

**UNIVERSIDAD DE COSTA RICA**  
**SISTEMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**Efecto del aislamiento espacial y fenológico sobre el flujo génico y el éxito reproductivo de *Pachira quinata* (Bombacaceae).**

Tesis sometida a la consideración de la comisión del Programa de Estudios de Posgrado en Biología, para optar al grado de *Magister Scientiae*

**ERIC J. FUCHS CASTILLO**

Ciudad Universitaria "Rodrigo Facio", Costa Rica

2000

**“ I cast my barbaric YAWP from the rooftops of the world...”**

**-W. Whitman-**

## **DEDICATORIA**

Le dedico este trabajo a mis padres, Elena Castillo y José Fuchs,  
por ser mi inspiración.

A mi novia, Tatiana Robles.

## AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer a Jorge A. Lobo, Mauricio Quesada y Jan Breitling, por su compañerismo, su humor, y por el desarrollo de este trabajo, desde su planeamiento en una oficina llena de humo, hasta su final en los montes calizos del Bajo Tigre. Además, parte integral de este trabajo fueron personas como mi madre, Katherin Stoner, y José Luis Vázquez; quienes me apoyaron desde el inicio.

A Tatiana Robles, por tu apoyo, tu cariño y tu alianza incondicional. Quiero agradecer tu ayuda con este trabajo y con el manuscrito, al igual que las incontables noches que calmaste mi desesperación y me diste ánimos para terminar...Gracias por estar ahí. A doña Olga Cordero y a don Arturo Robles por todo su apoyo.

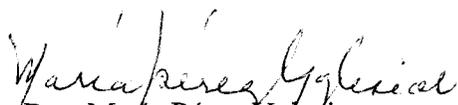
Además, quisiera agradecer a Andrea Quesada, Pablo Aguilar, Liz, Federico Hernández y Eugenia Acuña Vega, por su ayuda en el laboratorio, en el campo y en la jungla administrativa de este posgrado.

Al Dr. William G. Eberhard por múltiples discusiones sobre la lluvia, las flores y el comportamiento pernicioso del murciélago. Su ayuda fue fundamental en la finalización de este trabajo.

A María Marta Chavarría, Felipe Chavarría y Roger Blanco (Coordinador de áreas de Investigación), por toda su ayuda con la búsqueda de los árboles y en el hospedaje. A todo el personal de UNIBE por su apoyo y paciencia a través de todos estos años.

Este trabajo se realizó con financiamiento de Idea Wild - gracias al señor Walter D. Van Sickle III- Vicerrectoría de Investigación (UCR) y el Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, fondo del CONACYT (Nº 31826N), otorgado a Mauricio Quesada y Jorge A. Lobo.

"Esta tesis fue aceptada por la Comisión del Programa de Estudios de Posgrado en Biología de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar al grado de *Magister Scientae*".

  
Dra. María Pérez Yglesias

Decana del Sistema de  
Estudios de Posgrado

  
Dra. Virginia Solís

Directora del Programa  
Posgrado en Biología

  
Dr. Jorge A. Lobo

Director de Tesis

  
Dr. Mauricio Quesada

Asesor

  
Dr. William Eberhard

Asesor

  
Eric J. Fuchs Castillo

Candidato

## ÍNDICE GENERAL

<b>ERIC J. FUCHS CASTILLO</b> .....	<b>I</b>
<b>DEDICATORIA</b> .....	<b>III</b>
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	<b>iv</b>
<b>HOJA DE AGRADECIMIENTO</b> .....	<b>v</b>
<b>ÍNDICE GENERAL</b> .....	<b>vi</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>vii</b>
<b>LISTA DE CUADROS</b> .....	<b>xi</b>
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	<b>xii</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>6</b>
2.1. OBJETIVO GENERAL .....	6
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	6
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>7</b>
3.1. ESPECIE EN ESTUDIO.....	7
3.2. POBLACIONES Y DISEÑO EXPERIMENTAL .....	8
3.3. FENOLOGÍA .....	9
3.4. COLECTA DE FRUTOS Y EXTRACCIÓN DE SEMILLAS.....	11
3.5. ANÁLISIS GENÉTICO .....	11
3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	12
3.6.1. <i>Análisis genéticos</i> .....	12
3.6.2. <i>Modelos lineales generalizados (MLG)</i> .....	15
3.6.3. <i>Análisis del éxito reproductivo</i> .....	15
<b>4. RESULTADOS</b> .....	<b>17</b>
4.1. POBLACIONES Y GRUPOS FENOLÓGICOS .....	17
4.2. ÉXITO REPRODUCTIVO FEMENINO.....	18
4.2.1. <i>Producción de frutos</i> .....	19
4.2.2. <i>Producción de semillas</i> .....	20
4.3. ESTRUCTURA GENÉTICA.....	20
<b>5. DISCUSIÓN</b> .....	<b>40</b>
<b>6. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>47</b>

## RESUMEN

Fuchs Castillo, Eric José

Efecto del aislamiento espacial y fenológico sobre el flujo génico y el éxito reproductivo de *Pachira quinata*.

Tesis de Maestría en Biología. – San José, C.R.:

E. J. Fuchs C., 2000.

54h.:il. – 99 refs.

En países tropicales la tasa de deforestación ha aumentado exponencialmente en los últimos cuarenta años, originando una creciente fragmentación del bosque. La fragmentación del bosque puede tener un efecto negativo sobre el éxito reproductivo de las especies vegetales, introduciendo un efecto de aislamiento espacial. La variación anual en el número de individuos que se reproducen, y la sincronía de floración; son parámetros anexos que afectan directamente la intensidad de floración. El pochote (*Pachira quinata*), es un árbol tropical de la familia Bombacaceae, que ha sido explotado desde los años 40, diezmando las poblaciones fuera de las áreas protegidas. El objetivo de este trabajo fue estudiar los efectos del aislamiento espacial y fenológico, sobre el flujo génico y el éxito reproductivo de *P. quinata*.

