discriminar entre especies (Hollingsworth *et al.*, 2011), y de hecho, es más utilizado para resolver filogenias de angiospermas a nivel de especie (Baldwin *et al.*, 1995; Yamaji *et al.*, 2007; Liu *et al.*, 2008; Queiroz *et al.*, 2011).

2.2.2.2 Enzima almidón sintasa unida a gránulo - GBSSI

El gen GBSSI (granule-bound starch synthase) o *waxy*, es un gen de ADN nuclear que existe en una sola copia casi en todas las plantas estudiadas hasta hoy (Shure *et al.*, 1983; Klosgen *et al.*, 1986, Rohde *et al.*, 1988; Clark *et al.*, 1991; van der Leij *et al.*, 1991; Denyer *et al.*, 1992, Dry *et al.*, 1992; Salehuzzaman *et al.*, 1993; Wang *et al.*, 1995). Sus intrones proporcionan información útil entre especies cercanamente relacionadas, pero se convierte en una dificultad al alinear taxones más divergentes. Por otra parte, los exones son lo suficientemente variables como para proporcionar alta resolución entre familias. Es probable que la tasa de evolución variable entre sitios de GBSSI sea lo que maximiza su utilidad filogenética (Mason-Gamer *et al.*, 1998).

2.2.2.3 RuBisCO - *rbcL*

Es un gen de ADN de cloroplasto que codifica para la subunidad grande de la ribulosa-1,5-bifosfato carboxilasa/oxigenasa (RuBisCO). Este gen es uno de los marcadores moleculares más utilizados en sistemática de plantas a nivel de género y familia (Källersjö *et al.*, 1998), aunque también se han inferido relaciones filogenéticas infragenéricas (Gielly *et al.*, 1994). Aunque ofrece alta universalidad y su amplificación en genomas de plantas terrestres es fácil (Cadavid, 2013), su tasa evolutiva es baja y por lo tanto, puede llegar a ser un gen muy conservado como para discriminar entre especies, siendo más útil para discriminar entre familias o géneros (Hollingsworth *et al.*, 2009). Por otro lado, es común que presenta autoapomorfías en la tercera posición de sus codones, haciéndolo un gen apropiado para códigos de barras.

2.2.2.4 Maturasa *K-matK*

Es un gen de ADN de cloroplasto que codifica para una proteína de maduración. Cumple con la función de madurasa de intrones, necesaria para su corte y empalme (Cadavid, 2013). Se ha utilizado en varios estudios debido a que este gen tiene una alta tasa de sustitución de nucleótidos y por tal motivo, muestra buenos niveles de discriminación entre especies (Olmstead *et al.*, 1994; Matsumoto *et al.*, 1998), y en general, entre plantas de todos los niveles taxonómicos de angiospermas (Hilu *et al.*, 2003).

2.2.3 Optimización del protocolo de extracción de ADN

Se realizaron varias pruebas para extraer el ADN genómico de las muestras con la solución sal-saturada CTAB, de acuerdo con los protocolos de Murray *et al.* (1980), Doyle *et al.* (1987) y Lodhi *et al.* (1994). La extracción de las muestras preservadas en sílica gel fue exitosa solo para pocas muestras, debido a los polímeros y otros componentes presentes en el látex que pudieron oxidar el ADN más rápido o inhibir el proceso. Por lo tanto, se tomaron a los protocolos de Sarkinen *et al.* (2012), Drábkova *et al.* (2014) y Costa *et al.* (2014) como punto de partida para la optimización de un protocolo de extracción de ADN, debido a que cuentan con varios antioxidantes adicionales que facilitan la extracción de incluso muestras muy antiguas. Después de casi dos años de trabajo de laboratorio, se logró optimizar el protocolo de extracción de ADN para muestras de herbario de *Garcinia*, que se muestra en las secciones 2.2.3.1 y 2.2.3.2. El ADN extraído se cuantificó por Fluorometría y se cuantificó en un gel de electroforesis al 1% (Anexo A).

2.2.3.1 Preparación de la solución CTAB

Para un volumen final de 10 mL de solución se disolvieron 0,2 g de CTAB y 0,1 g de PVP (40), en 5,78 mL de H₂O, 2,8 mL de NaCl (5M), Tris HCl (1M – pH 7,5) y 400 µL de EDTA (0,5M – pH 8,0). Se calentó y mezcló con agitador magnético hasta homogenizar la solución.

2.2.3.2 Protocolo de extracción de ADN

Antes de la extracción se almacenaron las muestras en sílica gel. Se tomaron 50 mg de muestra (especialmente los ápices de las hojas) y se colocaron en tubos Eppendorf de 2 mL con 5 esferas de zirconio de 2 mm, ubicándolas en el mini beat-beater durante 90 segundos a las 2/3 partes de la velocidad máxima. Se agregaron 20 μ L de BME (β -mercaptoetanol) 14 M a los 10 mL de CTAB precalentado a 65°C. Luego se adicionaron 800 μ L de la solución CTAB a cada muestra y se mezclaron en vórtex. Las muestras fueron incubadas a 65°C por 60 minutos, agitándolas cada 10 minutos por inversión y luego se dejaron a temperatura ambiente por 5 minutos. Posteriormente, se agregaron 800 μ L de cloroformo:alcohol isoamílico (24:1), mezclándolas por inversión suave por 5 minutos. Se centrifugaron a 10000 rpm por 10 minutos. Se transfirió el sobrenadante a un Eppendorf de 1,5 mL y se repitió este paso adicionando 800 μ L más de cloroformo:alcohol isoamílico (24:1). Nuevamente se mezclaron por inversión suave por 5 minutos y se centrifugaron a 10000 rpm por 10 minutos. Se transfirió el sobrenadante a un Eppendorf nuevo de 1,5 mL y se adicionaron 300 μ L de isopropanol frío (0,6 volúmenes de 500 μ L recuperados), mezclando por inversión suave por un minuto. Las muestras fueron almacenadas a -20°C toda la noche (o mínimo dos horas) para la precipitación del ADN. Se centrifugaron a 10000 rpm por 10 minutos a 4°C, y se descartó el sobrenadante. Luego se agregó 1 mL de etanol frío al 70% para descartar proteínas y polisacáridos removiendo el pellet. Se centrifugó a 10000 rpm por 10 minutos a 4°C. Se descartó el sobrenadante dejando secar el pellet a temperatura ambiente por 30 minutos. Finalmente, se agregaron 100 μ L de TE y 1 μ L de RNasa a cada muestra incubándolas a 37°C por dos horas. Las muestras fueron almacenadas en el congelador a -20°C.

2.2.4 Optimización del protocolo de amplificación de ADN

Para amplificar los fragmentos de ITS y GBSSI se utilizaron los iniciadores propuestos por Sweeney (2008), el protocolo de PCR (Polymerase Chain Reaction) utilizado en el Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional de Colombia (IBUN), el programa de

termociclador para ITS utilizado por la Universidad de Campinas (Brasil), y el programa de termociclador para GBSSI utilizado por Mason-Gamer *et al.* (1998) (Anexo B).

2.2.5 Análisis filogenético

Se realizaron cuatro análisis parciales tomando la matriz correspondiente a cada marcador, un análisis combinado con las secuencias de los dos marcadores nucleares (ITS-GBSSI), un análisis combinado con los dos genes de cloroplasto (*rbcL-matK*) y un análisis combinado con los cuatro marcadores, utilizando los métodos de Máxima Parsimonia (MP) e Inferencia Bayesiana (IB) con el fin de evaluar semejanzas y diferencias entre los árboles.

2.2.5.1 Alineamiento de las secuencias

Las secuencias de los datos de cada marcador fueron alineadas utilizando el programa ClustalW X 1.83 (Thompson *et al.*, 1997) en BioEdit v. 7.2.5 (Hall, 2013), aplicando una penalización de 100 para la apertura de gaps y de 10 para la extensión de gaps.

2.2.5.2 Análisis de sensibilidad

Wheeler (1995) propuso el análisis de sensibilidad para rastrear la influencia de la variación de los análisis en los resultados filogenéticos. Se comparon los resultados de varios análisis con diferentes parámetros o sets de datos, midiendo la congruencia entre los conjuntos de datos y la estabilidad de los clados. Una de las aproximaciones propuestas por Wheeler para representar dicha sensibilidad fueron los tapetes navajo (Navajo rugs), que son gráficos cartesianos en donde se resaltan las áreas que minimizan incongruencia en los resultados (Wheeler, 1995; Wheeler *et al.*, 2006; Pellens *et al.*, 2007; Richter *et al.*, 2007; Wheeler, 2012). Para evaluar congruencia entre los análisis, se graficaron los tapetes navajo en el árbol obtenido con mayor resolución, índice de retención y soporte entre todas las topologías.

2.2.5.3 Análisis con Parsimonia

Para cada matriz se realizó una búsqueda heurística con 200 repeticiones de Ratchet (Nixon, 1999) con el algoritmo de tree-bisection-reconnection (TBR) para el rearrreglo de ramas, implementado en PAUP 4.0b10 (Swofford, 2003). Se consideraron a todos los caracteres como no aditivos (parsimonia de Fitch) y con igual peso. Para cada análisis se tomaron los datos de número de caracteres informativos, caracteres no informativos, número de árboles más parsimoniosos (MP), longitud (L), índice de consistencia (IC) e índice de retención (IR). El IC mide el grado de homoplasia del árbol y el IR es una medida de sinapomorfia. Si el IR es alto, los cambios de estado ocurren en cualquier parte del árbol, si es bajo, los cambios están concentrados en ramas de taxones terminales (Farris, 1989). Los valores de Bootstrap se calcularon con una búsqueda heurística de 1000 réplicas.

2.2.5.4 Análisis con Inferencia Bayesiana

Para seleccionar el modelo de sustitución que mejor se ajusta a cada set de datos, se utilizó el programa jModelTest (Darriba *et al.*, 2012) utilizando el Criterio de selección de Akaike (AIC), debido a que este criterio tiende a favorecer los modelos más complejos. Posada *et al.* (2001) sugiere a las aproximaciones AIC y LRT (prueba de proporción de verosimilitud) como criterios de selección de un modelo de sustitución, ya que varios estudios han demostrado que estos métodos tienen un buen desempeño y no son afectados por la topología inicial usada para estimar la verosimilitud de los modelos. Además, el AIC puede ser de mayor confianza porque premia modelos por un mejor ajuste y penaliza por parámetros innecesarios (Posada *et al.*, 2001).

Los análisis se ejecutaron en MrBayes v.3.1.2 (Huelsenbeck *et al.*, 2001; Ronquist *et al.*, 2003) en la plataforma CIPRES Science Gateway Web server (MrBayes XSEDE 3.1.2) (Miller *et al.*, 2010). Los análisis combinados se corrieron teniendo en cuenta el modelo y los parámetros (*a priori*) de las particiones o genes, obtenidos con jModelTest (Darriba *et al.*, 2012). Ya que MrBayes utiliza el método de Cadenas de Markov Monte Carlo (MCMC) para estimar la distribución posterior de los parámetros del modelo, se corrieron los análisis

utilizando el número de generaciones de búsqueda MCMC en el que los datos convergían en una distribución normal (convergencia) (Anexo C). Finalmente, se obtuvieron los valores de probabilidad posterior (PP) de los nodos para cada topología.

2.3 Resultados

En los siete análisis con MP se encontró más de una solución, por lo cual se obtuvo el árbol de consenso estricto en cada caso, debido a que constituye la hipótesis más conservativa. Los resultados de los análisis parciales y los análisis combinados se muestran en la Tabla 3. De los siete análisis, los sets de datos con mayor número de caracteres parsimoniosamente informativos fueron los de ITS (42,8%) y *matK* (56,1%). En menor medida, GBSSI con 23,6%, y finalmente el gen con menor porcentaje de sitios informativos fue *rbcL* (3,4%). Por lo tanto, de la combinación de genes nucleares (33,7%) y de genes de cloroplasto (23,6%), los marcadores principalmente responsables de dichas agrupaciones son ITS y *matK*, respectivamente. Por esta razón, se realizó un análisis adicional combinando las secuencias de ITS y *matK* (Tabla 3).

Tabla 3. Resultados de los análisis parciales y combinados con máxima parsimonia. N° = número, % = porcentaje, MP = más parsimoniosos, info. = informativos, IC = índice de consistencia, IR = índice de retención.

| Marcador(es) | Longitud de la secuencia | N° caracteres info. | % info. de la secuencia | N° árboles MP | Longitud | IC | IR |
|--|--------------------------|---------------------|-------------------------|---------------|----------|------|------|
| GBSSI | 649 | 153 | 23,6 | 71 | 466 | 0,77 | 0,78 |
| ITS | 727 | 311 | 42,8 | 19 | 1229 | 0,53 | 0,83 |
| <i>rbcL</i> | 1336 | 46 | 3,4 | 93 | 156 | 0,67 | 0,69 |
| <i>matK</i> | 825 | 463 | 56,1 | 2 | 621 | 0,94 | 0,95 |
| ITS + GBSSI | 1376 | 464 | 33,7 | 70 | 1741 | 0,56 | 0,80 |
| <i>rbcL</i> + <i>matK</i> | 2161 | 509 | 23,6 | 47 | 797 | 0,70 | 0,71 |
| ITS+GBSSI+<i>rbcL</i>+<i>matK</i> | 3537 | 973 | 27,5 | 71 | 2582 | 0,67 | 0,86 |
| ITS + <i>matK</i> | 1552 | 774 | 49,9 | 86 | 1888 | 0,65 | 0,82 |

Los modelos de sustitución seleccionados con el AIC para los análisis con IB de cada set de datos se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4. Modelos de sustitución y parámetros obtenidos con jModeltest para cada set de datos. $-\ln L$ = ln de la verosimilitud, K = número de parámetros o ramas de la topología, p-I = proporción de sitios invariantes, y gamma = distribución de sitios muy variantes (equivalente al parámetro α).

| Marcador | Modelo | $-\ln L$ | K | p-I | gamma |
|-------------|------------|-----------|-----|--------|--------|
| ITS | TIM2ef+I+G | 7506,3972 | 133 | 0,2620 | 1,3420 |
| GBSSI | HKY+G | 3651,9226 | 83 | - | 1,5330 |
| <i>rbcL</i> | TVM+I+G | 2785,5063 | 97 | 0,6560 | 0,8240 |
| <i>matK</i> | GTR+G | 3030,8118 | 83 | - | 1,3910 |

2.3.1 Reconstrucciones filogenéticas

2.3.1.1 ITS

La matriz de datos contó con 65 secuencias y una longitud de alineamiento de 727 pb. En el árbol de consenso estricto obtenido con MP (Fig. 24) se diferencian claramente dos linajes, el primero (A) compuesto por tres clados: *Rheedia* (incluyendo a *G. livingstonei* de la sección *Teracentrum*), *Rheediopsis* y *Xanthocymus*, y un representante de la sección *Tetraphalangium* (*G. conrauana*). Estas especies están distribuidas principalmente en África y el Neotrópico, aunque también hay algunas presentes en Madagascar y otras pocas en Asia (*G. subelliptica*, *G. spicata*). El segundo linaje (B) está compuesto por cinco grupos: *Garcinia*, *Hebradendrum*, *Tagmanthera*, *Brindonia*, y un quinto clado con representantes de varias secciones. Estas especies se encuentran principalmente en Asia, aunque también hay algunas presentes en África.

En la topología obtenida con IB se encontraron exactamente los mismos clados de los dos linajes con alto soporte (PP=1) (Fig. 25), sin embargo, a diferencia del árbol obtenido con MP, en este análisis se encontró mayor resolución dentro del grupo de especies Neotropicales, y sugiere que *G. intermedia* es hermana de *G. madruno* y *G. macrophylla*. Además, no se encontró resolución entre las especies más distantes (*G. eugeniifolia* y *G. rostrata*).

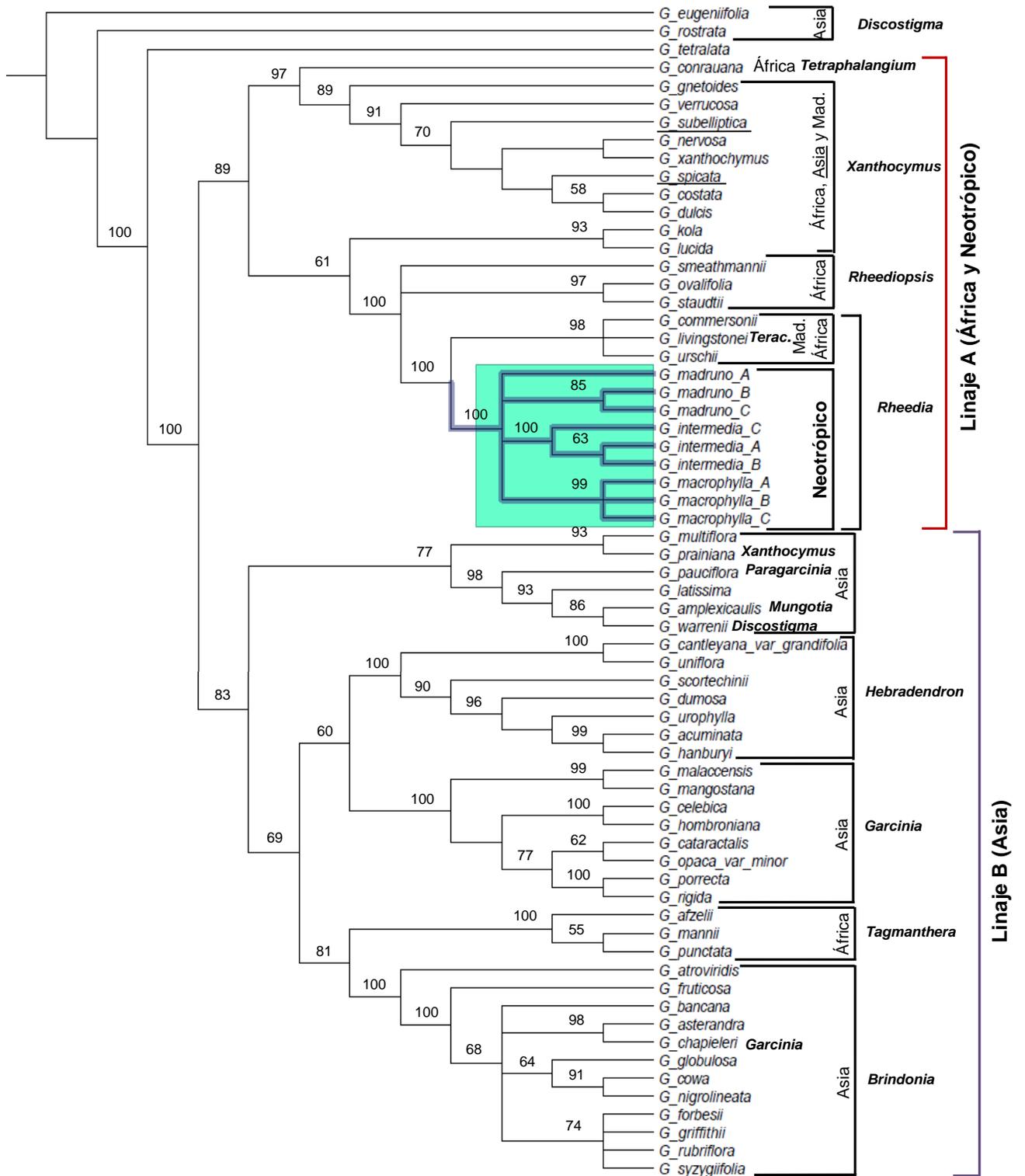


Figura 24. Consenso estricto de 19 árboles igualmente parsimoniosos de 1229 pasos, obtenidos del análisis con secuencias de ITS. Los números en los nodos corresponden a los valores de soporte de Bootstrap. Los nodos que carecen de número son los grupos cuyo Bootstrap fue menor a 50. El recuadro azul indica monofilia de las especies Neotropicales.

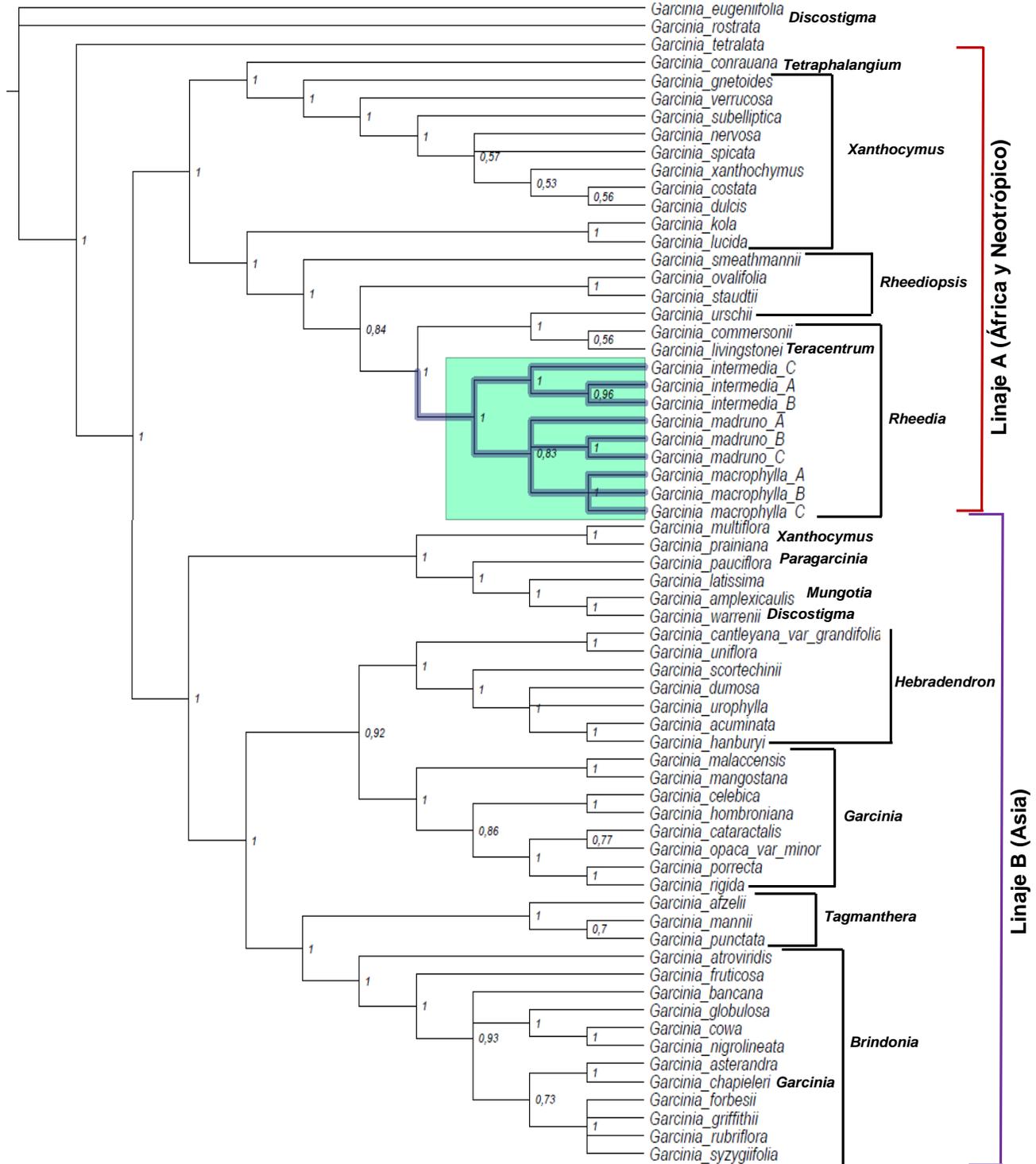


Figura 25. Topología de ITS obtenida con inferencia Bayesiana. Los números en los nodos corresponden a las probabilidades posteriores (PP). El recuadro azul indica monofilia de las especies Neotropicales.

2.3.1.2 GBSSI

La matriz de datos contó con 40 secuencias y una longitud de alineamiento de 649 pb. En el árbol de consenso estricto obtenido con MP (Fig. 26) no se diferencian los linajes A y B ya que el primer gran linaje forma una politomía con la sección *Tagmanthera* del linaje B. Las secciones *Hebradendron*, *Brindonia* y *Garcinia* tampoco forman un clado, además, el clado formado por *G. prainiana*, *G. amplexicaulis* y *G. warreni* es hermano al resto del género (con alto soporte: PP=1).

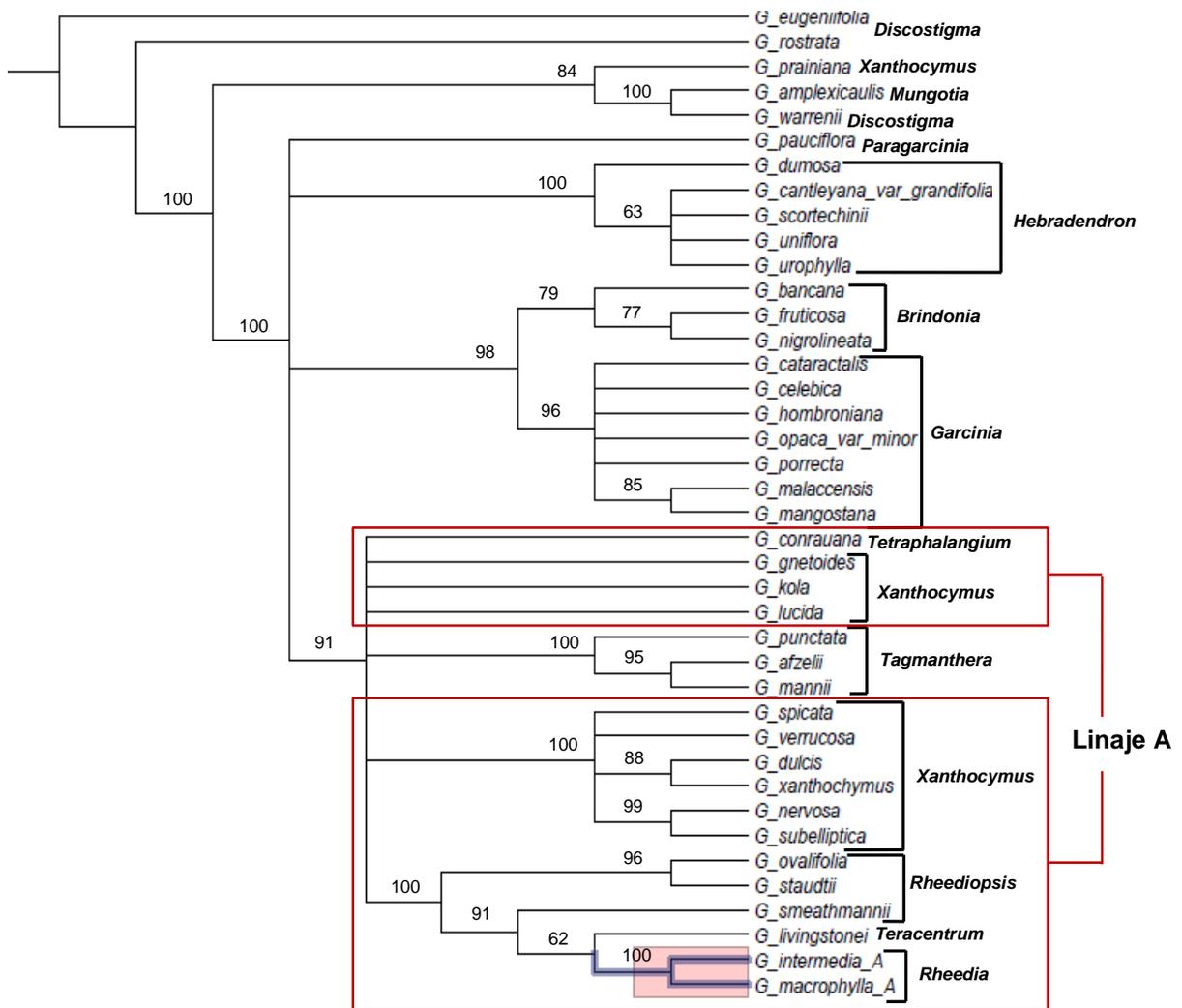


Figura 26. Consenso estricto de 71 árboles igualmente parsimoniosos de 466 pasos, obtenidos del análisis con secuencias de GBSSI. Los números en los nodos corresponden a los valores de soporte de Bootstrap. Los nodos que carecen de número son los grupos cuyo Bootstrap fue menor a 50. Los rectángulos rojos indican las especies que hacen parte del linaje A pero que no fueron recuperadas como un clado en el análisis.

A pesar de que *G. intermedia* y *G. macrophylla* resultaron hermanas (Bootstrap=100), el muestreo de especies neotropicales para este análisis fue muy reducido, y por lo tanto es difícil concluir si forman un clado a partir de este análisis. En el árbol de GBSSI obtenido con IB (Fig. 27) se encontró mayor resolución dentro de la sección *Garcinia*, en comparación con el consenso estricto obtenido con MP. Sin embargo, la sección *Tagmanthera* volvió a estar incluida dentro del linaje A. El clado formado por *Garcinia prainiana*, *G. amplexicaulis* y *G. warrenii*, y las secciones *Garcinia*, *Brindonia* y *Hebradendron*, tampoco fueron agrupadas en un solo clado, por lo tanto, ninguno de los clados A y B se recuperó como en los análisis con ITS.

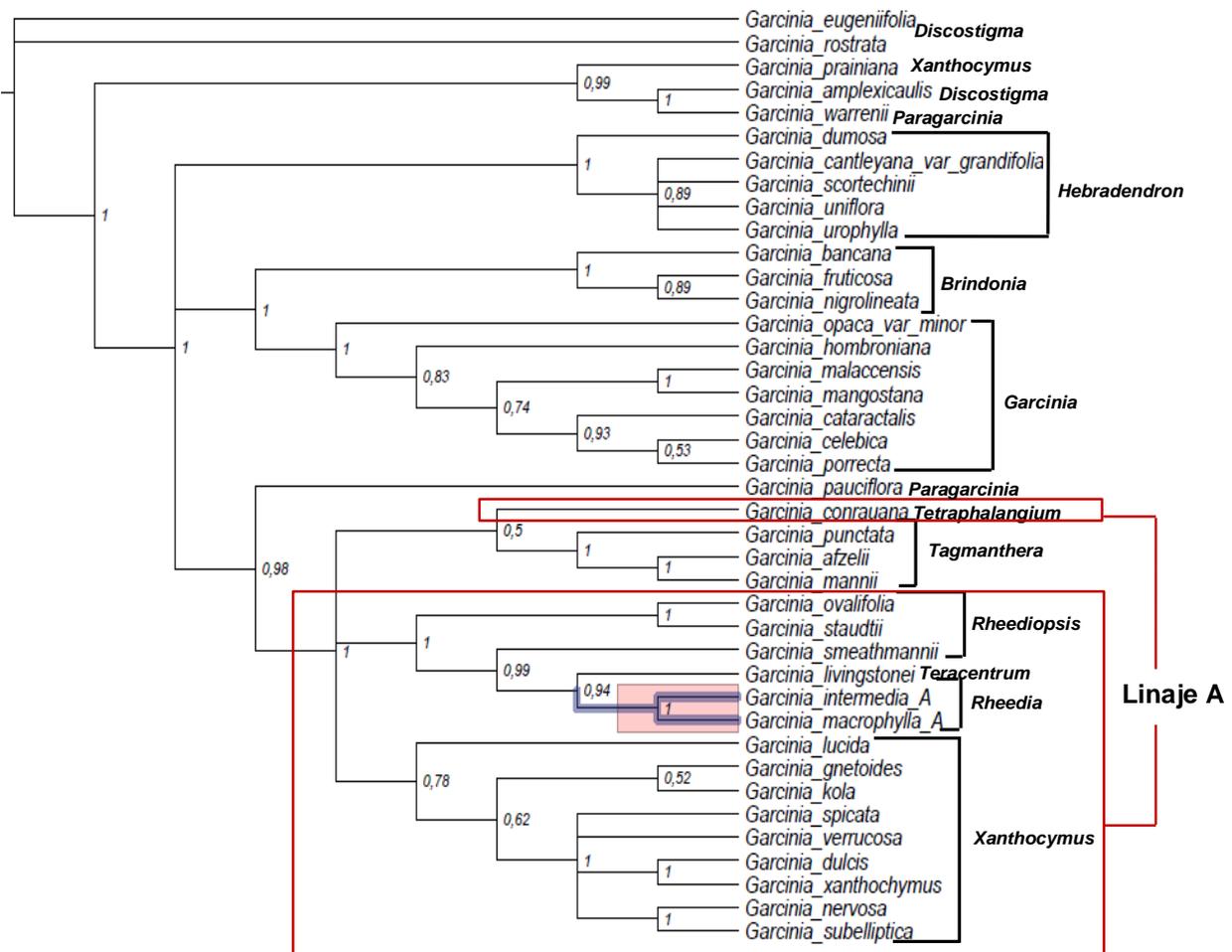


Figura 27. Topología de GBSSI obtenida con inferencia Bayesiana. Los números en los nodos corresponden a las PPs. Los rectángulos rojos indican las especies que hacen parte del linaje A pero que no fueron recuperadas como un clado en el análisis.

2.3.1.3 ITS y GBSSI

La matriz de datos contó con 65 secuencias y una longitud de alineamiento de 1376 pb. En el árbol de consenso estricto obtenido con MP (Fig. 28) se diferencia el linaje A con alto soporte (Bootstrap = 99). Al igual que en las topologías obtenidas con ITS, *Rheedia* es el grupo hermano de *Rheediopsis*. Sin embargo, *Xanthocymus* resulta parafilético ya que el clado formado por *G. kola* y *G. lucida* se encuentra más cercano a *Rheediopsis*, aunque con bajo soporte (Bootstrap=55). A pesar de que *Brindonia*, *Garcinia* y *Hebradendron* forman un grupo, *Tagmanthera* y el clado formado por *G. multiflora*, *G. prainiana*, *G. pauciflora*, *G. latissima*, *G. amplexicaulis* y *G. warreni*, se encuentran fuera de la agrupación del linaje B.

En el análisis bayesiano (Fig. 29) se recuperaron los mismos clados del análisis con MP. Sin embargo, faltó resolución entre *G. dumosa* y *G. urophylla*. Al igual que en la topología obtenida en IB con ITS, en este análisis *Garcinia intermedia* también es hermana del grupo formado por *G. madruno* y *G. macrophylla*, con probabilidad posterior igual a 1.

2.3.1.4 *rbcL*

La matriz de datos contó con 47 secuencias y una longitud de alineamiento de 1336 pb. Esta fue la matriz con mayor complemento de especies Neotropicales de *Garcinia*. En el árbol de consenso estricto obtenido con MP (Fig. 30) no se recuperó ninguno de los dos grandes linajes descritos arriba. Solo 18 especies formaron pequeños clados recuperando algunos de los representantes de secciones como *Xanthocymus* y *Garcinia*. En este análisis se encontró un nuevo grupo formado por *G. tsaratananae* y *G. melleri* (sección *Paragarcinia*) debido a que estas especies no fueron incluidas por falta de datos en los anteriores análisis.

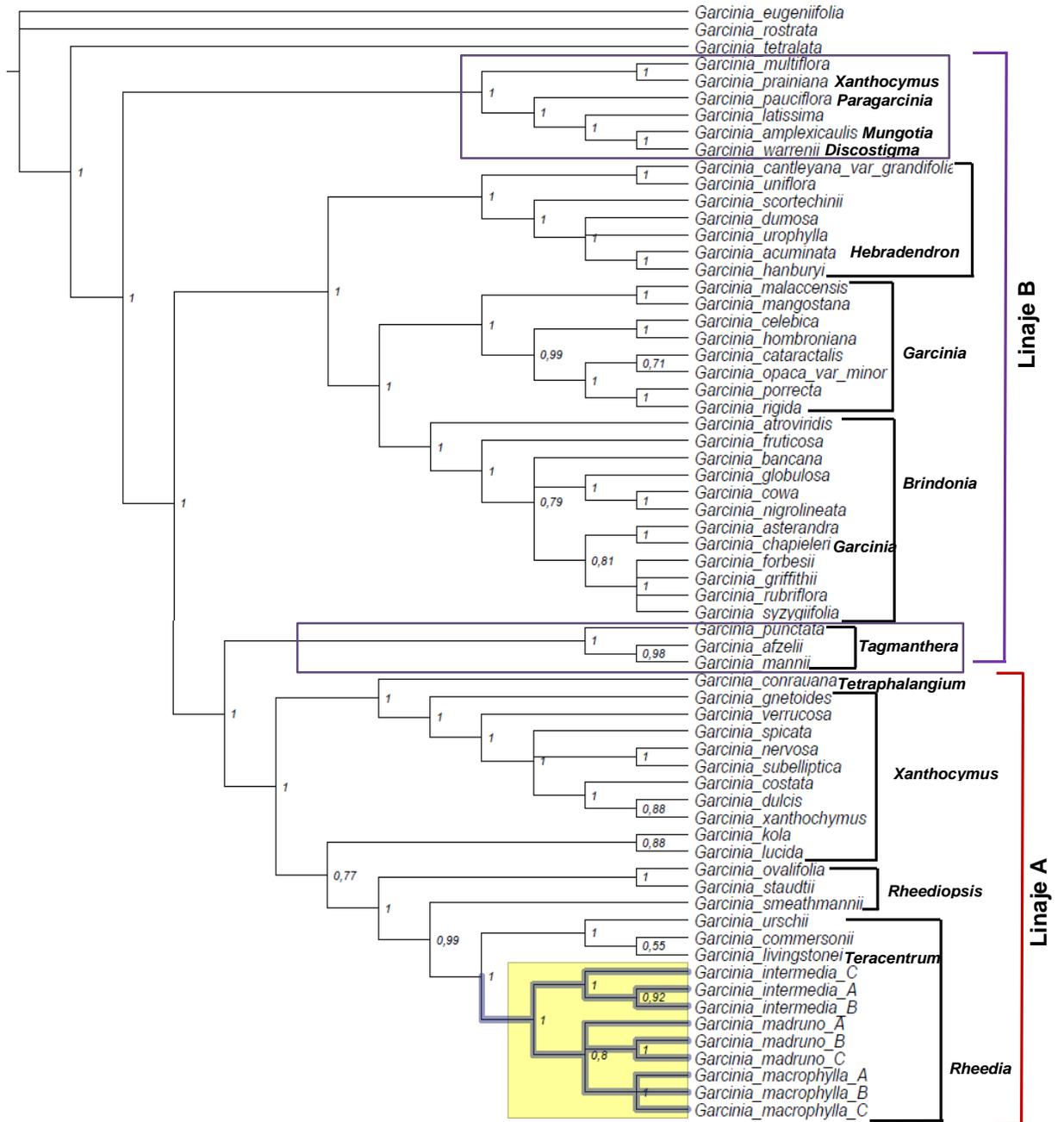


Figura 29. Topología de ITS y GBSSI obtenida con inferencia Bayesiana. Los números en los nodos corresponden a las PPs. El clado amarillo indica monofilia en las especies Neotropicales.

Entre las especies Neotropicales se incluye a *Garcinia portoricensis* que se encuentra formando una politomía junto con las demás especies neotropicales, y con *G. livingstonei*, que es una especie de África y Madagascar. Sin embargo, esta agrupación tiene muy bajo soporte (Fig. 30).