Para evaluar el efecto del aislamiento espacial y la pérdida de bosque sobre el éxito reproductivo y el flujo génico de *P. quinata*, se establecieron tres poblaciones o grupos de estudio. 1. árboles en alta densidad con matriz de bosque, dentro del Parque Nacional Sta. Rosa en la zona del “Bajo Tigre”. 2. árboles en intermedia densidad en matriz de pastizal, localizados en la Bahía de Cuajiniquil. 3. árboles aislados o en baja densidad en matriz de pastizal o potrero, marcados a lo largo de la “Carretera Interamericana”, desde la ciudad de Cañas hasta la ciudad de Liberia.

Para evaluar el efecto que tiene la época en que los árboles alcanzan su punto máximo de reproducción, sobre el éxito reproductivo de *P. quinata*, se establecieron tres episodios o grupos fenológicos. 1. árboles cuyo punto máximo de floración se de una desviación estándar antes de la fecha promedio de floración para la población de estudio (i.e. Temprano). 2. árboles que se reproduzcan dentro 1 desviación estándar del

promedio (i.e. Pico). 3. árboles cuyo pico de floración se de una desviación estándar después de la fecha promedio de la especie (Tardío). Para determinar el pico de floración se realizaron conteos de flores en cada árbol, desde Diciembre (1998) hasta Mayo de 1999.

El éxito reproductivo se determinó mediante la producción de frutos y semillas viables. Mediante el uso de podadoras, se obtuvo una muestra de cápsulas maduras para cada árbol. El número de semillas viables y el número de semillas abortadas, se determinó para todos los fruto maduros colectados. La variación genética se estudió a partir de isoenzimas en geles de almidón. Tres parámetros genéticos fueron estimados a partir de la progenie de *P. quinata*: la tasa multiloci de exocruzamiento ( $t_m$ ), la correlación de paternidad ( $r_p$ ) y el número efectivo de apareamientos en la progenie.

La floración en *P. quinata* se extendió desde Enero hasta principios de Marzo. La producción máxima de flores para un individuo fue de 20000 flores y la mínima de 36. En promedio un árbol de *Pachira quinata* produjo 150 frutos maduros ( $\pm 33.8$ ). La población de Cuajiniquil produjo significativamente más flores por árbol ( $x = 10803$ ;  $s_x = 4284.8$ ) que las otras poblaciones. La producción de flores fue significativamente mayor en los árboles pertenecientes al grupo fenológico Tardío ( $x = 11140.8$ ;  $s_x = 3134.7$ ).

Los árboles en la población de Cuajiniquil producen significativamente más frutos que las poblaciones del Tigre o Carretera Interamericana. En el grupo fenológico Tardío, el 5.5% de las flores maduran frutos, mientras que menos del 3% lo hacen en los otros grupos. En promedio se produjeron 24.015 semillas buenas por fruto ( $\pm 0.923$ ) y 9.550 ( $\pm 0.516$ ) semillas abortadas. El número promedio de semillas no difiere entre poblaciones, ni entre grupos fenológicos.

Los niveles de exogamia sugieren que el pochote presenta un sistema de apareamiento predominantemente exocruzado ( $t_m = 0.814 \pm 0.057$ ). La proporción de semillas originadas por exogamia ( $t_m$ ) no difirió entre las tres poblaciones estudiadas. En

la población del Tigre las semillas pertenecientes a distintos frutos tuvieron menos probabilidad de ser hermanas completas, que árboles en la Carretera Interamericana o en Cuajiniquil. El número de apareamientos independientes que explica los genotipos filiales fue significativamente mayor en las poblaciones del Tigre. La correlación de paternidad en semillas dentro y entre frutos fue similar para los tres grupos fenológicos. Los grupos fenológicos tuvieron el mismo número de apareamientos efectivos.

El incremento en el éxito reproductivo femenino puede explicarse por un incremento en la cantidad del recurso para los polinizadores. Árboles con una alta producción floral, se espera que experimenten tasas altas de visitación y fertilización, por lo que se espera un incremento en su producción de frutos. Se demuestra que el aislamiento fenológico no afecta la producción de frutos, como lo hace la intensidad de floración por árbol.

Los resultados de este trabajo demostraron que *P. quinata* es una especie predominantemente exogámica con cierto grado de autopolinización, sin efectos evidentes por aislamiento espacial o fenológico. Si el pochote es incompatible, una reducción en la densidad de individuos no afectará los sistemas de autoincompatibilidad, por ende, tampoco la proporción de semillas exocruzadas. Los resultados demostraron que la proporción de semillas hermanas-completas es mayor en Cuajiniquil y Carretera Interamericana. Es posible explicar estos resultados a partir del patrón de forrajeo del polinizador *Glossophaga soricina*. Los árboles inmersos en matriz de pastizal o potrero son un recurso muy grande para los polinizadores, en una zona de escasos recursos. Esto implica que ellos atraerán a varios polinizadores, además, los murciélagos visitarán más a estos individuos y no se arriesgarán a buscar otros árboles. En zonas donde los recursos son abundantes *G. soricina* tiende a visitar un mayor número de árboles. Esto implica un incremento en el número de árboles visitados y el acarreo de polen de un mayor número de donadores, en poblaciones dentro de bosques continuos.