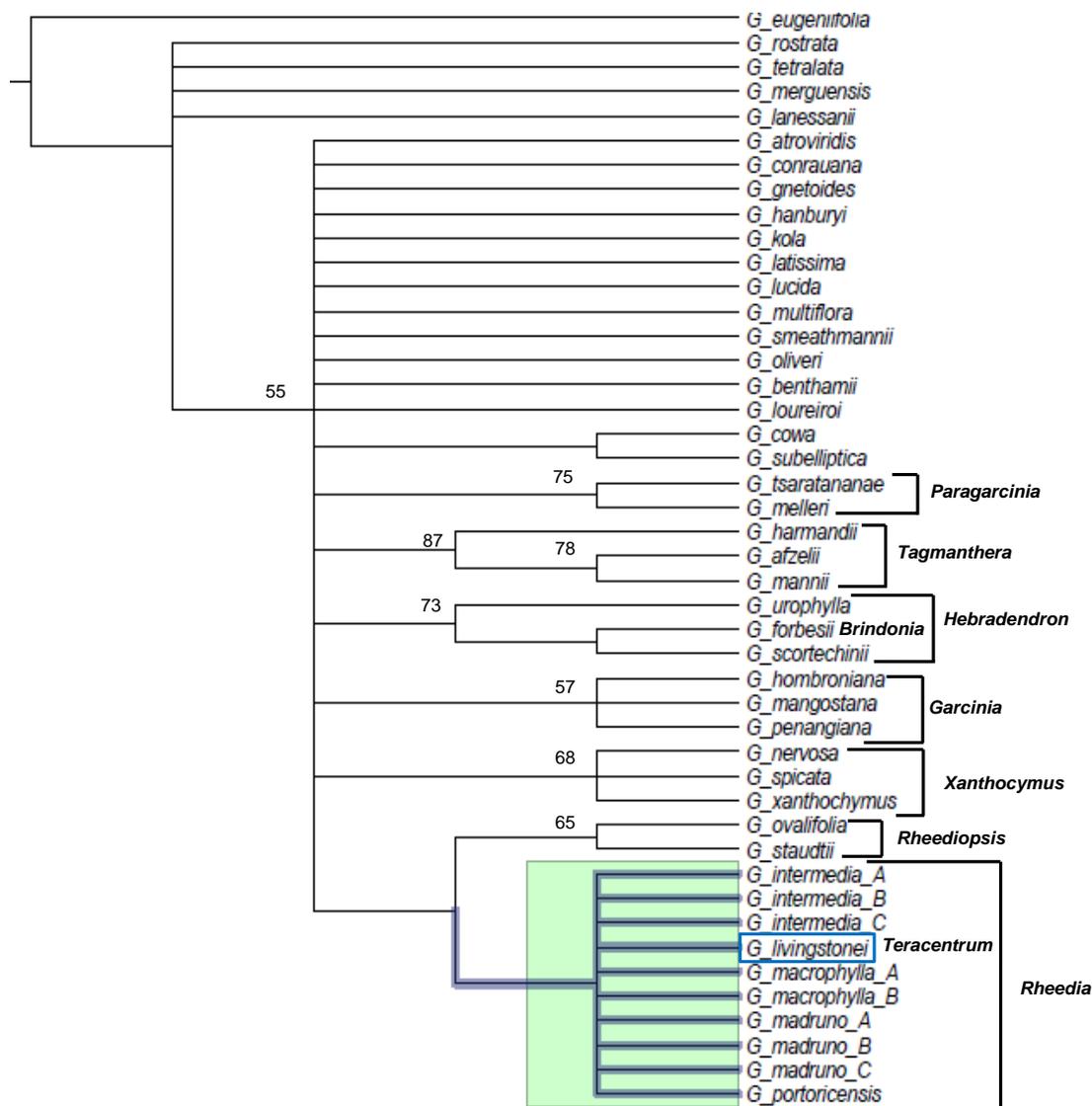


Figura 30. Consenso estricto de 93 árboles igualmente parsimoniosos de 156 pasos, obtenidos del análisis con secuencias de *rbcL*. Los números en los nodos corresponden a los valores de soporte de Bootstrap. Los nodos que carecen de número son los grupos cuyo Bootstrap fue menor a 50.

Aunque en la topología de *rbcL* obtenida con IB se obtuvo mayor resolución (Fig. 31), en este árbol se recuperaron los mismos pequeños clados obtenidos en el consenso estricto con MP: *Paragarcinia*, *Tagmanthera*, *Hebradendron* (incluyendo a *G. forbesii*), *Xanthocymus*, *Rheediopsis*. En este análisis el clado *Rheedia* + *G. livingstonei* fue recuperado con una PP=0,98. La mayoría de los demás grupos que también se recuperaron en este análisis formaron politomías con bajo soporte.

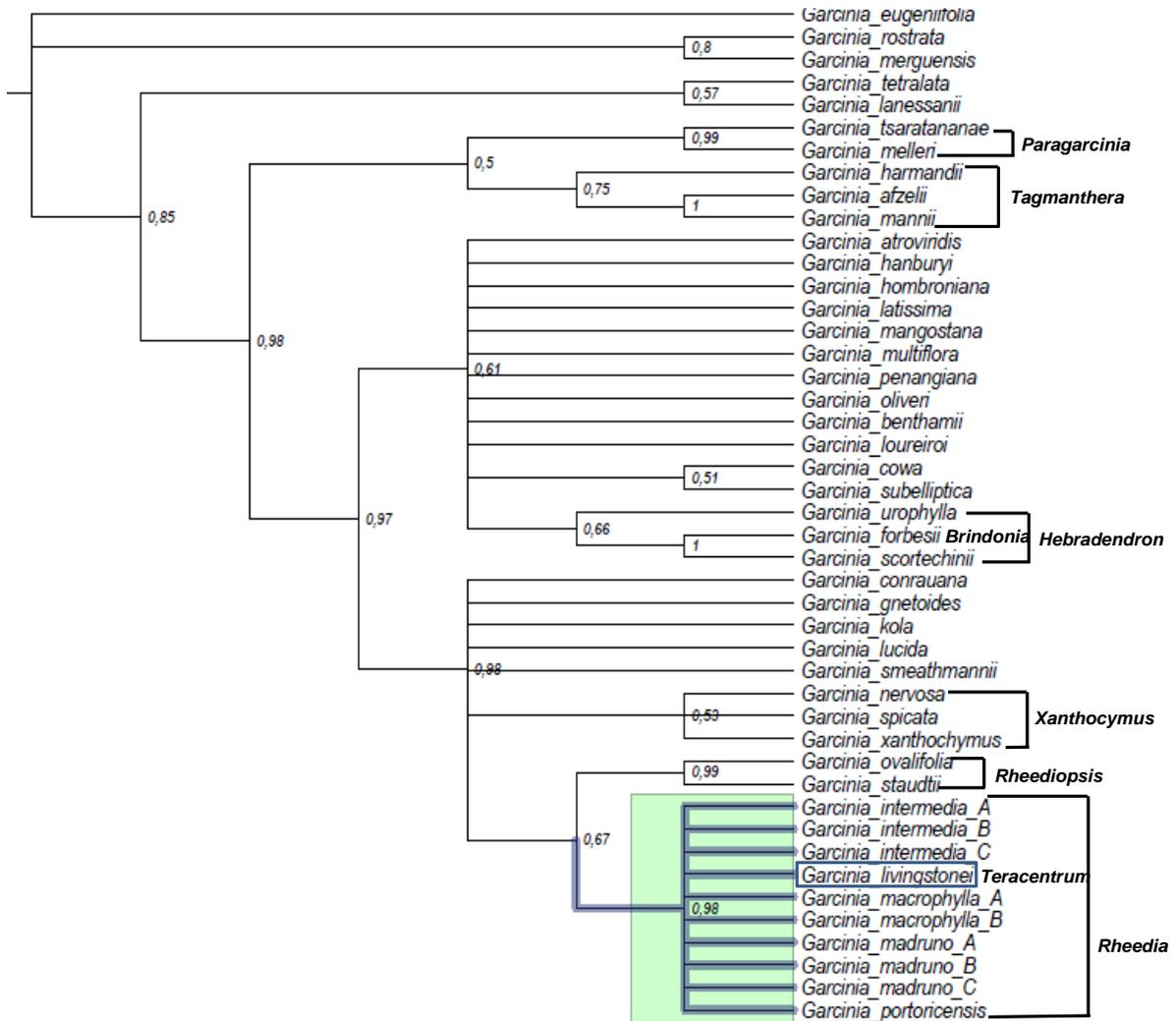


Figura 31. Topología de *rbcL* obtenida con inferencia Bayesiana. Los números en los nodos corresponden a las PPs.

2.3.1.5 *matK*

La matriz de datos contó con 38 secuencias y una longitud de alineamiento de 825 pb. En el árbol de consenso estricto obtenido con MP (Fig. 32) también se recuperó el clado de *Paragarcinia* (*G. tsaratananae* y *G. melleri*), presente en el análisis con *rbcL*. Además se encontraron pequeños clados con representantes de *Tagmanthera*, *Garcinia* y *Hebradendron*, y se recuperó el clado de *Rheedia* que en este caso sólo incluyó a tres especies neotropicales. En este análisis se adicionó a *Garcinia hessii* como otra especie neotropical. En los anteriores análisis no se incluyó por carecer de las secuencias de los otros marcadores. Sin embargo, el clado formado por *G. hessii*, *G. intermedia* y *G. madruno*, se recuperó con alto soporte (Bootstrap=100).

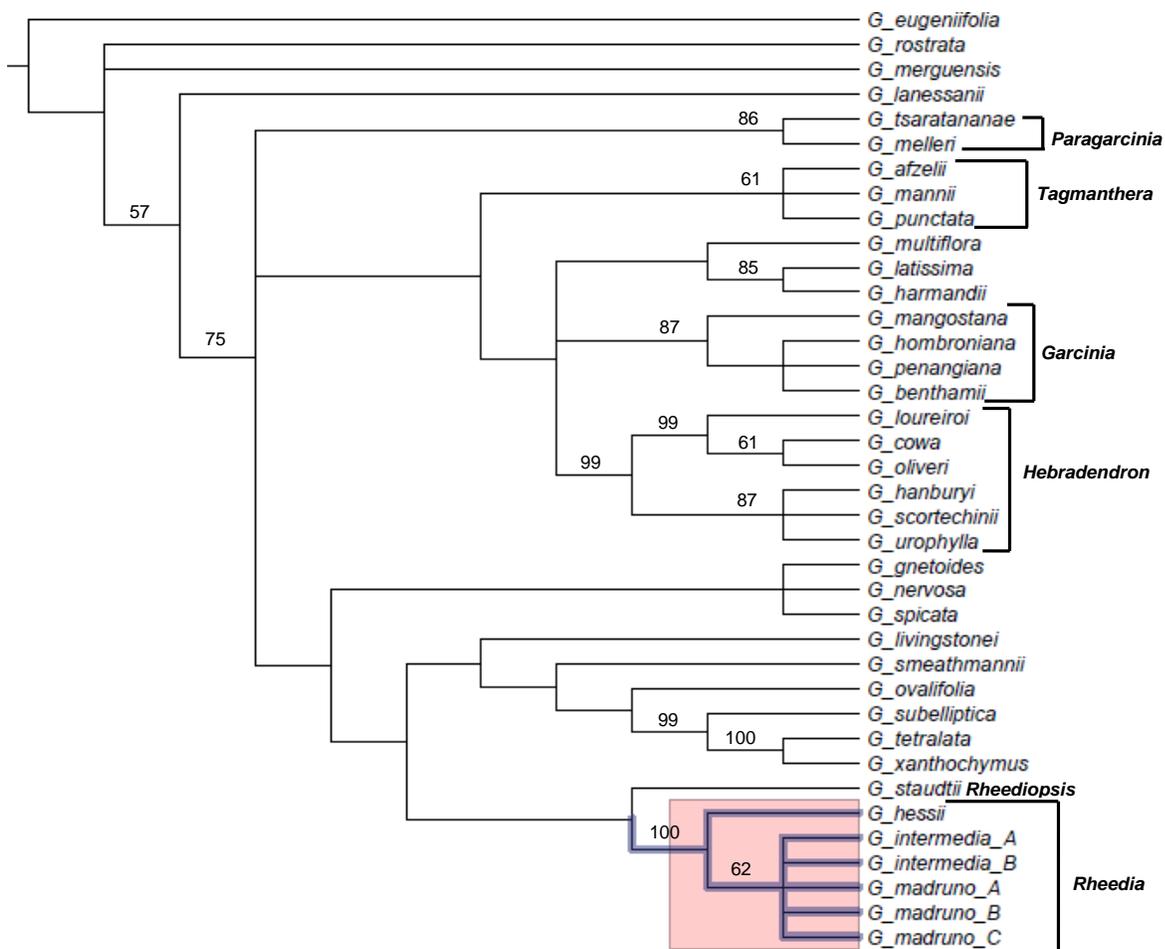


Figura 32. Consenso de 2 árboles igualmente parsimoniosos de 621 pasos, obtenidos del análisis con secuencias de *matK*. Los números en los nodos corresponden a los valores de soporte de Bootstrap. Los nodos que carecen de número son los grupos cuyo Bootstrap fue menor a 50.

Al igual que en los análisis que incluyen a ITS, este clado resultó hermano de *Rheediopsis* (*G. staudtii*), sin embargo, *G. livingstonei* no fue recuperado dentro del clado formado por *Rheedia* y *Rheediopsis*. A diferencia de los análisis con ITS en donde *G. tetralata* aparece en las ramas más basales, en este análisis *G. tetralata* resultó fuertemente emparentada con *G. xanthocymus* (Bootstrap=100) (Fig. 32).

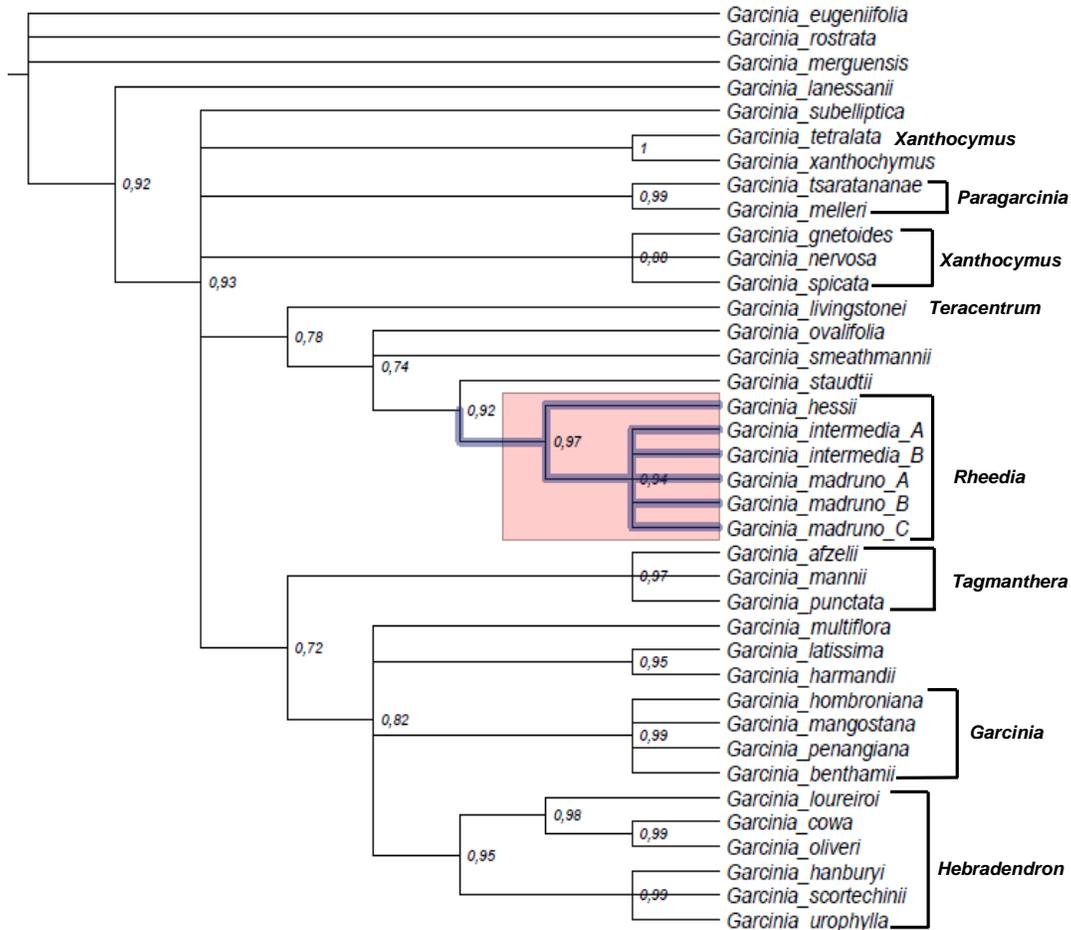


Figura 33. Topología de *matK* obtenida con inferencia Bayesiana. Los números en los nodos corresponden a las PPs. El recuadro fucsia indica monofilia en las especies Neotropicales.

En la topología de *matK* obtenida con IB (Fig. 33) se recuperaron los mismos clados pequeños encontrados en el consenso estricto obtenido con MP: *Paragarcinia*, *Xanthocymus*, *Rheedia*, *Tagmanthera*, *Garcinia* y *Hebradendron*. Al igual que en la figura 34, *G. intermedia*, *G. madruno* y *G. hessi* forman un grupo natural (PP=0,97). Esta topología también sugiere que *G. intermedia* y *G. madruno* son hermanas de *G. hessi* (PP=0,94).

2.3.1.6 *rbcL* y *matK*

La matriz de datos contó con 47 secuencias y una longitud de alineamiento de 2161 pb. En el árbol de consenso estricto obtenido con MP (Fig. 34) también se recuperaron los clados de *Paragarcinia*, *Tagmanthera*, *Rheediopsis*, *Garcinia* y *Hebradendron*. En este análisis las especies Neotropicales formaron un grupo parafilético con muy bajo soporte (Bootstrap<50), sin embargo, todas se encontraron dentro de la sección *Rheedia* (incluyendo a *Teracentrum*).

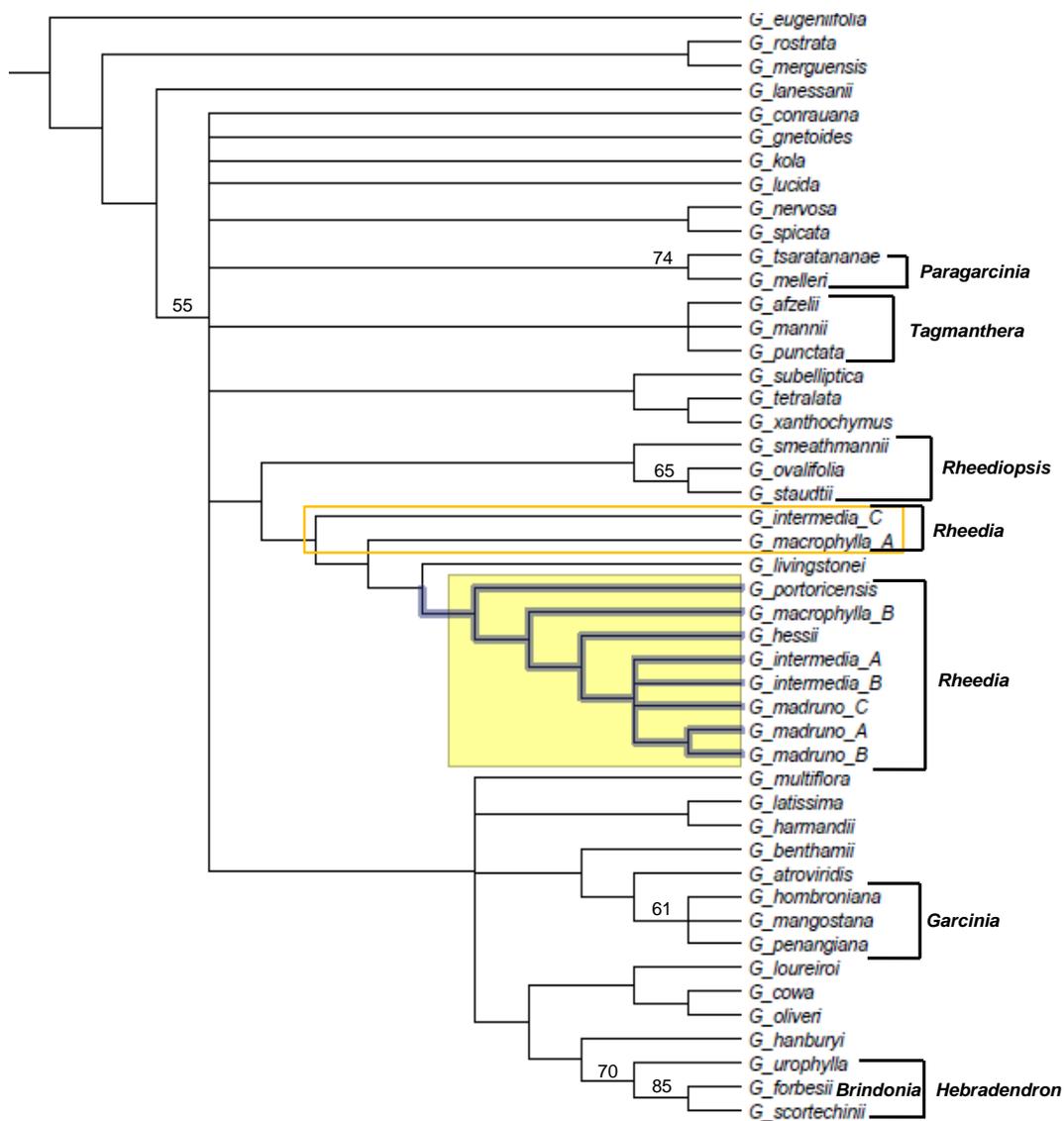


Figura 34. Consenso estricto de 47 árboles igualmente parsimoniosos de 797 pasos, obtenidos del análisis combinado con secuencias de *rbcL* y *matK*. Los números en los nodos corresponden a los valores de soporte de Bootstrap. Los nodos que carecen de número son los grupos cuyo Bootstrap fue menor a 50.