En conclusión, el efecto de la reducción en el número de individuos reproductivos de *P. quinata* originado por la fragmentación del bosque, se evidenció

principalmente en una disminución en la proporción de semillas hermanas-completas y el número de padres representados en la progenie. Además, este trabajo demuestra que el aislamiento fenológico no afecta las tasas de exocruzamiento y la estructura de parentesco en las poblaciones de *P. quinata*.

**Palabras clave:**

FRAGMENTACIÓN DE BOSQUE; FENOLOGIA; ÉXITO REPRODUCTIVO; POCHOTE; EXOGAMIA; NÚMERO DE APAREAMIENTOS.

**Director de la Investigación:**

Dr. Jorge A. Lobo Segura

Escuela de Biología.

## LISTA DE CUADROS.

	Página
CUADRO 1. Total de árboles de <i>Pachira quinata</i> analizados fenológicamente según localidad y grupo fenológico para el periodo reproductivo de 1999.	23
CUADRO 2. Coeficientes de regresión lineal estimados ( $\pm$ e.s.) para la variable dependiente: probabilidad de que una flor produzca un fruto. Se analizan los factores población y grupo fenológico. La población "Carretera Interamericana" y el grupo fenológico "Temprano" son los niveles base.	24
CUADRO 3. Coeficientes de regresión lineal estimados ( $\pm$ e.s.) para la variable dependiente: número promedio de semillas viables por fruto y árbol. Se analizan los factores población, grupo fenológico y árbol. La población "Carretera Interamericana" y el grupo fenológico "Temprano" son los niveles base. El factor árbol se analiza como un factor aleatorio.	25
CUADRO 4. Sistemas enzimáticos resueltos para <i>Pachira quinata</i> . Número de alelos observados para cada sistema y soluciones tampón utilizadas. 1999.	26
CUADRO 5. Heterocigosidad observada, esperada (EHW) e índices de fijación para las tres poblaciones y los tres grupos fenológicos. 1999.	26
CUADRO 6. Índice de exogamia multilocus ( $t_m$ ) y correlación de paternidad ( $r_p$ ), estimados para las distintas poblaciones, utilizando semillas entre frutos y dentro de frutos. Errores estándar se dan en paréntesis.	27
CUADRO 7. Índice de exogamia multilocus ( $t_m$ ) y correlación de paternidad ( $r_p$ ), estimados para los distintos grupos fenológicos, utilizando semillas entre frutos y dentro de frutos. Errores estándar se dan en paréntesis.	28
CUADRO 8. Promedio y error estándar para el número de apareamientos que maximizan la probabilidad de los genotipos filiales; según la población y el grupo fenológico, al que pertenezcan los árboles. 1999.	29

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Página</b>
FIGURA 1. Proporción de la copa de <i>Pachira quinata</i> que se encuentra cubierta por hojas, flores o frutos según la fecha. Se presenta la moda (Mo) de la muestra para cada fecha de muestreo. 1999.	30
FIGURA 2. Número de árboles de <i>Pachira quinata</i> , en su punto máximo de floración según la fecha de muestreo y las distintas poblaciones estudiadas en el episodio reproductivo de 1999.	31
FIGURA 3. Número promedio de flores producidas por los árboles de <i>Pachira quinata</i> según la población en la que se encuentren. 1999.	32
FIGURA 4. Número promedio de flores producidas por los árboles de <i>Pachira quinata</i> según el grupo fenológico en el que se encuentren. 1999.	33
FIGURA 5. Proporción promedio de flores que llegan a madurar un fruto, según la población en la que se encuentre el árbol. <i>Pachira quinata</i> , 1999.	34
FIGURA 6. Proporción promedio de flores que llegan a madurar un fruto, según el grupo fenológico en el que se encuentre el árbol. <i>Pachira quinata</i> , 1999.	35
FIGURA 7. Número promedio ( $\pm$ e.s.) de semillas buenas por fruto, para los árboles de <i>P. quinata</i> , en las distintas poblaciones. 1999.	36
FIGURA 8. Número promedio ( $\pm$ e.s.) de semillas buenas por fruto, para los árboles de <i>P. quinata</i> , en los diferentes grupos fenológicos. 1999.	37
FIGURA 9. Número promedio ( $\pm$ E.S) de semillas por fruto, para cada árbol de <i>Pachira quinata</i> , según la población en la que se encuentre. 1999.	38
FIGURA 10. Número promedio ( $\pm$ E.S) de semillas por fruto para cada árbol de <i>Pachira quinata</i> , según la fase fenológica en la que se encuentre. 1999.	39

## 1. INTRODUCCIÓN.

La fragmentación del bosque es una de las consecuencias directas de la destrucción de los bosques tropicales. La deforestación y reducción de los bosques naturales amenaza la diversidad y la extinción de las poblaciones naturales. En países tropicales la tasa de deforestación ha aumentado exponencialmente en los últimos cuarenta años; en Costa Rica las áreas de bosque natural se han reducido hasta cubrir menos del 30% del territorio original (Janzen, 1988; Sader y Joyce, 1988). La industria maderera y la expansión de la frontera ganadera han sido los principales responsables de la devastación de bosques tropicales (Uhl y Bushbacher, 1985; Janzen, 1986).