El análisis combinado de *rbcL* y *matK* con IB arrojó una topología más resuelta, sobre todo en los nodos más basales (Fig. 35). Con este método, las especies neotropicales formaron un clado, aunque con bajo soporte y varias politomías dentro del grupo. Por otro lado, el clado del Neotrópico resultó hermano de *G. livingstonei* (sección *Rheedia*), formando a su vez, el grupo hermano de *Rheediopsis*, que a su vez, es el grupo hermano de *Xanthocymus*. En este análisis se logró recuperar el super clado del linaje A con alto soporte (PP=0,98).

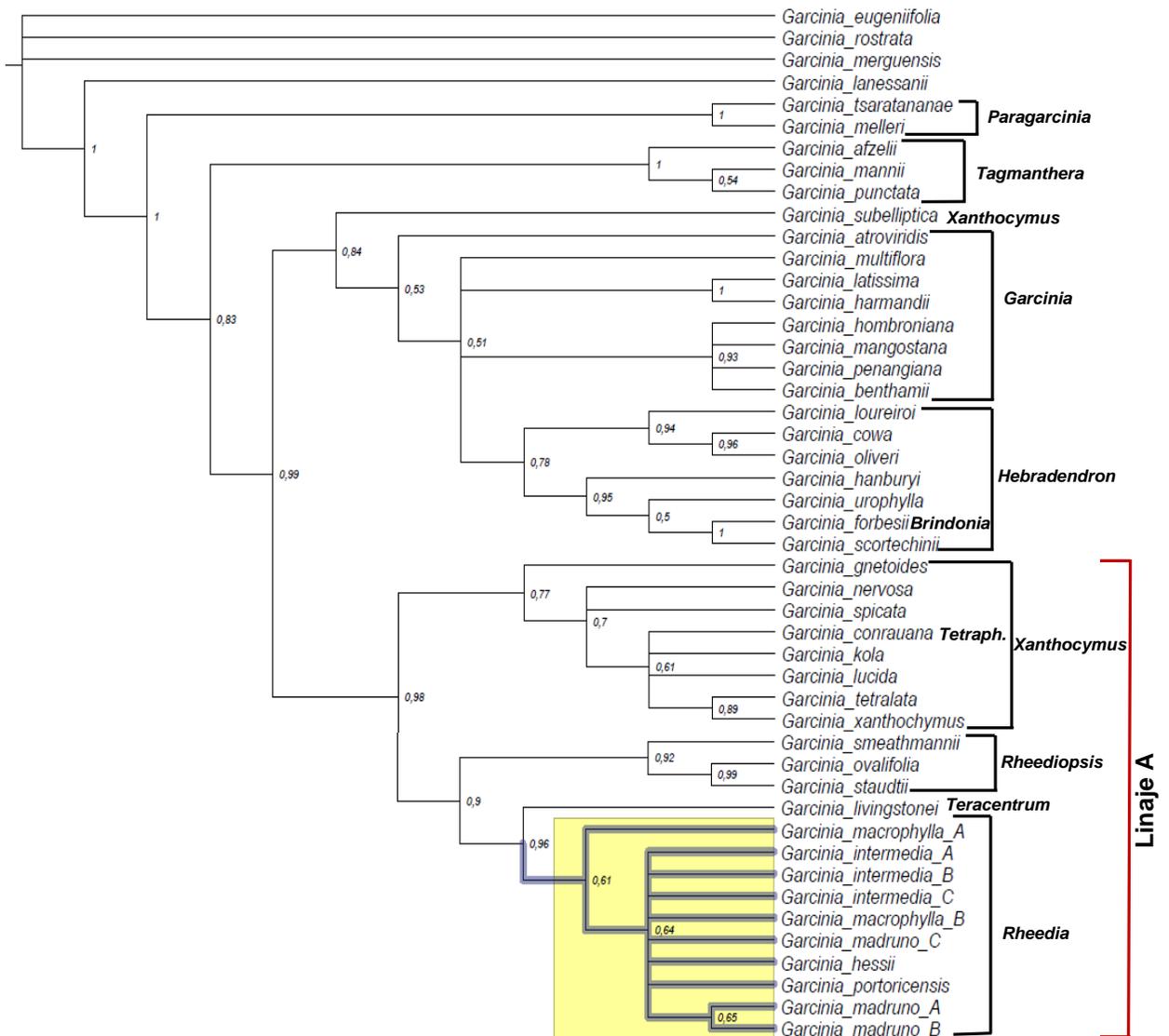


Figura 35. Topología del análisis combinado de *rbcL* y *matK* obtenida con inferencia Bayesiana. Los números en los nodos corresponden a las PPs. El recuadro amarillo indica monofilia de las especies Neotropicales.

2.3.1.7 ITS, GBSSI, *rbcL* y *matK*

La matriz contó con 76 secuencias y una longitud de alineamiento de 3537 pb. El árbol de consenso estricto obtenido con MP recuperó los clados de *Garcinia*, *Brindonia*, *Hebradendron* y *Tagmanthera* con alto soporte (Bootstrap=96, 98, 99, 100) (Fig. 36). Sin embargo, el clado formado por *G. multiflora*, *G. prainiana*, *G. pauciflora*, *G. harmandi*, *G. latissima*, *G. amplexicaulis* y *G. warreni*, se recuperó con bajo soporte. Debido a que estos grupos formaron una politomía, no se recuperó el super clado del linaje B.

En este análisis las especies neotropicales formaron un grupo parafilético, dejando a *G. portoricensis* más cerca de las especies africanas de *Rheedia*. Es probable que por esta razón, el grupo formado por *G. hessii*, *G. intermedia*, *G. madruno* y *G. macrophylla* se recuperó con muy bajo soporte (Bootstrap<50). Al igual que en los análisis con ITS, *Rheedia* resultó ser el grupo hermano de *Rheediopsis* (Bootstrap=98), grupo que a su vez es hermano de *Xanthochymus* y *Tetraphalangium* (Bootstrap=91), recuperando así al super clado del linaje A con alto soporte (Bootstrap=93). A pesar de que *Garcinia kola* y *G. lucida* pertenecen a la sección *Xanthocymus*, fueron incluidas dentro del grupo formado por *Rheedia* y *Rheediopsis* con bajo soporte.

En contraste, en la topología obtenida con IB, las especies Neotropicales si formaron un grupo soportado con una PP de 0,97 (Fig. 37). Al igual que en los análisis de *matK* con MP e IB, en este análisis se sugiere a *G. hessii* como hermana de las demás especies del Neotrópico. Al igual que en el análisis combinado de los cuatro genes con MP, el árbol con IB recuperó al super clado del linaje A con evidencia (PP=1). Los clados de *Brindonia*, *Hebradendron* y *Garcinia* también fueron agrupados, sin embargo, *Tagmanthera* y el clado formado por representantes de *Xanthocymus*, *Mungotia*, *Discostigma* y *Paragarcinia*, no se agruparon con los demás clados del linaje B, restringiendo la agrupación de este super clado.

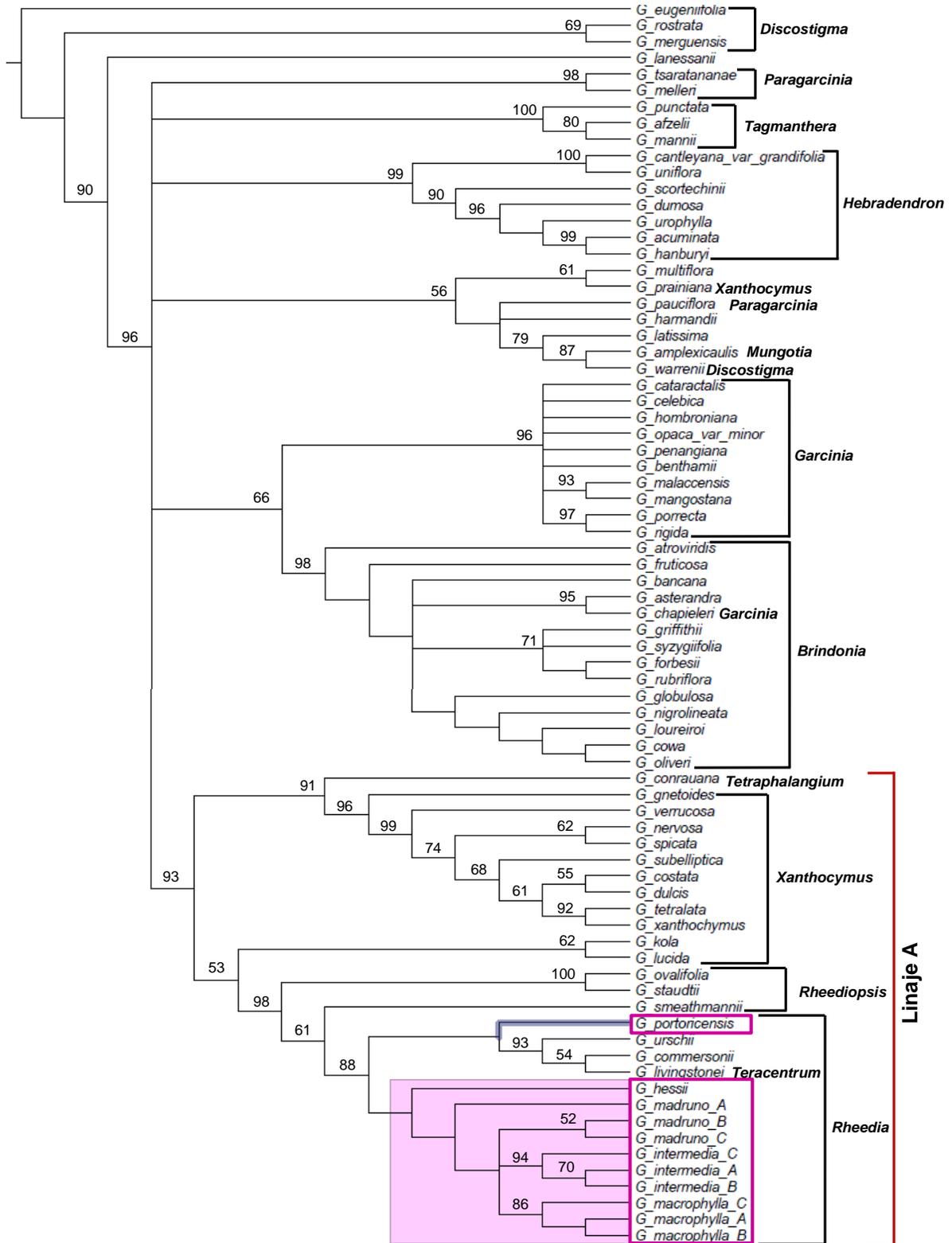


Figura 36. Consenso estricto de 71 árboles igualmente parsimoniosos de 2582 pasos, obtenidos del análisis combinado con secuencias de ITS, GBSSI, *rbcL* y *matK*. Los números en los nodos corresponden a los valores de Bootstrap. Los rectángulos rosados señalan a las especies Neotropicales.

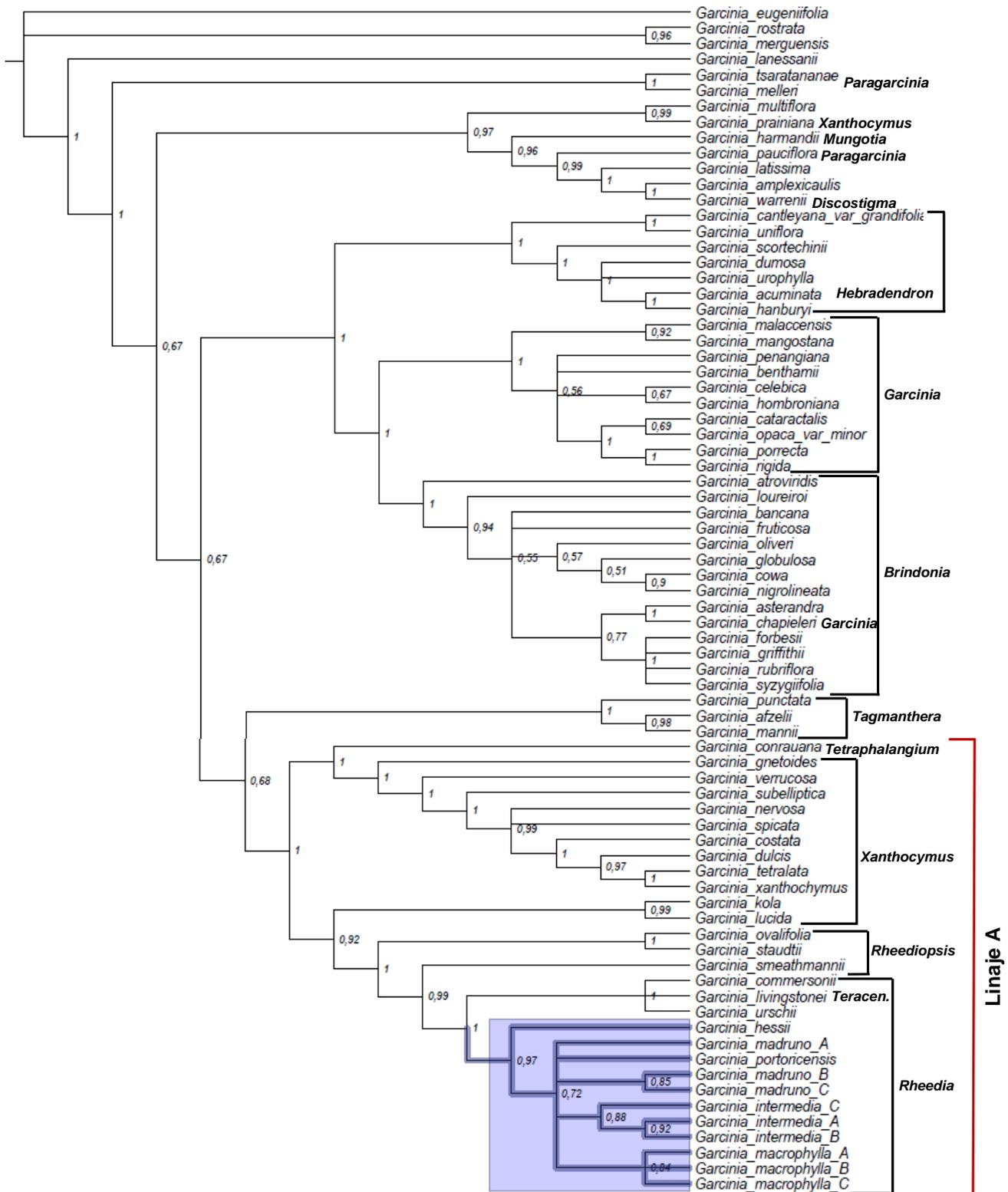


Figura 37. Topología del análisis combinado de ITS, GBSSI, *rbcl* y *matK* obtenida con inferencia Bayesiana. Los números en los nodos corresponden a las PPs.

2.3.1.8 ITS y *matK*

De los cuatro análisis parciales con MP, las topologías con mayor índice de retención fueron las de ITS y *matK* (Tabla 3). Por esta razón, se realizó un análisis combinado con estos dos genes para comparar su resolución con la de los demás análisis. La matriz contó con 75 secuencias y una longitud de alineamiento de 1552 pb. El árbol de consenso estricto obtenido con MP agrupó a los clados de *Garcinia*, *Brindonia*, *Hebradendron*, *Tagmanthera* y el conformado por las siete especies representantes de varias secciones (Fig. 38). De esta manera, se recuperó el super clado del linaje B, como en los análisis de ITS con MP e IB. Las especies Neotropicales formaron un clado con soporte alto (Bootstrap=99). Al igual que en los análisis parciales con *matK*, y los combinados con los cuatro marcadores, en este análisis se sugiere que *Garcinia madruno*, *G. intermedia* y *G. macrophylla* forman el grupo hermano de *G. hessii* (Bootstrap=84). Al igual que en la mayoría de los análisis, el grupo Neotropical resultó hermano de las especies africanas de *Rheedia* (incluyendo a *G. livingstonei*). Estos dos clados resultaron hermanos de *Rheediopsis*, clado que a su vez resultó hermano de *Xanthocymus* y *Tetrahalangium*. Por lo tanto, también se recuperó el super clado del linaje A. Por otra parte, estos dos grandes linajes formaron una politomía con *G. tsaratananae* y *G. melleri* (*Paragarcinia*).

En la topología también se recuperaron los clados de los linajes A y B con buen soporte (PPs=0,99 y 1, respectivamente) (Fig. 39). Sin embargo, en este análisis el clado de *Paragarcinia* fue recuperado como grupo hermano de *Rheedia*, *Rheediopsis*, *Xanthocymus* y *Tetraphalangium*, con bajo soporte (PP=0,51), por lo cual, no hay evidencia suficiente para incluir a *Paragarcinia* dentro del linaje A.

Las especies Neotropicales fueron agrupadas en un clado con una PP = 1. Al igual que en los análisis de *matK* y en el de IB con los cuatro marcadores, en esta topología se sugiere que *Garcinia madruno* y *G. macrophylla* forman el grupo hermano de *G. intermedia*, y que a su vez, estas tres especies son hermanas de *G. hessii*, sin embargo, no hay suficiente soporte para estas agrupaciones.

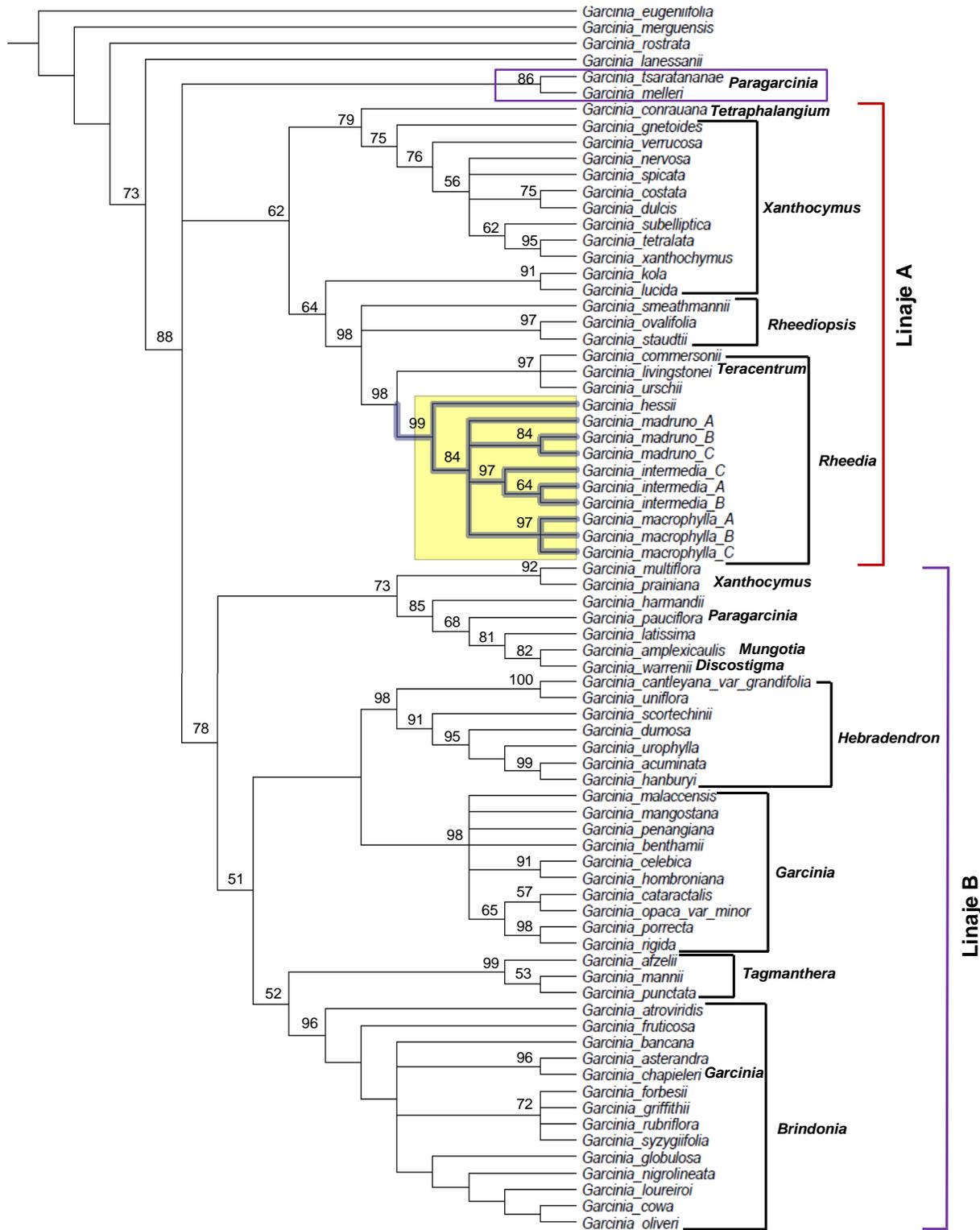


Figura 38. Consenso estricto de 86 árboles igualmente parsimoniosos de 1888 pasos, obtenidos del análisis combinado con secuencias de ITS y *matK*. Los números en los nodos corresponden a los valores de Bootstrap. Los nodos que carecen de número son los grupos cuyo Bootstrap fue menor a 50.