Algunas zonas de vida se han visto más perjudicadas por la deforestación masiva que ha ocurrido en los últimos años. Un ejemplo es el bosque tropical seco, ya que actualmente en Costa Rica existe menos del 0.1% del área original cubierta por este tipo de hábitat. Muchas de las especies forestales que se encuentran en esta zona de vida presentan valor comercial y han sido fuertemente explotadas por la industria maderera (Janzen, 1988). Estas especies presentan reproducción estacional, tasas de crecimiento lentas y capacidad fotosintética reducida. Estas características hacen que el bosque seco sea mucho más sensible a perturbaciones, disminuyendo su capacidad de recuperación (Murphy y Lugo, 1986). Esta zona de vida ha adquirido una gran importancia desde el punto vista conservacionista, debido principalmente al daño actual que presenta y su susceptibilidad a futuras perturbaciones. Actualmente, las poblaciones naturales de plantas fuera de las áreas protegidas se caracterizan por estar ubicadas en fragmentos de bosque de diferentes tamaños (Keogh, 1984; Aizen y Feisinger, 1994).

Se ha afirmado que la fragmentación del bosque puede tener un efecto negativo sobre el éxito reproductivo de las especies vegetales (Aizen y Feisinger, 1994). La reducción del hábitat resulta en una disminución en el número efectivo de donadores de polen y semillas, por lo que se compromete el flujo génico para las poblaciones remanentes, introduciendo un efecto por aislamiento (Barret y Kohm,

1991; Hamrick *et al.*, 1993; Stacy *et al.* 1996; Goodell *et al.*, 1997; Kaufman, *et al.* 1998; Nason y Hamrick, 1997; Aldrich y Hamrick, 1998). Este efecto puede tener consecuencias deletéreas relacionadas con una reducción de la variabilidad genética por disminución del flujo génico (Aldrich, *et al.* 1998), por fenómenos aleatorios como la deriva genética (Levy y Neal, 1999) o por un aumento de cruces geitenogámicos y la endogamia biparental (Husband y Schemske, 1995; Bosch y Waser, 1999). Si las poblaciones se encuentran completamente aisladas pueden ocurrir extinciones locales de ciertos genotipos - originados por factores demográficos o genéticos- las cuales incrementan la posibilidad de extinción total (Templeton *et al.* 1990). La reducción de la diversidad genética puede disminuir la capacidad de respuesta, por parte de las especies, a cambios ambientales y presión selectiva (Charlesworth y Charlesworth, 1987; Ellstrand, 1992; Young, *et al.* 1993). En una opinión diferente, algunos autores sugieren que el flujo génico a nivel de semillas y polen, puede aumentar en condiciones de fragmentación o aislamiento (Satkin, 1987; Foré, *et al.* 1992; Levin, 1995), aunque el polen y los propágulos deben transportarse a mayor distancia entre individuos reproductivos. Esto puede tener un efecto homogenizador para las frecuencias alélicas de poblaciones fragmentadas, reduciendo la diferenciación entre fragmentos (Foré, *et al.* 1992; Kaufman *et al.*, 1997). El incremento en flujo génico puede generar depresión por exogamia (i.e. "outbreeding"), ya que obliga cruces entre individuos distantes, rompiendo complejos genéticos coadaptados al ambiente local (Ellstrand 1992).

La fragmentación del bosque y la consecuente reducción del número de individuos reproductivos, es particularmente importante para los árboles tropicales, ya que éstos ocurren en bajas densidades, presentan síndromes de polinización predominantemente zoofílicos; además de sistemas de autoincompatibilidad (Bawa, 1974; 1992). En estos organismos, una reducción en la densidad implica que los polinizadores llegarán con menos frecuencia ya que se aumenta la distancia entre individuos reproductivos, se reduce el despliegue floral y las recompensas para los polinizadores (Goodell *et al.*, 1997; Bosch y Waser, 1999). Este fenómeno podría reducir la cantidad y calidad del polen que llega a los árboles en fragmentos de bosque, reduciendo el éxito reproductivo de la especie (Ellstrand y Ellam, 1993;

Aizen y Feisinger, 1994). Las cargas de polen pequeñas reducen la competencia de los tubos polínicos permitiendo que genotipos menos viables fertilicen los óvulos y desarrollen frutos, consecuentemente produciendo progenie menos viable (Stephenson *et al.* 1986; Mulcahy y Mulcahy, 1987; Quesada *et al.* 1993; Niessenbaum, 1999). En general, la reducción de población afecta principalmente la intensidad de floración por unidad de área, por lo que ciertos parámetros reproductivos como la disponibilidad de polen y el éxito de polinización, se ven directamente afectados.

La variación anual en el número de individuos que se reproducen, y la sincronía de floración; son parámetros anexos que afectan directamente la densidad de floración. Varios autores han señalado que la fenología es un factor ecológico importante en el estudio de flujo génico y estructura genética de las poblaciones de árboles tropicales (Murawski *et al.* 1990; Murawski y Hamrick, 1991; Chase *et al.* 1996; Doligez y Joly, 1997a,b; Nason y Hamrick, 1997; Loveless, *et al.* 1998); no obstante, pocos estudios han tomado en cuenta este factor en sus diseños experimentales y a mi conocimiento, sólo se ha estudiado en coníferas (Burczyk y Prat, 1997) y en herbáceas (Sih y Baltus, 1987). La extensión del episodio reproductivo para especies de árboles tropicales con una floración anual, puede ser altamente variable (Newstrom, *et al.* 1994). Las poblaciones de árboles con floración anual varían también en la sincronía e intensidad de floración en un período reproductivo. Entre más extenso sea el período de floración, la variación en el número de individuos que se reproducen se incrementa. Además, el reclutamiento de individuos nuevos que se incorporan a una población como producto de su episodio reproductivo asociado, varía considerablemente entre mayor sea el período de floración de una especie (Gentry, 1974). Esto implica que la población efectiva no sólo se reduce por el número de individuos reproductivos en la población, sino también por el número de individuos reproduciéndose en un momento determinado (Loveless *et al.* 1998). El aislamiento fenológico se presenta cuando los cruces en una población se limitan a los individuos que florecen sincrónicamente y en igual intensidad que sus conespecíficos (Murawski y Hamrick, 1992b). El análisis combinado del aislamiento espacial con el fenológico, puede mejorar los estudios

sobre los efectos del aislamiento y la fragmentación en los sistemas de apareamiento de las especies de árboles tropicales. Además, episodios asincrónicos de reproducción, interactuando con diferentes niveles de aislamiento espacial, pueden incrementar los efectos que tiene el aislamiento espacial sobre la diversidad genética en la progenie y el flujo génico; dado a que se adicione un efecto adicional por aislamiento fenológico.

Algunos trabajos han investigado la variación genética, flujo génico y el efecto del aislamiento en árboles tropicales de la familia Bombacaceae (Murawski *et al.* 1990; Murawski y Hamrick, 1991; Murawski y Hamrick, 1992 a, b), principalmente en las especies *Cavanillesia platanifolia*, *Ceiba pentandra* y *Quararibea asterolepis*. Para *C. platanifolia*, se determinó que la densidad de floración está relacionada positivamente con los niveles de exogamia, al igual que la diversidad del polen recibido por los árboles madre. De la misma manera, estos autores determinaron que especies como *C. platanifolia*, *C. pentandra* y *Q. asterolepis* presentan variación en el número de individuos que florecen por año, al igual que en la intensidad de floración; lo cual sugiere que también se encuentran sujetos a aislamiento fenológico. Por estas razones las especies de la familia Bombacaceae son idóneas para el estudio de los efectos de fragmentación y aislamiento fenológico, basado principalmente en su sensibilidad a la reducción en el número de donadores de polen y a los altos niveles de diversidad genética encontrados en marcadores genéticos como isoenzimas.

Los árboles de la familia Bombacaceae son polinizados principalmente por murciélagos y polillas (Heithaus *et al.*, 1975; Baker, 1983; Gribel y Abbott, 1995; Cascante, 1997). Las especies de murciélagos que probablemente visitan los árboles de la familia Bombacaceae son: *Glossophaga soricina*, *Carollia perspicillata*, *Sturnira lilium* y *Artibeus jamaicensis*; aunque se espera que la mayor proporción de visitas sea por el nectarívoro *G. soricina*. Esta especie tienen un ámbito de dispersión promedio de 1.5 km en una noche, además este murciélago tiene un patrón de forrajeo solitario (Heithaus *et al.*, 1975). Si la fragmentación y el aislamiento

espacial tienen un efecto sobre la capacidad de dispersión de las especies de murciélagos, esto afectaría directamente el éxito reproductivo de los árboles polinizados por ella, ya que se reduce el transporte de polen entre individuos o entre poblaciones.

El pochote (*Pachira quinata*), es un árbol tropical de la familia Bombacaceae, que ha sido explotado desde los años 40, diezmando las poblaciones fuera de las áreas protegidas (Ureña, *et al.* 1993). Esto puede afectar la variabilidad genética de las poblaciones remanentes, además de reducir el número de individuos de mayor envergadura (mayor capacidad reproductiva) fuera del bosque natural. El objetivo de este trabajo fue estudiar los efectos del aislamiento espacial y fenológico, sobre el flujo génico y el éxito reproductivo de *P. quinata*. A pesar de ser una especie altamente explotada por su importancia económica, no se han estudiado los efectos de la fragmentación del bosque sobre esta especie. Los resultados obtenidos a partir de esta investigación serán de suma importancia para las estrategias de conservación de árboles tropicales, ya que se pretende determinar los efectos de prácticas comunes de desarrollo como el cambio del uso de la tierra, sobre la reproducción de especies arbóreas. De igual manera, la información sobre patrones reproductivos de árboles aislados o en bajas densidades, deben ser tomados en cuenta para el planeamiento y ejecución, de futuras prácticas de manejo y de muestreos de recursos genéticos.

## **2. OBJETIVOS.**

### **2.1. Objetivo general.**

El objetivo de esta investigación fue determinar el efecto de la fragmentación del bosque y el aislamiento fenológico sobre la estructura genética y el éxito reproductivo de *Pachira quinata* (Bombacaceae).

### **2.2. Objetivos específicos.**

Los objetivos específicos de este proyecto fueron los siguientes:

1. Estimar la tasa promedio de exocruzamiento y la estructura de parentesco dentro de la progenie en las poblaciones de *P. quinata*, por medio del estudio de variación de marcadores genéticos en isoenzimas.
2. Determinar el efecto del aislamiento espacial y fenológico, sobre los mismos parámetros establecidos en el objetivo N° 1.
3. Estimar el efecto que tiene el aislamiento espacial y fenológico, sobre el éxito reproductivo a nivel de producción de frutos y semillas, producidos por *P. quinata*.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS.

#### 3.1. Especie en estudio.

*Pachira quinata* (Jacq.) Dugand, ocurre desde el sur de Honduras hasta el área central de Venezuela. Habita normalmente en zonas con una época seca bien definida y en elevaciones que oscilan entre el nivel del mar y los 900 m.s.n.m.. Se encuentra con mayor abundancia en zonas con una precipitación anual entre los 800 y 1200 mm de lluvia, de suelos profundos, bien drenados y levemente ácidos (Arguedas y Torres, 1995; Ureña *et al.* 1993).