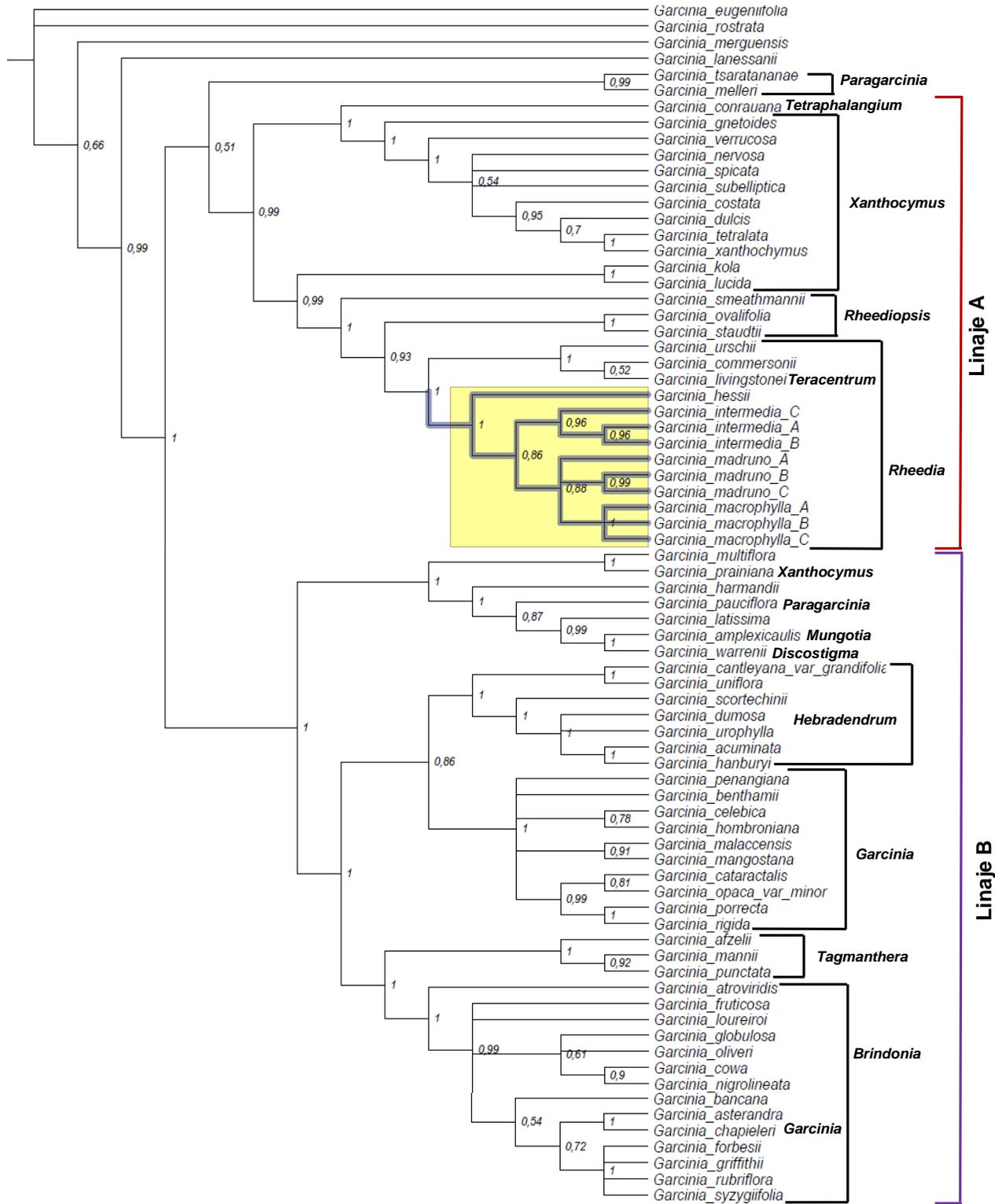


Figura 39. Topología del análisis combinado de ITS y *matK* obtenida con inferencia Bayesiana. Los números en los nodos corresponden a las PPs.

2.3.1.9 Tapete navajo (*Navajo rugs*)

El árbol con mayor muestreo taxonómico, resolución y soporte fue el del análisis combinado con secuencias de ITS, GBSSI, *rbcL* y *matK* con inferencia Bayesiana (Fig. 37). Por lo tanto, se tomó a esta topología como modelo para ilustrar los resultados de los demás análisis, y evaluar la sensibilidad y congruencia con los tapetes de Navajo (Fig. 40). Cada nodo de este árbol muestra un tapete compuesto por cuatro columnas que corresponden a los dos métodos de análisis filogenéticos utilizados, Máxima Parsimonia (columnas 1 y 2), e Inferencia Bayesiana (columnas 3 y 4). Las cuatro filas corresponden a los ocho conjuntos de datos utilizados: ITS, GBSSI, *rbcL*, *matK*, ITS y GBSSI, *rbcL* y *matK*, ITS y *matK*, y los cuatro genes. Las celdas negras indican los análisis en donde el clado se recuperó, las rojas indican los análisis en donde a pesar de haber datos ausentes no se presentaron incongruencias en el grupo, y las blancas, representan los análisis en donde el clado no fue recuperado. Además, en cada nodo se muestran los valores de probabilidad posterior (a la derecha del nodo) y de Bootstrap (a la izquierda del nodo) del análisis combinado. Los valores de Bootstrap fueron obtenidos del análisis con Parsimonia, y se superpusieron en los nodos también recuperados en esta topología.

Uno de los grupos que presentó más incongruencias fue el clado conformado por el linaje (A + B) + el clado que incluye a *Xanthocymus* y *Paragarcinia* (Fig. 40). En la filogenia propuesta por Sweeney (2008), este último clado hace parte del linaje B. Sin embargo, en esta topología es el grupo hermano de los linajes A y B, aunque el soporte que los agrupa es bajo y por lo tanto no hay evidencia suficiente para sugerir que dicho clado es el grupo hermano de A + B.

Tagmanthera también resultó fuera del linaje B como grupo hermano del linaje A, pero con bajo soporte. Aunque las especies de *Tagmanthera* son nativas de África, no se encontró evidencia suficiente para agrupar a *G. punctata*, *G. afzelii* y *G. mannii* dentro del linaje A. Dentro del linaje B, el clado de *Brindonia*, *Garcinia* y *Hebradendron* resultó congruente ya que está apoyado por 10 de 16 análisis. El linaje A está presente en 4 de 16 análisis y apoyado por 10 análisis más, por lo tanto tiene mayor soporte.

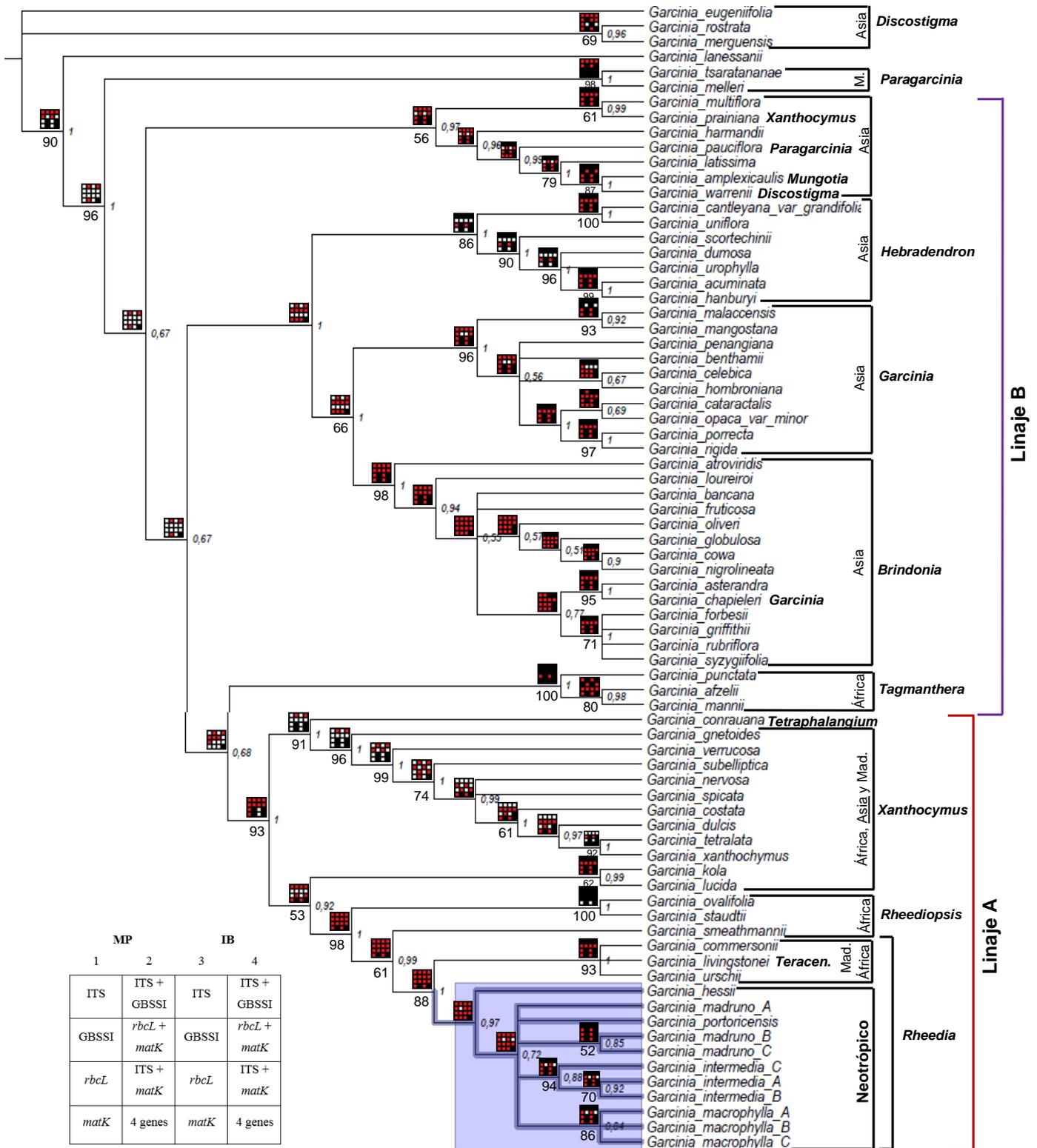


Figura 40. Tapetes navajo de la topología obtenida con el análisis bayesiano, combinando secuencias de ITS, GBSSI, *rbcL* y *matK*. Las celdas negras indican los análisis en donde el clado se recuperó; las rojas, los análisis en donde a pesar de haber datos ausentes no se presentaron incongruencias en el grupo; y las blancas, los análisis en donde el clado no fue recuperado. Las columnas 1 y 2 corresponden a los análisis con parsimonia (MP), y las columnas 3 y 4 a los análisis con inferencia Bayesiana (IB). Los valores en los nodos corresponden a las PPs (a la derecha) y Bootstrap (a la izquierda). El uso de “linaje A” y “linaje B” sigue a Sweeney (2008).

El grupo de *Xanthocymus* y *Tetraphalangium* resultó parafilético en la mayoría de los análisis debido a que *G. tetralata* se ubicó fuera del linaje A, sin embargo, esta especie fue la excepción porque las demás especies siempre cayeron dentro del linaje A. Por otra parte, *G. conrauana* está resuelta como hermana de las especies de la sección *Xanthocymus* con soporte alto (PP=1).

Aunque el clado que incluye a *Rheedia* + *Rheediopsis* + (*G. kola* + *G. lucida*) está apoyado por 10/16 análisis, tiene una PP de 0,92 y bootstrap de 53. Esto puede deberse a que *G. kola* y *G. lucida* pertenecen a *Xanthocymus* aunque en esta topología no son incluidos en dicha sección. El clado formado por *Rheedia* + *Rheediopsis* además de ser recuperado en todos los análisis (16 topologías congruentes), es uno de los grupos con mejor soporte (Bootstrap=98, PP=1). Aunque el grupo de las especies Neotropicales se recuperó por completo solo en esta topología, las celdas rojas confirman congruencia en 14 análisis más (con datos ausentes), respaldando la hipótesis de monofilia del grupo (PP=0,97). Dentro de este clado, las agrupaciones de *G. macrophylla*, *G. madruno* y *G. intermedia* resultaron congruentes entre las diferentes topologías. Finalmente, del linaje B la mayor congruencia topológica se obtuvo en los clados *Hebradendron*, *Garcinia* y el grupo compuesto por *G. multiflora*, *G. prainiana*, *G. harmandii*, *G. pauciflora*, *G. latissima*, *G. amplexicaulis* y *G. warreni*.

2.4 Discusión

Mientras que la taxonomía tradicional se basa puramente en características morfológicas, el desarrollo de tecnologías y herramientas basadas en el uso de secuencias de ADN han permitido incluir a este tipo de información como un criterio taxonómico y filogenético (Hebert *et al.*, 2003; Sass *et al.*, 2007; Lahaye *et al.*, 2008). En este sentido, se evaluó la monofilia de las especies neotropicales de *Garcinia* haciendo uso de estas herramientas. De los análisis parciales aplicando MP, las topologías más resueltas y con mayor IR fueron las obtenidas con secuencias de ITS y *matK* (Tabla 3). Estos resultados son consistentes con otros estudios empleando ITS (Olson, 2002; Chacón *et al.*, 2006; Levin *et al.*, 2006; Salazar

et al., 2009; Baldwin *et al.*, 1995; Yamaji *et al.*, 2007; Liu *et al.*, 2008; Hollingsworth *et al.*, 2011; Queiroz *et al.*, 2011) y *matK* (Olmstead *et al.*, 1994; Matsumoto *et al.*, 1998; Hilu *et al.*, 2003). Además, Duangjai *et al.* (2006) encontraron que *matK* es más informativo que otros cuatro genes plastidiales: *atpB*, el intrón *trnK*, intrón *trnL* y el espaciador *trnL-F*, para definir relaciones filogenéticas dentro de la familia Ebenaceae.

Las topologías obtenidas con GBSSI también mostraron buena definición entre especies debido a la tasa de evolución variable entre sitios que maximiza su utilidad filogenética (Mason-Gamer *et al.*, 1998). No obstante, la resolución de sus topologías fue menor que las de ITS y *matK*.

Aunque *rbcL* es uno de los marcadores moleculares más utilizados en sistemática de plantas (Källersjö *et al.*, 1998 Cadavid, 2013), las topologías obtenidas con este gen fueron las que presentaron mayor cantidad de politomías, menor IR (Tabla 3), y en donde las especies neotropicales no se agruparon en un clado. Sin embargo, con los análisis de *rbcL* se evidenció el alto grado de parentesco que hay entre las especies del Neotrópico y las de *Rheedia* en África y Madagascar. Este resultado es consistente con las conclusiones de la revisión taxonómica de *Garcinia* para Colombia, en donde se concluye que la morfología floral de estas especies sigue un patrón muy similar al de las especies de *Rheedia* de Madagascar y Las Comoras (Sweeney *et al.*, 2008).

Las topologías de ITS + GBSSI e ITS + *matK* mostraron mayor resolución que las de *rbcL* + *matK*. Sin embargo, de los análisis combinados, el árbol más resuelto, con mayor muestreo taxonómico y mayor soporte, fue el obtenido con secuencias de los cuatro genes en el análisis con Inferencia Bayesiana. A pesar de que ITS y *matK* son los genes con mayor información para discriminar entre especies de este grupo, y de otras especies como las de *Diospyros* (Ebanaceae) (Yonemori *et al.*, 2008; Tang *et al.*, 2014), GBSSI y *rbcL* también poseen información importante para resolver relaciones dentro de *Garcinia*. Por lo tanto, se tomó a esta topología como la hipótesis más robusta y completa para el género hasta hoy.

Una sinapomorfia de las especies del linaje A son los cristales prismáticos del mesófilo (Vesque, 1889; 1893). Las tecas de sus anteras son globosas o elípticas. Las flores tienen nectarios receptaculares y carecen de un pistilo bien desarrollado, ya que la mayoría tiene un apéndice rudimentario de naturaleza incierta en el centro de las flores estaminadas (Fig. 41K, 41Q) (Sweeney, 2008). Dentro del linaje A, los caracteres florales compartidos por *Xanthocymus* son el androecio organizado en falanges con estambres unidos en la mayor parte de sus filamentos, el estilo ramificado y los pétalos que ascienden hasta la antesis (Fig. 41K, 41L). Los pétalos, falanges y disco de las flores estaminadas son caulifolios, mientras que los sépalos son persistentes.

Jones (1980) examinó varias especies representantes de este linaje y también encontró que todas poseen un polen psilado (con granos de superficie lisa), penta a hepta colporado. Según Sweeney (2008) esta es una característica única en el género. Una aparente sinapomorfía anatómica de los miembros del clado compuesto por *Rheedia* (incluyendo a *Teracentrum*) + *Rheediopsis*, son los estomas hundidos con protuberancias en forma de papilas que surgen de las células anexas y cubren parcialmente la apertura de los estomas (Vesque, 1893). Además, Jones (1980) encontró que las especies de este grupo comparten un polen que puede ser psilado o reticulado-rugulado, tricolporado, con grandes endocolpos y ectoaperturas. También tienen inflorescencias cáducas organizadas en fascículos. Las tres sinapomorfias más evidentes del clado de las especies neotropicales, y de hecho del grupo de *Rheedia* + *G. livingstonei*, son las flores pistiladas con un anillo anular debajo del ovario (Fig. 41S), el androecio no fasciculado, y los numerosos estambres libres que rodean un disco localizado en el centro de la flor (Fig. 41P, 41R, 41T), o en el caso de *G. livingstonei*, estambres libres insertos en el disco (Fig. 41Q). Los resultados de este análisis son congruentes y complementarios a los resultados de Sweeney (2008), en donde sugirió que las especies de Madagascar y Las Comoras de *Rheedia* (*G. commersoni* y *G. urschii*) + *G. livingstonei*, forman el grupo hermano de especies suramericanas de *Rheedia*. Este estudio reitera que *G. commersoni*, *G. urschii* y *G. livingstonei* forman el clado hermano, no solo de las especies suramericanas, sino de las especies neotropicales de *Garcinia*.