Es una especie decidua, latifoliada, que puede alcanzar una altura promedio de 12 metros. El fuste se caracteriza por presentar numerosos agujijones y gambas, aunque existen variaciones de troncos casi lisos. Su corteza externa es de color grisáceo, mientras que la interna es rojiza. Presenta hojas alternas, digitadamente compuestas, con un promedio de 5 folíolos glabros. El pochote pierde su follaje a finales de Noviembre para reaparecer a mediados de Mayo (Arguedas y Torres, 1995; Navarro, 1989).

*P. quinata*, presenta flores hermafroditas en inflorescencias cimosas con sépalos pentámeros y pubescentes. Las flores son multestaminadas y el estigma sobresale ligeramente las anteras. Las flores abren entre las 17:00 y 19:00 horas, y al amanecer el androceo se desprende del cáliz. El ovario y pistilo permanece adherido a la planta hasta la maduración del fruto. *P. quinata* florece desde mediados de Diciembre hasta finales de Marzo, seguido por un periodo corto de fructificación desde Marzo hasta Abril (Ureña *et al.* 1993; Cascante, 1997).

El fruto es una cápsula dehiscente, oblongo ovoide, pentágona, de color café. Las semillas son de color café, con un diámetro promedio de 5 mm, cubiertas por fascículos lanosos de color café claro. La fructificación es masiva y cada fruto presenta en promedio unas 24.1 ( $\pm 0.9$ ) semillas anemócoras (Ureña *et al.* 1993).

En Costa Rica, el pochote se ha utilizado como una especie comercial desde los años 80, cuando se cultivó en plantaciones a grande escala. Actualmente puede

ser encontrada en poblaciones naturales en la provincia de Guanacaste principalmente en Parques Nacionales. Los individuos fuera de zonas protegidas del Pacífico Norte del país, se encuentran normalmente aislados en potreros o pastizales. Árboles en plantaciones o cercas artificiales pueden encontrarse a lo largo de la costa pacífica.

### **3.2. Poblaciones y Diseño experimental.**

Para evaluar el efecto del aislamiento espacial y la pérdida de bosque sobre el éxito reproductivo y el flujo génico de *P. quinata*, se establecieron tres poblaciones o grupos de estudio: árboles en alta densidad con matriz de bosque, árboles en intermedia densidad en matriz de pastizal y árboles aislados o en baja densidad en matriz de pastizal o potrero.

Las poblaciones de alta densidad son aquellas, en las que hay más de 10 individuos por hectárea. Las poblaciones de pochote en bosque continuo fueron marcadas durante las primeras semanas de Diciembre, 1998, en zonas de bosque maduro dentro del Parque Nacional Sta. Rosa (Area de Conservación Guanacaste ). Estas poblaciones se escogieron ya que presentaban individuos con DAP (diámetro a la altura del pecho) superiores a los 15 cm. Se utilizaron dos poblaciones de *Pachira quinata* dentro del Parque Sta. Rosa; la primera se encuentra en la zona conocida como “Hacienda Sta. Rosa” con un total de 44 individuos adultos, en adelante se denominará “Sta. Rosa”. La segunda población se encuentra en la zona del “Bajo Tigre” camino hacia playa Naranjo, con un total de 24 individuos adultos. Ambas poblaciones están separadas por una distancia de 20 km.

Los árboles en densidad intermedia, ubicados en una matriz de pastizal, se marcaron en la bahía de Cuajiniquil al noroeste de las áreas estudiadas en el Parque Nacional Sta. Rosa. Once individuos se escogieron por presentar madurez reproductiva, una densidad entre 1 y 3 individuos por hectárea y estar inmersos en una matriz de potrero o pastizal.

Los árboles en baja densidad, están ubicados a lo largo de la Carretera Interamericana desde la ciudad de Cañas, hasta el pueblo de “Potrerillos” a 10 Km. al

Sur del Parque Nacional Santa Rosa. Estos individuos se escogieron según los siguientes criterios: **a.** poseer un DAP mayor a 15 cm. **b.** estar separado de algún conoespecífico por no menos de 500 metros y estar alejados de bosques maduros por no menos de 1 kilómetro de distancia. Los árboles aislados normalmente se encontraron a lo largo de la carretera aislados en pastizales o en potreros de gran extensión.

### 3.3. Fenología.

Con el propósito de caracterizar fenológicamente a los individuos de *P.quinata*, se realizaron observaciones en cada árbol la primera y tercera semana de cada mes, desde Diciembre (1998) hasta Mayo de 1999. Se determinó la fase en que se encontraba cada árbol (reproductiva o vegetativa) y se caracterizó la cantidad de follaje en una escala ordinal de 0 a 4 según el método propuesto por Fournier (1974); donde 4 representa cobertura total de la copa por hojas, y 0 la pérdida completa de las mismas.

Durante la fase reproductiva de los árboles, la intensidad de floración se estimó mediante el conteo de estilos en las ramas. Los estilos de flores que abren la noche anterior al censo, pueden ser distinguidos de estilos viejos, ya que éstos presentan una coloración blanquecina y una posición erguida con respecto al ovario; mientras que los estilos viejos se tornan café y pierden su turgencia. Todos los estilos nuevos fueron estimados como el promedio de dos conteos independientes, para cada árbol durante la época de floración. El total de flores producidas por árbol fue estimado como el área total bajo el polígono formado por los conteos quincenales. Este método resulta en valores que se asemejan en magnitud a los obtenidos mediante conteos diarios de flores, para 40 árboles de pochote en 1995 en el Parque Nacional Palo Verde (Quesada *et al.* en preparación). También se determinó el pico de floración para cada individuo, como la fecha con el número más alto de flores determinado.

Posterior a la floración, durante la época de fructificación, se determinó el número de frutos producidos para cada árbol por medio de conteos totales. Los frutos

maduros de *P. quinata*, presentan una coloración café leñosa y cuando dispersan sus semillas, se abren y permanecen adheridos a las rama en forma de estrella. El número total de frutos por árbol, se determinó mediante el promedio de dos conteos simultáneos e independientes. La mayoría de los frutos permanecen adheridos al árbol a lo largo del período reproductivo, por lo que fueron contados varias veces durante el muestreo. No obstante, muchos frutos tienden a caerse entre muestreos (i.e. viento, daño por loras, ardillas). Por esta razón, el número total de frutos producidos por árbol se determinó como el valor máximo de todos los valores quincenales.

Para evaluar el efecto que tiene la época en que los árboles alcanzan su punto máximo de reproducción, sobre el éxito reproductivo de *P. quinata*, se establecieron tres episodios o grupos fenológicos. Suponiendo que la dinámica de floración de esta especie, tanto a nivel de individuo como a nivel de población, puede ser representada como una distribución normal, donde se relaciona la frecuencia de árboles en pico de floración versus la fecha de floración; se puede determinar una fecha promedio de floración para la población en estudio. El primer grupo o episodio fenológico se define como aquellos árboles cuyo punto máximo de floración se de una desviación estándar antes de la fecha promedio de floración para la población de estudio ( $z_i < \mu - \sigma$ ). El segundo grupo lo comprenden aquellos individuos que se reproduzcan dentro 1 desviación estándar del promedio, en cualquier dirección ( $\mu \pm \sigma$ ). El tercer episodio reproductivo lo comprenden los árboles cuyo pico de floración se de una desviación estándar después de la fecha promedio de floración para la población ( $z_i > \mu + \sigma$ ). A pesar de que la floración de individuos en distintos grupos se puede traslapar en los extremos de sus distribuciones, el pico de floración de los individuos en un grupo fenológico está separado por al menos 3 semanas del siguiente grupo. Los árboles fueron asignados a un grupo fenológico según el promedio de la población a la cual pertenecían.

### 3.4. Colecta de frutos y extracción de semillas.

Los frutos maduros de *P. quinata* se colectaron desde finales de Febrero hasta la segunda semana de Mayo de 1999. Mediante el uso de podadoras de extensión y sierras manuales, se obtuvieron las cápsulas maduras para cada fecha de colecta, sin dañar significativamente los otros frutos en desarrollo. Las cápsulas se recolectaron en bolsas de papel y se identificaron según el árbol madre y la fecha de colecta.

Los frutos se transportaron al Laboratorio de Genética de la Escuela de Biología, donde se extrajeron sus semillas. El número de semillas viables y el número de semillas abortadas, se determinó para todos los fruto maduros colectados. *P. quinata* presenta semillas secas y esféricas de unos 5 milímetros en diámetro, de coloración café oscura (Ureña *et al.*, 1993). Las semillas abortadas son de menor tamaño y presentan una superficie rugosa; además su coloración tiende a ser más clara y usualmente no presentan un embrión desarrollado o están huecas.

### 3.5. Análisis genético.

Con el propósito de estudiar los efectos que presentan el aislamiento espacial y fenológico sobre la estructura genética de la progenie, se realizó un estudio de variación genética de isoenzimas en geles de almidón. Se seleccionaron al azar cuatro semillas por fruto y diez frutos por árbol, para todos los árboles de la muestra. Este muestreo es apropiado para determinar el genotipo materno y el número de donadores de polen involucrados en la producción de un fruto (Ritland 1989).

Las semillas extraídas de los frutos maduros se germinaron en cajas de petri hasta que la radícula rompiera la testa seminal. Solamente las plántulas que germinaron fueron homogenizadas utilizando el buffer de extracción N°1 propuesto por Alfenas *et al.*( 1991). El homogenizado fue filtrado y absorbido en tiras de papel absorbente (“wicks”) de 7 x 4 mm de ancho y éstas se aplicaron a geles de almidón al 10% (10% w/v almidón, 2% sucrosa) para realizar la electroforesis. Para estimar los genotipos multiloci de los individuos de *P. quinata*, se analizaron 16 sistemas

enzimáticos: alcohol deshidrogenasa (ADH: 1.1.1.1), aspartato aminotransferasa (AAT: 2.6.1.1.), diaforasa (DIA: 1.8.1.4), esterasa (EST: 3.1.1.1.), Fosfatasa ácida (ACP: 3.1.3.2.), Fosfoglucomutasa (PGM: 2.7.5.1), 6-Fosfogluconato deshidrogenasa (6PGDH: 1.1.1.44), Fosfoglucosa isomerasa (PGI: 5.3.1.9), Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH: 1.1.1.49), Glutamato deshidrogenasa (GDH: 1.4.1.3), Hexoquinasa (HK: 2.7.1.1), Isocitrato deshidrogenasa (IDH: 1.1.1.42), Leucina aminopeptidasa (LAP: 3.4.11.1), Malato deshidrogenasa (MDH: 1.1.1.37), Menadione reductasa (MR: 1.6.99.2), y, Xiquimato deshidrogenasa (SKDH: 1.1.1.25). La técnica de electroforesis, las soluciones amortiguadoras utilizadas y los procedimientos de tinción se realizaron según las recomendaciones propuestas por Wendel y Weeden (1986).