Figura 41. Flores de especies representativas de *Garcinia* y algunos de sus géneros segregados. La línea blanca representa una escala de 10 mm. A. Flor estaminada de *Garcinia* aff. *asterandra*, B. Flor estaminada de *G. parvifolia*, C. Flor estaminada de *G. atroviridis*, D. Flor estaminada de *G. hombroniana*, E. Flor estaminada de *G. afzelii*, F. Flor estaminada de *Pentaphalangium latissimum*, G. Flor estaminada de *G. prainiana*, H. Flor estaminada de *Ochrocarpos* aff. *parvifolius*, I. Flor pistilada de *G. prainiana*, J. Flor pistilada de *G. cowa*, K. Flor estaminada de *G. xanthochymus*, L. Flor estaminada de *G. verrucosa*, M. Flor estaminada de *G. conrauana*, N. Flor pistilada de *G. aff. aphanophlebia*, O. Flor estaminada de *G. smeathmannii*, P. Flor estaminada de *G. macrophylla*, Q. Flor estaminada de *G. livingstonei*, R. Flor estaminada de *G. madruno*, S. Flor pistilada de *G. madruno*, T. Flor estaminada de *G. intermedia*, T. Flor estaminada de *G. magnifolia*. Las imágenes acompañadas de una estrella blanca pertenecen al clado de *Rheedia* (que incluye a *Teracentrum*). R., S. y T. Fotografías de la autora. Tomada y editada de Sweeney (2008).

La última especie que hace parte del linaje A es *Garcinia conrauana* (*Tetraphalangium*) (Fig. 40). Esta especie se caracteriza por tener un disco receptacular en las flores estaminadas, y las tecas de las anteras globosas u ovaladas, como en otras especies del linaje A. Sin embargo, esta especie es única en este linaje por tener grandes falanges carnosas cubiertas totalmente por más de 150 estambres de filamentos cortos (Fig. 41M).

Además de aumentar el muestreo de las especie Neotropicales, y verificar que éstas forman un clado, otra novedad de esta topología, en comparación con la hipótesis de Sweeney (2008), fue la posición del clado *G. kola* + *G. lucida*. En el trabajo de Sweeney (2008), *G. kola* y *G. lucida* se ubicaron en la base del clado de *Xanthocymus* sin resolución, en cambio, en esta hipótesis son el clado hermano de *Rheedia* + *Rheediopsis*. Sin embargo, esta relación está soportada con bajo soporte (Bootstrap=53; PP=0,92), y además, es incongruente en varias topologías (Fig. 40). Por lo tanto, no hay evidencia para sugerir que *G. kola* y *G. lucida* no hacen parte de *Xanthocymus*.

Por otra parte, se encuentran las especies del linaje B que se caracterizan por tener flores estaminadas y pistiladas sin nectarios en forma de disco o anillo (Sweeney, 2008). Muchas de las especies de este linaje tienen flores estaminadas con un pistilodio (Fig. 41C, 41H). De acuerdo con Sweeney (2008), los clados del linaje B (*Garcinia*, *Hebradendron*, *Brindonia*, *Tagmanthera*, y el clado compuesto por especies de varias secciones), tienen especies con combinaciones florales o vegetativas únicas que varían muy poco entre clados.

Una sinapomorfia de las especies de *Brindonia* son los surcos distribuidos a lo largo del radio de sus frutos (Sweeney, 2008). Las flores estaminadas de estas especies también carecen de un pistilodio y tienen estambres cubriendo la parte central de la flor que está ligeramente elevada (Fig. 41A, 41B). Esto pasa en todas las especies a excepción de *G. atroviridis* (la rama más exterior del clado en Fig. 40) en donde los estambres están organizados en un anillo que rodea al pistilodio (Fig. 41C). Aunque *G. mangostana* y sus parientes constituyen al clado *Garcinia*, no existen sinapomorfias morfológicas claras para este grupo. Sin embargo, Sweeney (2008) encontró que los taxones de este clado usualmente

tienen un androecio tetra-lobado fusionado en la base, que rodea a un pistilodio fungiforme (Fig. 41D). Las especies de *Hebradendron* tienen flores estaminadas que carecen de pistilodio y tienen un androecio no fasciculado muy similar al de las especies de *Brindonia* (Sweeney, 2008). Las especies de *Tagmanthera* tienen flores estaminadas diferentes en donde el pistilodio está rodeado por cuatro fascículos antipétalos en forma de correa. Cada fascículo tiene una sola hilera de anteras sésiles y recurvadas en la punta (Fig. 41E).

A pesar de que *Paragarcinia* se encuentra filogenéticamente más distante de los linajes A y B (Fig. 40), este grupo comparte características similares a las especies del linaje B. Todas las especies de *Paragarcinia* (con excepción de *G. pauciflora*, que además cae en otro clado), tienen sépalos fusionados en una yema (Fig. 41H). El clado que incluye a las siete especies de varias secciones también se recuperó en el estudio de Sweeney (2008). Según Turner *et al.* (1999) la sinapomorfia de estas especies es el patrón de canales resiníferos en el haz de las hojas, que están conectados en anastomosis (estrechamente unidos) y muy ramificados. La fusión de los sépalos en una yema (de *Paragarcinia*) podría ser una sinapomorfia de esta sección en el caso de que *Garcinia pauciflora*, *G. multiflora*, *G. prainiana*, *G. harmandii*, *G. latissima*, *G. amplexicaulis* y *G. warreni* hicieran parte de una nueva clasificación infragenérica debido a que en este y otros estudios (Turner *et al.*, 1999; Sweeney, 2008) se ha visto que estas y varias especies más no corresponden a las secciones *sensu* Jones (1980).

Dentro de las novedades encontradas en la topología aquí propuesta, en comparación con la hipótesis sugerida por Sweeney (2008), está la inclusión de *G. forbesii* en el clado compuesto por *G. rubriflora*, *G. sicyiifolia* y *G. griffithi*, dentro de *Brindonia*. En esta sección también se incluye a *G. loureiroi*, *G. bancana*, *G. oliveri*, *G. globulosa* y *G. cowa*, con alto soporte (PP=1, Bootstrap=98). Las diferencias se basan en el aumento del muestreo taxonómico, y el aporte de información de las secuencias de *rbcL* y *matK*. En la sección *Garcinia* también se incluyeron a las especies *G. penangiana* y *G. benthamii* (PP=1, Bootstrap=96). Dentro de *Hebradendron* también se incluyó al clado *G. acuminata* + *G. hanburyi*, con alto soporte (PP=1, Bootstrap=99) y 100% de congruencia entre las topologías. En esta sección se agrupan a las especies *G. acuminata* + *G. hanburyi* en un

clado, con alto soporte (PP=1, Bootstrap=99). Esto, sumado a la morfología de *G. acuminata*, confirma que esta es una especie asiática, que no tiene una relación cercana con las especies de la sección *Rheedia*, por lo cual apoya el rechazo de ser una especie Neotropical o de ser sinónimo de *G. madruno*, tal como se encontró en algunos reportes al hacer la revisión taxonómica del género para Colombia.

De acuerdo con el árbol del análisis de sensibilidad (Fig. 40), la principal diferencia entre la topología aquí propuesta y la hipótesis sugerida por Sweeney (2008), fue la mayor resolución en las ramas internas del linaje B, obtenida del aumento en el muestreo taxonómico, y al aporte de información de los genes de cloroplasto que no se habían considerado previamente en estudios filogenéticos dentro de *Garcinia*.

2.5 Conclusiones

El árbol obtenido al combinar las secuencias de ITS, GBSSI, *matK* y *rbcL* con inferencia Bayesiana, fue la topología con mayor resolución, muestreo taxonómico y soporte. Sin embargo, el árbol de consenso estricto obtenido con las mismas secuencias aplicando parsimonia mostró algunas incongruencias con esta topología. Es probable que dichas incongruencias se hayan encontrado por las diferencias implícitas en los métodos, ya que el análisis Bayesiano cuenta con un modelo evolutivo y una serie de parámetros para cada gen, mientras que en parsimonia se omiten dichos parámetros. No obstante, la topología más resuelta y robusta es la del análisis Bayesiano, y es por lo tanto, la hipótesis con mayor soporte y mayor muestreo de taxones y de genes propuesta para *Garcinia* hasta hoy. De acuerdo con esta hipótesis, las especies neotropicales de *Garcinia* constituyen un grupo monofilético, ya que más del 90% de los análisis parciales y combinados apoyan la agrupación de estas especies en un clado. Además, la probabilidad posterior de este nodo en el árbol de evidencia total fue de 0,97. Debido al alto porcentaje de datos ausentes, no se puede comentar sobre las relaciones internas dentro de este clado, sin embargo, se cumplió con el objetivo de este estudio. Para futuros estudios, se recomienda seguir aumentando el

número de especies y continuar con la secuenciación de los mismos cuatro genes para completar la matriz, y así, lograr una mayor resolución dentro del clado Neotropical.

Con esta hipótesis también se concluye que se encuentran dos grandes linajes (A y B), dentro de *Garcinia*, agrupados por características reproductivas particulares que están también asociadas a su distribución. Las especies del linaje A presentan flores con nectarios receptaculares que carecen de un pistilo bien desarrollado, y las tecas de sus anteras son globosas o elípticas. Estas especies se distribuyen mayormente en África, Madagascar, el Neotrópico y otras pocas en Asia. Por su parte, las especies del linaje B se caracterizan por tener flores estaminadas y pistiladas que carecen de nectarios, y se encuentran principalmente en Asia, aunque también hay algunas pocas en África y Madagascar.

Finalmente, con esta hipótesis se reitera la importancia de realizar una nueva clasificación infragenérica para *Garcinia*, ya que este y otros estudios han demostrado que hay especies que no corresponden morfológica ni filogenéticamente a las secciones en las que están actualmente ubicadas de acuerdo al trabajo de Jones (1980).

3. Conclusiones y recomendaciones

3.1 Conclusiones

En Colombia se encuentran siete especies de *Garcinia*, una introducida (*G. mangostana* n.v. “mangostino”) y seis nativas: *G. intermedia*, *G. gardneriana*, *G. macrophylla*, *G. madruno*, *G. magnifolia* y *G. tonduziana*, distribuidas entre los 0 y 2200 m de altura. Todas presentan frutos comestibles y se caracterizan por tener el mismo patrón reproductivo de inflorescencias en fascículos axilares, de flores unisexuales con 4 pétalos redondos y membranáceos, intercalados con 2 sépalos ovalados y coriáceos, más pequeños que los pétalos. La corola ni el cáliz presentan dimorfismo sexual. Las flores estaminadas poseen un disco nectarífero en el centro de la flor, rodeado de numerosos estambres libres organizados en más de dos verticilos, con anteras bitecas globosas con dehiscencia longitudinal. Las flores pistiladas poseen un anillo lobado o anular debajo del ovario, rodeado de estaminodios libres, organizados en un solo verticilo.

Además de delimitar a las especies, los análisis multivariados de los caracteres morfológicos demostraron que a pesar de que existe un grupo pequeño de variables que explican cerca del 97% de la variabilidad y cuentan con un mayor potencial discriminante, las agrupaciones de las especies no logran definirse tan bien como cuando se utilizan todas las variables en un análisis, ya que no siempre las variables están correlacionadas, y por lo tanto, aportan diferente información que aunque es poca, es relevante en este tipo de análisis. Con estos análisis también se rechazó la hipótesis de que *Garcinia recondita* constituye una especie, por lo cual en los siguientes análisis y en el tratamiento taxonómico se consideraron a dichos especímenes como *G. intermedia*.

El árbol filogenético obtenido al combinar las secuencias de ITS, GBSSI, *matK* y *rbcL* con inferencia Bayesiana, fue la topología con mayor resolución, muestreo taxonómico y soporte, y por lo tanto, es considerada en este trabajo como la hipótesis con mayor robustez propuesta para *Garcinia* hasta hoy. De acuerdo a esta hipótesis, en *Garcinia* se encuentran dos grandes linajes (A y B), diferenciados básicamente por la presencia de discos nectaríferos en las flores (linaje A), y carencia de los mismos (linaje B). Finalmente, con la hipótesis filogenética presentada en este trabajo, y el análisis de sensibilidad, se demuestra que las especies neotropicales de *Garcinia* constituyen un grupo monofilético.

3.2 Recomendaciones

Debido a que muchas de las especies de este trabajo han sido objeto de estudio en varias investigaciones con propósitos farmacológicos, encontrando antioxidantes y otros metabolitos propios de estas plantas con potencial actividad como antiinflamatorios e incluso propiedades anticancerígenas (como las “rheediaxantonas”), es importante que estas especies sigan siendo estudiadas a fondo para el desarrollo de nuevos fármacos. También es importante que sean más reconocidas por diferentes comunidades, ya que además de contar con frutos comestibles, muchas especies son utilizadas para tratar enfermedades como medicina tradicional.

Para futuros estudios filogenéticos y sistemáticos, se sugiere incrementar el número de especies y continuar con la secuenciación de los mismos cuatro genes trabajados en este estudio para completar la matriz, y así, lograr una mayor resolución dentro del clado Neotropical. También es importante reconsiderar una nueva clasificación para el género, ya que varios estudios han demostrado que hay especies que no corresponden a su actual sección. Además, es necesaria una reclasificación por la nuevas transferencias que se han hecho a *Garcinia*, no solo de *Rheedia*, sino también de *Ochrocarpos*, *Tsimatimia* y *Xanthocymus*. Finalmente, se recomienda como recurso adicional la recolección de muestras botánicas en gel de sílice, para asegurar una mejor preservación del ADN y así facilitar su uso en los trabajos de sistemática molecular, y otros que requieran de la extracción de ADN de las plantas recolectadas y depositadas en las colecciones.

A. Anexo: Protocolos de cuantificación y control de calidad de ADN

A.1 Cuantificación por Fluorometría

Se utilizó el Kit Qubit de ThermoFisher para conocer la concentración de ADN de cada muestra. Se agregaron 0,5µL de muestra y 0,5µL de fluorocromo a 99mL de buffer o tampón.

A.2 Protocolo de electroforesis

Se evaluó la calidad del ADN total de las muestras en un gel al 1% p/w, siguiendo el siguiente protocolo:

1. Agregar 0,744 g de agarosa a un vaso de precipitados con 62 mL de TBE 0,5 X.
2. Calentar menos de 30 segundos hasta que se disuelva la agarosa. Dejar enfriar.
3. Agregar el 1% del volumen de solución de agarosa, de SYBR Safe (0,62 µL) y cubrir el vaso con aluminio.
4. Agregar la solución al molde de la cubeta de electroforesis (con los peines) y cubrir con aluminio por 10 minutos. Dejar solidificar.
5. Retirar los peines y agregar buffer TBE 0,5 X dentro de la cámara de electroforesis hasta cubrir el gel.
6. Agregar 3 µL de buffer de carga por 2 µL de muestra en papel parafina.
7. Cargar las muestras y cubrir con aluminio.
8. Correr el gel a 100 voltios por 30 minutos.

B. Anexo: Primers y protocolos de PCR

B.1 Primers

Para amplificar los fragmentos de ITS y GBSSI se utilizaron los siguientes *primers* (Sweeney, 2008):

| | |
|---------|-------------------------------------|
| ITS1 | (5'-TCC GTA GGT GAA CCT TGC GG-3') |
| ITS4 | (5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3') |
| ITS2 | (5'-GCT GCG TTC TTC ATC GAT GC-3') |
| ITS3B | (5'-GGG TCG ATG AAG AAC GCA ST-3') |
| EXON3-F | (5'-TAY AAA MGW GGR GTT GAT CG-3') |
| EXON6-R | (5'-GCC ART CRT TGG CAA YGA AG-3'). |

B.2 Protocolo de PCR

Tabla 5. Protocolo de PCR para ITS y GBSSI utilizado en el IBUN. C = concentración, Vol. = volumen.

| Reactivo | C 1 | C 2 | Vol. Final |
|----------------------|-------------|-------------|---------------|
| Buffer de PCR (MgCl) | 5X | 1X | 5 μ L |
| dNTPs | 20mM | 100 μ M | 0,25 μ L |
| Primer F | 100 μ M | 20 μ M | 0,5 μ L |
| Primer R | 100 μ M | 20 μ M | 0,5 μ L |
| Taq. Polimerasa | 2,5 U | | 0,5 μ L |
| ADN | | 20ng | 4 μ L |
| Agua | | | 14,25 μ L |

B.3 Programas de termociclador

El programa de termociclador utilizado para la PCR de ITS se muestra a continuación:

1. 95°C por 3 minutos (una vez)
 2. 95°C por 30 segundos
 3. 63°C por 3 minutos
 4. 72°C por 1,5 minutos
 5. 72°C por 10 minutos
 6. 15°C indefinido.
- } 44 ciclos

Para la PCR de GBSSI se siguió el programa de termociclador de Mason-Gamer *et al.* (1998), que se muestra a continuación:

1. 94°C por 1 minuto (una vez)
 2. 94°C por 45 segundos
 3. 65°C por 2 minutos
 4. 72°C por 1 minuto
 5. 94°C por 30 segundos
 6. 65°C por 40 segundos
 7. 72°C por 40 segundos
 8. 72°C por 20 minutos
 9. 15°C indefinido.
- } 5 ciclos
- } 30 ciclos

C. Anexo: Evaluación de la convergencia en la búsqueda MCMC de los análisis con Inferencia Bayesiana

Para saber si las cadenas de Markov no se estancaron en la búsqueda MCMC, es decir, que convergieron, se evaluó la distribución de los datos que en cada caso debían mostrar una distribución normal.

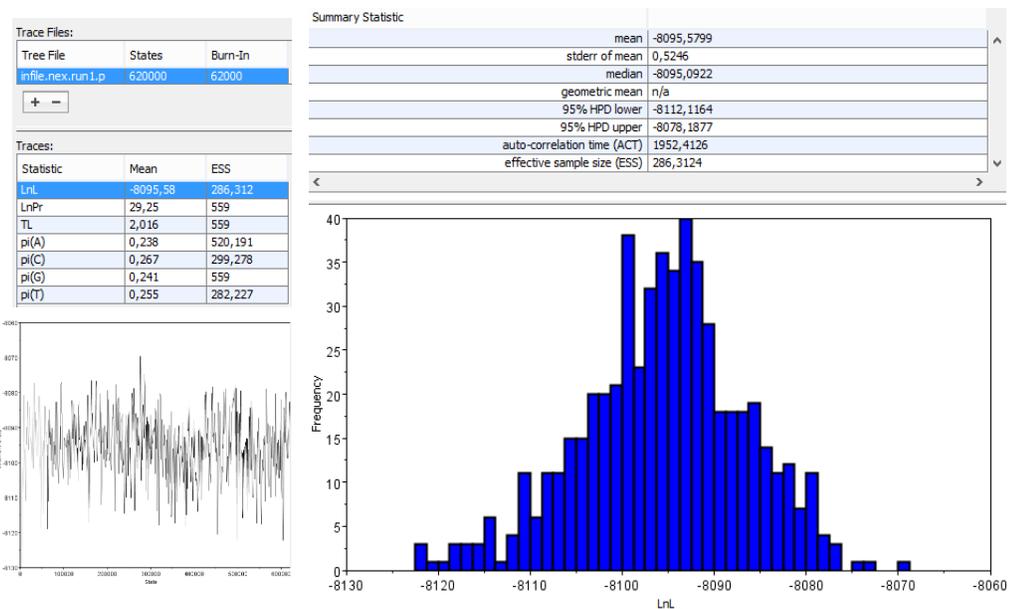


Figura 42. Gráficas que evidencian convergencia en el análisis de ITS con 20 millones de generaciones de búsqueda MCMC. A la derecha se muestra la distribución normal de las frecuencias con respecto al logaritmo natural de la verosimilitud. A la izquierda el Tracer que evidencia dicha convergencia.

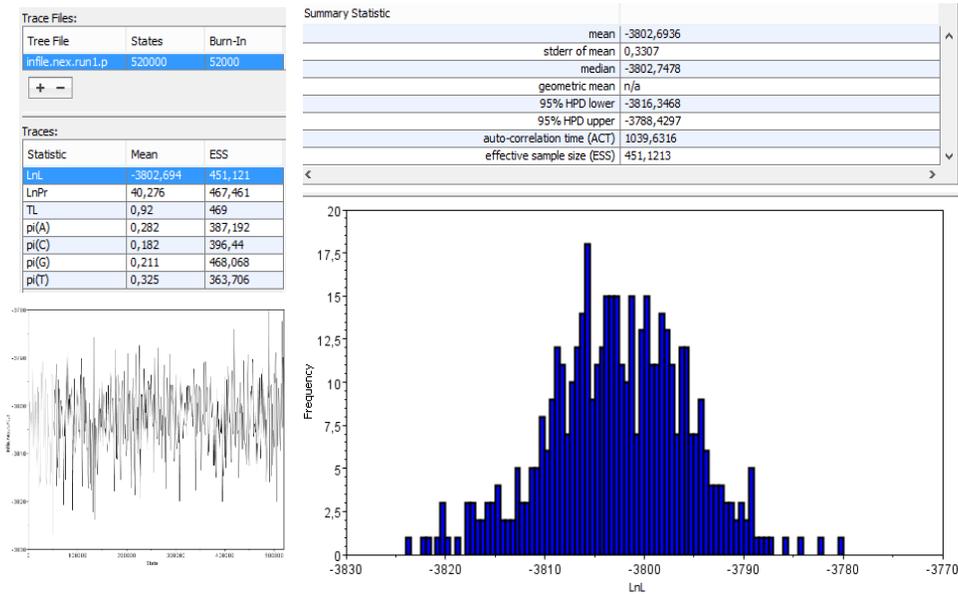


Figura 43. Gráficas que evidencian convergencia en el análisis de GBSSI con 20 millones de generaciones de búsqueda *MCMC*. A la derecha se muestra la distribución normal de las frecuencias con respecto al logaritmo natural de la verosimilitud. A la izquierda el Tracer que evidencia dicha convergencia.

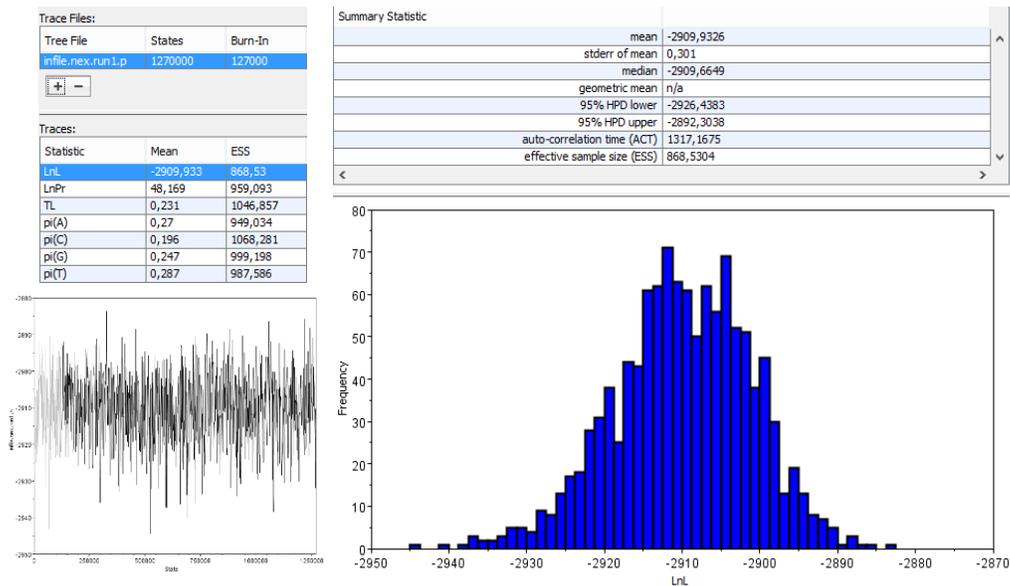


Figura 44. Gráficas que evidencian convergencia en el análisis de *rbcL* con 20 millones de generaciones de búsqueda *MCMC*. A la derecha se muestra la distribución normal de las frecuencias con respecto al logaritmo natural de la verosimilitud. A la izquierda el Tracer que evidencia dicha convergencia.

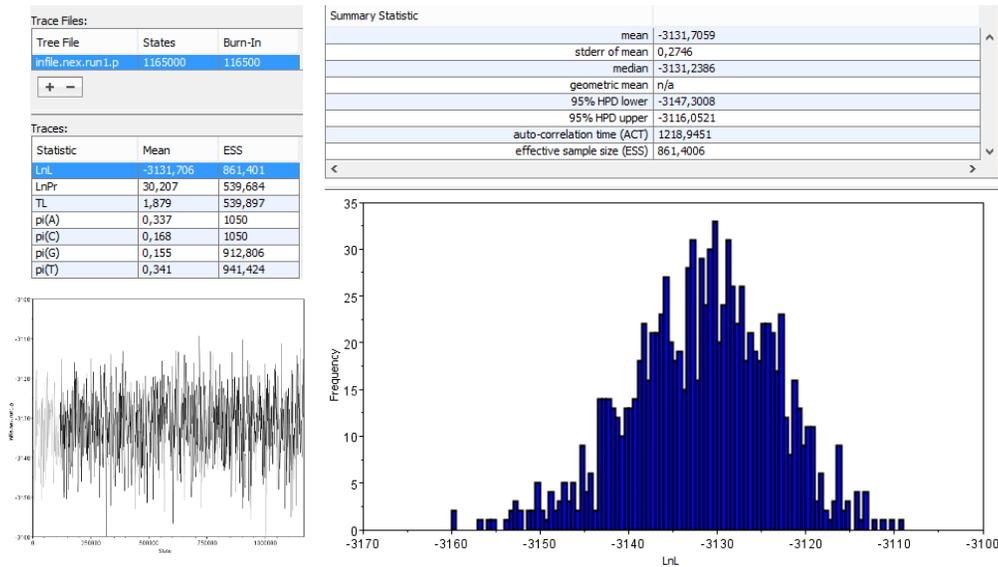


Figura 45. Gráficas que evidencian convergencia en el análisis de *matK* con 30 millones de generaciones de búsqueda MCMC. A la derecha se muestra la distribución normal de las frecuencias con respecto al logaritmo natural de la verosimilitud. A la izquierda el Tracer que evidencia dicha convergencia.

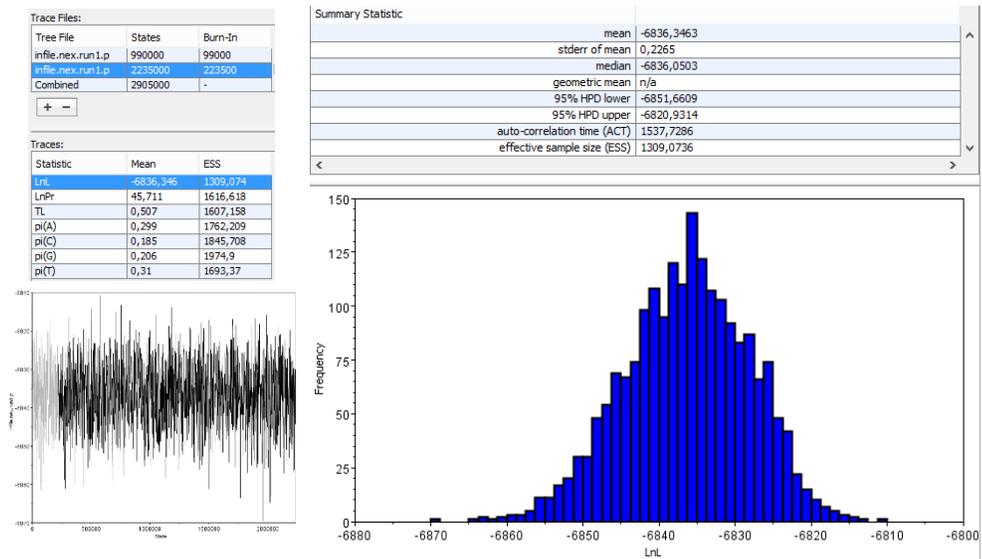


Figura 46. Gráficas que evidencian convergencia en el análisis combinado de *rbcL* y *matK* con 30 millones de generaciones de búsqueda MCMC. A la derecha se muestra la distribución normal de las frecuencias con respecto al logaritmo natural de la verosimilitud. A la izquierda el Tracer que evidencia dicha convergencia.

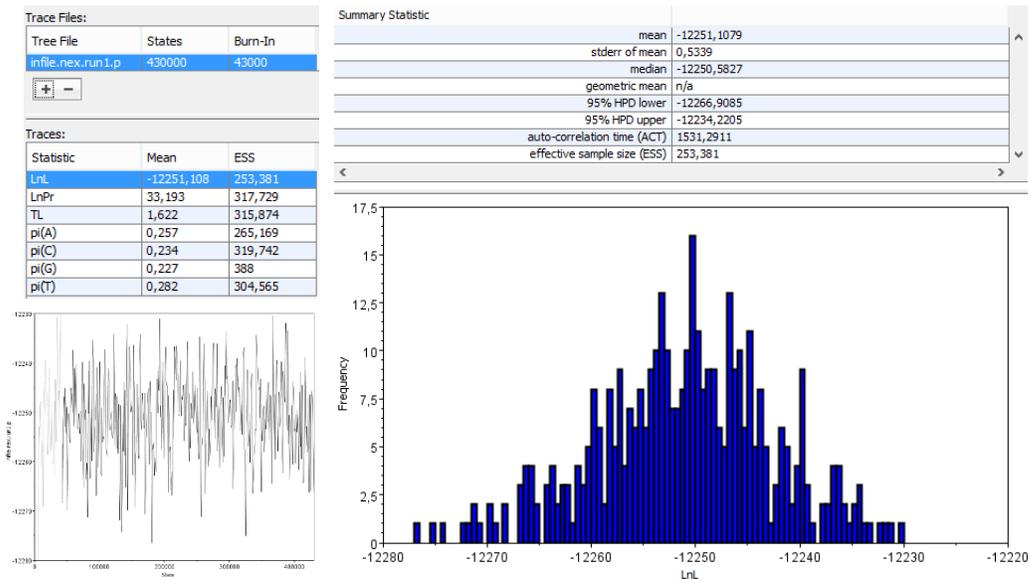


Figura 47. Gráficas que evidencian convergencia en el análisis combinado de ITS y GBSSI con 20 millones de generaciones de búsqueda *MCMC*. A la derecha se muestra la distribución normal de las frecuencias con respecto al logaritmo natural de la verosimilitud. A la izquierda el Tracer que evidencia dicha convergencia.

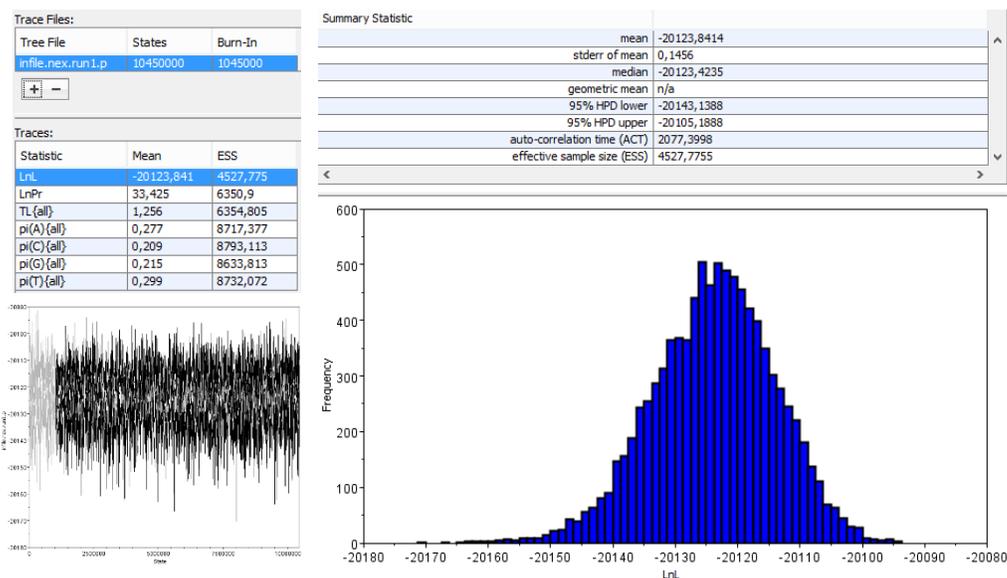


Figura 48. Gráficas que evidencian convergencia en el análisis combinado de ITS, GBSSI, *rbcL* y *matK* con 30 millones de generaciones de búsqueda *MCMC*. A la derecha se muestra la distribución normal de las frecuencias con respecto al logaritmo natural de la verosimilitud. A la izquierda el Tracer que evidencia dicha convergencia.

Bibliografía

- Acevedo-Rodríguez, P. & Strong, M. 2012. Catalogue of Seed Plants of the West Indies. Smithsonian Institution Scholarly Press. Smithsonian Contributions to Botany 98, pg: 227-228.
- Adams, C. 1970. Miscellaneous additions and revisions to the flowering plants of Jamaica. *Phytologia* 20, pg:309–314.
- Adams, C. 1972. Flowering plants of Jamaica. University Press.
- Andrade, M., Sampaio, T., Nogueira, P., Ribeiro, A., Bittrich, V., Amaral, M. 2007. Volatile compounds from leaves and flowers of *Garcinia macrophylla*. *Chemistry of Natural Compounds* 43(2) pg: 221–224.
- Arias, M.C. 2002. Botánica económica. Universidad Nacional Abierta y a Distancia, pg: 281.
- Baldwin, B., Campbell, C., Porter, J., Sanderson, M., Wojciechowski, M., Donoghue, M. 1995. Utility of nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences in phylogenetic analysis of angiosperms. *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 82, pg: 247–277.
- Bruneton, J. 2001. Terpenos y esteroides, en: Farmacognosia: Fitoquímica. Plantas Medicinales. Editorial Acribia, pg: 457-651.
- Cadavid, I. 2013. Tipificación molecular y separación de especies de plantas del subgénero *Leptostemonum* (Solanaceae: *Solanum*), usando regiones barcode. Universidad Nacional de Colombia, en prensa.
- Castardo, J., Prudente, A., Ferreira, J., Guimarães, C., Monache, F., Filho, V., Otuki, M. & Cabrini, D. 2008. Anti-inflammatory effects of hydroalcoholic extract and two biflavonoids from *Garcinia gardneriana* leaves in mouse paw oedema. *Ethnopharmacol* 118(3), pg: 405-11.
- Chacón, J., Madriñán, S., Chase, M. & Bruhl, J. 2006. Molecular Phylogenetics of *Oreobolus* (Cyperaceae) and the Origin and Diversification of the American Species. *Taxon* 55, pg: 359.
- Chave, J. & Iribar, A. 2014. Direct Submission - Evolution et Diversité Biologique, CNRS, Université Paul Sabatier, Francia.
- Clark, J., Robertson, M. & Ainsworth, C. 1991. Nucleotide sequence of a wheat (*Triticum aestivum* L.) cDNA clone encoding the *waxy* protein. *Plant Molecular Biology* 16, pg: 1099–1101.
- Costa, C., & Roberts, R. 2014. Techniques for improving the quality and quantity of DNA extracted from herbarium specimens. *Phytoneuron* 48, pg: 1–8.
- D'Arcy, W. 1980. Flora of Panama. Pt VI. Family 123. Guttiferae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 67, pg: 998.
- Dallwitz, M., Paine, T. & Zurcher, E. 2000. Principles of interactive keys. Disponible en <http://delta-intkey.com>

- Darriba, D., Taboada, G., Doallo, R. & Posada, D. 2012. jModelTest 2: more models, new heuristic and parallel computing. *Nature Methods* 9(8). Disponible en <http://darwin.uvigo.es/>
- Davis, C., Latvis, M., Nickrent, D., Wurdack, K. & Baum, D. 2007. Floral gigantism in Rafflesiaceae. *Science* 315 (5820), pg: 1812.
- De Queiroz, K. 2007. Species Concepts and Species Delimitation. *Systematic Biology* 56, Vol. 6, pg: 879-886.
- Denyer, K. & Smith, A. 1992. The purification and characterisation of two forms of soluble starch synthase from developing pea embryos. *Planta* 186, pg: 609–617.
- Dick, C. & Bermingham, E. 2006. Molecular Evidence of Tertiary Population Divergences in Widespread Neotropical Rainforest Trees. En prensa.
- Doyle, J. & Doyle, J.L. 1987. Genomic plant DNA preparation from fresh tissue: CTAB method. *Phytochem Bull* 19, pg: 11–15.
- Drábková, L. 2014. DNA Extraction from Herbarium Specimens. *Molecular Plant Taxonomy: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology*, Vol. 1115, pg: 69-84.
- Dry, I., Smith, A., Edwards, A., Bhattacharyya, M., Dunn, P. & Martin, C. 1992. Characterization of cDNAs encoding two isoforms of granule-bound starch synthase which show differential expression in developing storage organs of pea and potato. *The Plant Journal* 2, pg: 193–202.
- Du, Z., Yang, C., Chen, J., Guo, Y. 2010. Identification of hybrids in broadleaved *Potamogeton* species (Potamogetonaceae) in China using nuclear and chloroplast DNA sequence data. *Plant Systematics and Evolution* 287, pg: 57–63.
- Duangjai, S., Wallnöffer, B., Samuel, R., Munzinger, J. & Chase, M. 2006. Generic delimitation and relationships in Ebenaceae sensu lato: evidence from six plastid DNA regions. *American Journal of Botany* 93, pg: 1808–1827.
- Eguiarte, L., Souza, V. & Aguirre, X. *Ecología Molecular*. 2007. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Instituto Nacional de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, pg: 325-331.
- Engler, A. 1893. Guttiferae, en A. Engler & K. Prantl (Eds.), *Die natürlichen Pflanzenfamilien*, Vol. 3, 6a, pg: 194-242.
- Engler, A. 1925. Guttiferae, en A. Engler & K. Prantl (Eds.), *Die natürlichen Pflanzenfamilien*, ed. 2, Vol. 21, pg: 154-237.
- Erickson, D., Kress, W. & Lum, S. 2015. Comparative phylogenetic diversity and structure of tree communities across a multi-community megaphylogeny. En prensa.
- Farris, J.S. 1989. The retention index and rescaled consistency index. *Cladistics* 5, pg: 417-419.
- Fournet, J. 1978. Flore illustrée des phanérogames de Guadeloupe et de Martinique, pg: 1654.
- Geilfus, F. 1994. El árbol al servicio del agricultor: Manual de agroforestería para el desarrollo rural. *Enda-Caribe* 2, pg: 111-117.

- Gehrig, H., Aranda, J., Cushman, M., Virgo, A., Cushman, J., Hammel, B. & Winter, K. Cladogram of Panamanian *Clusia* Based on Nuclear DNA: Implications for the Origins of Crassulacean Acid Metabolism. *Plant Biology* 5, pg: 59-70.
- Gielly, L. & Taberlet, P. 1994. The use of chloroplast DNA to resolve plant phylogenies: noncoding versus *rbcL* sequences. *Molecular Biology and Evolution* 11, Vol. 5, pg: 769-777.
- Guisande, C., Vaamonde, A. & Barreiro, A. 2014. Paquete StatR - RWizard versión Beta 1.0.
- Gustafsson, M., Bittrich, V. & Stevens, P. 2002. Phylogeny of Clusiaceae based on *rbcL* sequences. *International Journal of Plant Sciences* 163, pg: 1045–1054.
- Gutierrez-Orozco, F & Failla, M. 2013. Biological Activities and Bioavailability of Mangosteen Xanthones: A Critical Review of the Current Evidence. *Nutrients* 5(8), pg: 3163–3183.
- Hall, T. 2013. BioEdit: Biological sequence alignment editor. Ibis Biosciences. Disponible en <http://www.mbio.ncsu.edu/Bioedit/bioedit.html>
- Hammel, B. 1989. *Annals of the Missouri Botanical Garden*. Vol. 76, No. 3, pg: 927-929.
- Han, A., Kim, J., Lantvit, D., Kardono, L., Riswan, S., Chai, H., de Blanco, E., Farnsworth, N., Swanson, S. & Kinghorn, D. 2009. Cytotoxic Xanthone Constituents of the Stem Bark of *Garcinia mangostana* (Mangosteen). *Journal of Natural Products* 72, Vol. 11, pg: 2028-2031.
- Hebert, P., Cywinska, A., Ball, S. & deWaard, J. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Containing papers of a Biological character* 270, pg: 313–321.
- Hilu, K., Borsch, T., Müller, K., Soltis, D., Soltis, P., Savolainen, V., Chase, M., Powell, M., Alice, L. & Evans, R. 2003. Angiosperm phylogeny based on *matK* sequence information. *American Journal of Botany* 90, pg: 1758–1776.
- Hollingsworth, P., Forrest, L., Spouge, J., Hajibabaei, M., Ratnasingham, S., Van Der Bank, M., Chase, M., Cowan, R., Erickson, D. & Fazekas, A. 2009. A DNA barcode for land plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106, pg: 12794–12797.
- Hollingsworth, P., Graham, S. & Little, D. 2011. Choosing and Using a Plant DNA Barcode. *PLoS ONE* 6, E19254.
- Huang, X., Ci, X., Conran, J. & Li, J. 2015. Application of DNA Barcodes in Asian Tropical Trees - A Case Study from Xishuangbanna Nature Reserve, Southwest China. *PLoS ONE* 10 (6), E0129295.
- Huelsenbeck, J.P. & Ronquist, F. 2001. MrBayes: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics* 17, pg: 754-755. Disponible en <http:// mrbayes.sourceforge.net/>
- Instituto de Ciencias Naturales. 1983. Flora de Colombia. Jaime Aguirre, Gloria Galeano, Julio Betancur. Universidad Nacional de Colombia.
- International Barcode of Life (iBOL). 2012. iBOL Data Release.
- IPNI. 20120. International Plant Name Index. Disponible en <http://www.ipni.org/index.html> - Consultada en octubre de 2014.
- Janick, J. & Paull, R.E. 2008. *The Encyclopedia of Fruit and Nuts*. CABI – CAB International.
- Jones, S. 1980. Morphology and major taxonomy of *Garcinia* (Guttiferae). PhD diss. University of Leicester.

- Jumelle, H. & Perrier de la Bathie, H. 1910. Les Clusiacées du nord-ouest de Madagascar. *Annales des Sciences Naturelles; Botanique*, sér. 9, 11, pg: 255-359.
- JSTOR Global Plants. Disponible en <http://plants.jstor.org> – consultada en octubre de 2015.
- Kearns, D., Berry, P., Stevens, P., Cuello, N., Pipoly, J., Robson, N., Holst, B., Kubitzki, K. & Weitzman, A. 1998. Clusiaceae en Berry, Holst, Yatskievych (Eds.). *Flora of the Venezuelan Guayana*. Missouri Botanical Garden, Vol 4, pg: 248–329.
- Klosgen, R., Gierl, A., Schwarz-Sommer, Z. & Saedler, H. 1986. Molecular analysis of the *waxy* locus of *Zea mays*. *Molecular Genetics and Genomics* 203, pg: 237–244.
- Kress, W., Erickson, D., Jones, F., Swenson, N., Perez, R., Sanjur, O. & Bermingham, E. 2009. Plant DNA barcodes and a community phylogeny of a tropical forest dynamics plot in Panama. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106 (44), pg: 18621-18626.
- Kong, D., Ma, C., Zhang, Q., Li, L., Chen, X., Zeng, H. & Guo, D. 2014. Leading dimensions in absorptive root trait variation across 96 subtropical forest species. *New Phytologist* 203 (3), pg: 863-872.
- Kyndt, T., Van Droogenbroeck, B., Romeijn-Peeters, E., Romero-Motochi, J., Scheldeman, X., Goetghebeur, P., Van Damme, P. & Gheysen, G. 2005. Molecular phylogeny and evolution of Caricaceae based on rDNA internal transcribed spacers and chloroplast sequence data. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 37, pg: 442–459.
- Lahaye, R., van der Bank, M., Bogarin, D., Warner, J., Pupulin, F., Gigot, G., Maurin, O., Duthoit, S., Barraclough, T.G. & Savolainen, V. 2008. DNA barcoding the floras of biodiversity hotspots. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105, pg: 2923–2928.
- León, J. 2000. *Botánica de los cultivos tropicales*. 3ª Ed. San José, C.R.: IICA. Colección Libros y Materiales Educativos 84, pg: 96-98.
- Levin, R., Myers, N. & Bohs, L. 2006. Phylogenetic relationships among the “spiny solanums” (*Solanum* subgenus *Leptostemonum*, Solanaceae). *American Journal of Botany* 93, pg: 157–169.
- Lim, T. 2012. *Edible Medicinal And Non-Medicinal Plantas*. Springer, Vol 4, pg: 64-90.
- Linneo, C. 1759. *Animalium specierum*, Leyde: Haak.
- Liu, Z., Chen, Z., Pan, J., Li, X., Su, M., Wang, L., Li, H. & Liu, G. 2008. Phylogenetic relationships in *Leymus* (Poaceae: Triticeae) revealed by the nuclear ribosomal internal transcribed spacer and chloroplast *trnL-F* sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, Vol. 46(1), pg: 278-289.
- Liu, J., Yan, H., Newmaster, S., Pei, N., Ragupathy, S. & Ge, X. 2015. The use of DNA barcoding as a tool for the conservation biogeography of subtropical forests in China. *Diversity and Distributions* 21 (2), pg: 188-199.
- Lodhi, M. A., Ye, G. N., Weeden, N. F. & Reisch, B. I. 1994. A simple and efficient method for DNA extraction from grapevine cultivars, *Vitis* species and *Ampelopsis*. *Plant Molecular Biology Reporter* 12, pg: 6–13.
- Mason-Gamer, R. J., Weil, C. F., Kellogg, E. A. 1998. Granule-bound starch synthase: structure, function, and phylogenetic utility. *Molecular Biology and Evolution* 15(12), pg: 1658-1673.

- Matsumoto, S., Kouchi, M., Yabuki, J., Kusunoki, M., Ueda, Y. & Fukui, H., 1998. Phylogenetic analyses of the genus *Rosa* using the *matK* sequence: molecular evidence for the narrow genetic background of modern roses. *Scientia Horticulturae* 77, pg: 73–82.
- Maurin, O., Davies, J., Yessoufou, K., Daru, B., Bezeng, S., Mankga, L. & Van der Bank, M. 2013. Human population density correlates with the phylogenetic diversity of trees in southern Africa. En prensa.
- Mayden, R. L. 1997. A Hierarchy of Species Concepts: The Denouement in the Saga of the Species Problem In: *Species: The Units of Biodiversity*. Claridge, M.F., Dawah, H.A. & Wilson, M.R. (eds). Chapman and Hall, pg: 381-424.
- Meyer, R., Karol, K., Little, D., Nee, M. & Litt, A. 2012. Phylogeographic relationships among Asian eggplants and new perspectives on eggplant domestication. *Molecular phylogenetics and evolution* 63(3), pg: 685-701.
- Miller, M., Pfeiffer, W. & Schwartz, T. 2010. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. En: *Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE)*, pg: 1–8.
- Murray, M. & Thompson, W. 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research* 8, pg: 4321–4326.
- Nazre, M. 1999. Life history studies of *Garcinia* (Clusiaceae, species in the Pasoh 50 ha plot.) Ph.D. diss., National University of Malaysia.
- Nazre, M., Latiff, A., Mat-Salleh, K. & Clyde, M. 2003. Phylogenetic Relationship of Cultivated Mangosteen (*Garcinia mangostana*) with Wild Relatives Based on the Internal Transcribed Spacer Ribosomal DNA. En prensa.
- Nixon, K. 1999. The Parsimony Ratchet, a New Method for Rapid Parsimony Analysis. *Cladistics* 15, pg: 407–414.
- Novotny, V., Miller, S., Baje, L., Balagawi, S., Basset, Y., Cizek, L., Craft, K., Dem, F., Drew, R., Hulcr, J., Leps, J., Lewis, O., Pokon, R., Stewart, A., Samuelson, G. & Weiblen, G. 2011. Guild-specific patterns of species richness and host specialization in plant-herbivore food webs from a tropical forest. *Journal of Animal Ecology* 79 (6), pg: 1193-1203.
- Olmstead, R. & Palmer, J., 1994. Chloroplast DNA systematics: a review of methods and data analysis. *American Journal of Botany* 81, pg: 1205–1224.
- Olson, E. 2002. Intergeneric relationships within the Caricaceae–Moringaceae clade (Brassicales) and potential morphological synapomorphies of the clade and its families. *International Journal of Plant Sciences* 163, pg: 51–65.
- Osman, M. & Milan, A. 2006. Mangosteen - *Garcinia mangostana* L. Southampton Centre for Underutilised Crops, University of Southampton, pg: 3-21
- Parmentier, I., Duminil, J., Kuzmina, M., Philippe, M., Thomas, D., Kenfack, D., Chuyong, G., Cruaud, C. & Hardy, O. 2013. How effective are DNA barcodes in the identification of african rainforest trees?. *PLoS ONE* 8 (4).
- Parthasarathy, U. & Nandakishore, O. 2013. A study on *rbcL* gene region and its homology model of protein of selected Indian *Garcinia* species. En prensa.

- Patiño, V. 2002. Historia y Dispersión de los Frutales Nativos del Neotrópico. Centro Internacional de Agricultura Tropical, Asociación Hortifrutícola de Colombia, Fondo Nacional de Fomento Hortifrutícola, pg: 104-106.
- Pellens, R., D'Haese, C., Bellés, X., Piulachs, M., Legendre, F., Wheeler, W. & Grandcolas, P. 2007. The evolutionary transition from subsocial to eusocial behaviour in Dictyoptera: Phylogenetic evidence for modification of the “shift-in-dependent-care” hypothesis with a new subsocial cockroach. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 43, pg: 616–626.
- Perrier de la Bâthie, H. 1948. Révision des Guttifères de Madagascar et des Comores. *Mémoires du Muséum National d'Histoire*, 24, pg: 75-110.
- Perrier de la Bâthie, H. 1951. Guttifères (136° famille), en H. Humbert (ed), Flore de Madagascar et des Comores (plantes vasculaires), pg: 1-186.
- Planchon, J. & Triana, J. 1860. Mémoire sur la famille des Guttifères. *Annales des Sciences Naturelles; Botanique*, sér. 4, 14, pg: 226-367.
- Posada, D. & Crandall, K. A. 2001. Selecting Models of Nucleotide Substitution: An Application to Human Immunodeficiency Virus 1 (HIV-1). *Molecular Biology and Evolution* 18(6), pg: 897-906.
- Qiu, X., Zhang, H., Wang, Q., Jian, H., Yan, H., Zhang, T., Wang, J. & Tang, K. 2012. Phylogenetic relationships of wild roses in China based on nrDNA and *matK* data. *Scientia Horticulturae* 140, pg: 45–51.
- Queiroz, C., Batista, F. & Oliveira, L. 2011. Evolution of the 5.8S nrDNA gene and internal transcribed spacers in *Carapichea ipecacuanha* (Rubiaceae) within a phylogeographic context. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, Vol. 59(2), pg: 293-302.
- Rauscher, J., Doyle, J. & Brown, A. 2002. Internal transcribed spacer repeat-specific primers and the analysis of hybridization in the *Glycine tomentella* (Leguminosae) polyploid complex. *Molecular Ecology* 11, pg: 2691–2702.
- Richter, S., Olesen, J. & Wheeler, W. 2007. Phylogeny of Branchiopoda (Crustacea) based on a combined analysis of morphological data and six molecular loci. *Cladistics* 23, pg: 301–336.
- Rinaldo, C. & Gwinn, N. 2009. The Biodiversity Heritage Library: sharing biodiversity with the world, DASH: Digital Access to Scholarship at Harvard: Opening Harvard Research. Disponible en <http://www.temoa.info/es/node/238343> - consultada en octubre de 2015.
- Rivero, J. & Brunner, B. 2006. Árboles frutales exóticos y poco conocidos en Puerto Rico. Universidad de Puerto Rico, pg: 71-77.
- Rohde, W., Becker, D. & Salamini, F. 1988. Structural analysis of the waxy locus from *Hordeum vulgare*. *Nucleic Acids Research* 16, pg: 7185–7186.
- Robson, N. 1958. New and little known species from the Flora Zambesiaca area. VI *Boletim da Sociedade Broteriana* 32, pg: 151–173.
- Rogers, S.O. & Bendich, A.J., 1987. Ribosomal RNA genes in plants: Variability in copy number and in the intergenic spacer. *Plant Molecular Biology* 9, pg: 509–520.
- Ronquist, F. & Huelsenbeck, J.P. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19, pg: 1572-1574. Disponible en <http://mrbayes.sourceforge.net/>

- Ruhfel, B., Bittrich, V., Bove, C., Gustafsson, M., Philbrick, C., Rutishauser, R., Xi, Z. & Davis, C. 2011. Phylogeny of the clusioid clade (Malpighiales): Evidence from the plastid and mitochondrial genomes. *American Journal of Botany* 98 (2), pg: 306-325.
- Salazar, G., Cabrera, L., Madriñán, S., & Chase, M. 2009. Phylogenetic relationships of Cranichidinae and Prescottiinae (Orchidaceae, Cranichideae) inferred from plastid and nuclear DNA sequences. *Annals of Botany* 104, pg: 403–416.
- Salehuzzaman, S., Jacobsen, E. & Visser, R. 1993. Isolation and characterization of the cDNA encoding granule-bound starch synthase in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) and its antisense expression in potato. *Plant Molecular Biology* 23, pg: 947–962.
- Sari, R. 2000. Review of *Garcinia* (Clusiaceae) based on molecular systematics. MSc. Thesis. James Cook University.
- Särkinen, T., Staats, M., Richardson, J.E., Cowan, R.S. & Bakker, F.T. 2012. How to Open the Treasure Chest? Optimising DNA Extraction from Herbarium Specimens. *PLoS ONE*. Vol. 7(8), pg: 1-9.
- Sass, C., Little, D., Stevenson, D. & Specht, C. 2007. DNA barcoding in the Cycadales: testing the potential of proposed barcoding markers for species identification of Cycads. *PLoS ONE* 2, pg: 1154.
- Schatz, G. 2001. Generic tree flora of Madagascar. Cromwell.
- Shure, M., Wessler, S. & Fedoroff, N. 1983. Molecular identification and isolation of the *waxy* locus in maize. *Cell* 35, pg: 225–233.
- Simpson, G. 1951. The species concept. *EVOLUTION*, Vol. 5 (4), pg: 285-298.
- Soltis, D. & Soltis, P. 1998. Choosing an approach and an appropriate gene for phylogenetic analysis. En: Soltis, D., Soltis, P., Doyle, J. (eds.), *Molecular Systematics of Plants*. Kluwer Academic Publishers, pg: 1–42.
- Sweeney, P. 2008. Phylogeny and floral diversity in the genus *Garcinia* (Clusiaceae) and relatives. *International Journal of Plant Sciences* 169(9), pg: 1288-1303.
- Sweeney, P & Rogers, Z. 2008. Nomenclatural Notes on *Garcinia* (Clusiaceae) from Madagascar and the Comoros. *Novon: A Journal for Botanical Nomenclature* 18(4), pg: 524-537.
- Swofford, D. 2003. PAUP 4.0 Beta 10. *Phylogenetic Analysis Using Parsimony*. Sinauer Associates.
- Stevens, P. 2001 onwards. *Angiosperm Phylogeny Website*. V. 12, 2012. Disponible en: <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>.
- Stevens, P. 2006. Clusiaceae in K Kubitzki (Ed.). *The families and genera of vascular plants*. Springer, Vol. 9, pg: 48–66.
- Sulassih, Sobir & Santosa, E. 2013. Phylogenetic Analysis of Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) and its relatives based on morphological and inter simple sequence repeat (ISSR) markers. *SABRAO Journal of Breeding and Genetics* 45(3), pg: 478-490.
- Tang, D., Hu, Y., Zhang, Q., Yang, Y. & Lu, Z. 2014. Discriminant analysis of “Jinzaoshi” from persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.; Ebenaceae): A comparative study conducted based on morphological as well as ITS and *matK* sequence analyses. *Scientia Horticulturae* 168, pg: 168–174.
- Taylor, T., Jacobson, J., Kroten, S., Kasuga, T., Geiser, D., Hibbett, D. & Fisher, M. 2000. Phylogenetics species recognition and species concept in fungi. *Fungal Genetics and Biology* 31, pg: 21-32.

- The Plant List. 2012. Disponible en: <http://www.theplantlist.org/> - consultada en junio de 2015-.
- Thompson, J.D., Gibson, T.J., Plewniak, F., Jeanmougin, F. & Higgins, D.G. 1997. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research* 25, pg: 4876–4882.
- Tropicos. Missouri Botanical Garden. Disponible en: <http://www.tropicos.org/Name/7800753> -consultada en junio de 2014.
- Turner, I. & Stevens, P. 1999. The transfer of *Tripetalum cymosum* K. Schum. (Guttiferae) to *Garcinia*. *Gard Bull* 51, pg: 175–177
- Underhill, D. & Iliev, I. 2014. The mycobiota: interactions between commensal fungi and the host immune system. *Nature Reviews Immunology* 14, pg: 405–416.
- Van der Leij, F., Visser, R., Ponstein, A., Jacobsen, E. & Feenstra, W. 1991. Sequence of the structural gene for granule-bound starch synthase of potato (*Solanum tuberosum* L.) and evidence for a single point deletion in the amf allele. *Molecular Genetics and Genomics* 228, pg: 240–248.
- Vesque, J. 1889. *Epharמושis. Genitalia foliaque Garciniearum et Calophyllearum*. Vincennes, pg: 288.
- Vesque, J. 1893. Guttiferae, en A. L. P. P. de Candolle & A. C. P. de Candolle (Eds.), *Monographiae Phanerogamarum*, Vol. 8, pg: 1-669.
- Wagner, K. & Elmadfa, I. 2003. Biological relevance of terpenoids. *Annals of Nutrition and Metabolism* 47, pg: 95-106.
- Wang, Z., Zheng, F., Gao, J., Snustad, D., Li, M., Zhang, J. & Hong, M. 1995. The amylose content in rice endosperm is related to the post-transcriptional regulation of the waxy gene. *The Plant Journal* 7, pg: 613–622.
- Wheeler, W. 1995. Sequence alignment, parameter sensitivity, and the phylogenetic analysis of molecular data. *Systematic Biology* 44, pg: 321–331.
- Wheeler, W., Arango, C., Grant, T., Janies, D., Varón, A., Aagesen, L., Faivovich, J., D’Haese, C., Smith, W. & Giribet, G. 2006. *Dynamic Homology and Phylogenetic Systematics: A Unified Approach Using POY*. American Museum of Natural History, NASA Fundamental Space Biology, U.S. Army Research Laboratory, U.S. Army Research Office. Pg: 94-95.
- Wheeler, W. 2012. *Systematics: A Course of Lectures*. Wiley-Blackwell, pg: 2003-2007.
- Woodson, R. & Schery, R. 1980. *Annals of the Missouri Botanical Garden: Flora of Panama*. Vol. 67(1), pg: 969-1016.
- Wurdack, K. & Davis, C. 2009. Malpighiales phylogenetics: Gaining ground on one of the most recalcitrant clades in the angiosperm tree of life. *American Journal of Botany* 96 (8), pg: 1551-1570.
- Yamaji, H., Fukuda, T., Yokoyama, J., Pak, J., Zhou, C., Yang, C., Kondo, K., Morota, T., Takeda, S., Sasaki, H. & Maki, M. 2007. Reticulate evolution and phylogeography in *Asarum* sect. *Asiasarum* (Aristolochiaceae) documented in internal transcribed spacer sequences (ITS) of nuclear ribosomal DNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, Vol. 44 (2), pg: 863-884.
- Yapwattanaphun, C. & Subhadrabandhu, S. 2003. Phylogenetic relationship of mangosteen (*Garcinia mangostana*) and several wild relatives (*Garcinia* spp.) revealed by ITS sequence data. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 129, pg: 368–373.

- Yonemori, K., Honsho, C., Kanzaki, S., Ino, H., Ikegami, A., Kitajima, A., Sugiura, A. & Parfitt, D. 2008. Sequence analyses of the ITS regions and the *matK* gene for determining phylogenetic relationships of *Diospyros kaki* (persimmon) with other wild *Diospyros* (Ebenaceae) species. *Tree Genetics & Genomes* 4, pg: 149–158.
- Zamora, N., Jiménez, Q. & Poveda, L.J. 2004. Árboles de Costa Rica. Centro Científico Tropical, Conservación Internacional & Instituto Nacional de Biodiversidad. INBio. Vol. III, pg: 553.