### 3.6. Análisis estadístico.

#### 3.6.1. Análisis genéticos.

Los genotipos maternos se infirieron a partir de los genotipos de la progenie, según el procedimiento propuesto por Brown y Allard (1970). Además, se estimó la heterocigocidad esperada y la proporción de loci polimórficos (P). Un locus fue considerado polimórfico cuando se distinguió claramente un segundo alelo en la muestra. Con el propósito de determinar los niveles de diferenciación génica entre las poblaciones las estadísticas F propuestas por Wright (1951) según el procedimiento descrito por Weir y Cockerham (1984) y el programa TFPGA (Mark, 1997). Se calcularon errores estándar, para dichas estadísticas mediante la técnica de Jacknife, donde se elimina cada locus secuencialmente. La  $H_0: F = 0$ , se evalúa mediante pruebas de t-student.

Dos parámetros genéticos fueron estimados a partir de la progenie producida por los árboles de *P. quinata*: la tasa multiloci de exocruzamiento ( $t_m$ ) y la correlación de paternidad ( $r_p$ ). Ambos estadísticos se calculan para semillas producidas dentro de un fruto y entre frutos. La tasa de exocruzamiento se entiende

como la proporción de semillas que son originadas por polinización cruzada. El estimado  $t_m$  se obtiene por máxima verosimilitud, a partir de la función.:

$$L(\mathbf{X}, \mathbf{P}) = \mathbf{1}^T (\mathbf{X} \cdot \ln(\mathbf{P}))$$

donde  $\mathbf{X}$  es la matriz de genotipos observados y la matriz  $\mathbf{P}$  es la ecuación de probabilidad:

$$\mathbf{P} = (1 - t)\mathbf{S} + t\mathbf{T}$$

donde  $\mathbf{S}$  y  $\mathbf{T}$  son las matrices de transición madre-hijo para progenie originada por autofertilización y fertilización cruzada, respectivamente (Ritland y Jain, 1981). Dado que  $\mathbf{P}$  depende de  $t$  y de las frecuencias alélicas, los valores de  $\mathbf{P}$  se ajustan hasta obtener un valor máximo. Esto se realiza mediante un proceso iterativo según el método Newton-Rapson (Ritland, 1989).

La correlación de paternidad cruzada se entiende como la proporción de hermanos completos entre la progenie producida por polinización cruzada (Ritland, 1989). Este estadístico se estima a partir de  $f$  (la correlación de gametos paternos) como:

$$r_p = \left( \frac{2}{1 + F} \right) f$$

donde  $F$  es el coeficiente de endogamia de los padres en la población. Los valores de  $r_p$  varían entre 0 y 1, indicando una que toda la progenie la comprenden medios hermanos o hermanos completos, respectivamente.

Se obtienen valores de  $t_m$  y  $r_p$ , tanto entre como dentro de frutos; para las distintas poblaciones y los tres grupos fenológicos utilizando el programa MLTR propuesto por Ritland y Jain (1981). Los errores estándar para ambos estadísticos se obtienen mediante la técnica de remuestreo “Bootstrap”, con 100 repeticiones y utilizando árbol como la unidad de remuestreo.

Los parámetros  $t_m$  y  $r_p$  se comparan mediante una prueba de t-student, con  $b-2$  grados de libertad, donde  $b$  es el número de bootstraps realizados para estimar sus errores estándar (Hoel, 1971):

$$t_{r_p} = \frac{|\theta_1 - \theta_2|}{s_{\theta_1 - \theta_2}}$$

los valores  $\theta_1$  y  $\theta_2$  se refieren al parámetro  $t_m$  o  $r_p$ , para el grupo 1 y 2 respectivamente. El denominador se define como el error estándar de la diferencia, el cual según Zar (1996), se detalla como:

$$s_{\theta_1 - \theta_2} = s_{\theta_1} + s_{\theta_2}$$

Dado que se realizarán varias pruebas de t-student, para comparar los distintos grupos fenológicos y las diferentes poblaciones, los valores de alfa se ajustarán mediante el método de Bonferroni.

El número de apareamientos efectivos que explican los genotipos filiales se analizaron según el modelo propuesto por Lobo y Kerr (1993). El número de apareamientos y su varianza se obtiene mediante el método de máxima verosimilitud. Las poblaciones y los grupos fenológicos mediante pruebas de t-student como se ha descrito anteriormente (Zar, 1996).

### 3.6.2. Modelos lineales generalizados (MLG).

Las variables de éxito reproductivo (producción de frutos y semillas) fueron analizadas mediante modelos lineales generalizados (Breslow y Clayton, 1993). Los modelos lineales generalizados son modelos similares a la Regresión o al Análisis de Varianza, no obstante, estos no suponen que las variables dependientes son continuas, ni que sus distribuciones son normales. Estos modelos proponen estimar una variable respuesta,  $Y$ , a partir de una función lineal de un grupo de valores:  $x_1, x_2, \dots, x_p$ ; provenientes de variables  $X_1, X_2, \dots, X_p$ . La función respuesta es denominada la función ligamen ( $g(\mu)$ ):

$$g(\mu) = \beta_0 + \sum_{i=1}^p \beta_i x_i$$

Los coeficientes  $\beta_i$  de regresión, comparan el efecto de cada factor (e.g. poblaciones) con un factor base, escogido al azar, cuyo efecto es 0 por definición (Breslow y Clayton, 1993). De esta manera, los coeficientes se interpretan como valores comparativos entre un factor  $a_i$  y el factor base. Si el coeficiente de regresión es mayor a cero, se supone que el nivel aumenta el valor de la variable dependiente, mientras que coeficientes inferiores a cero, reducen el valor de la variable dependiente.

### 3.6.3. Análisis del éxito reproductivo.

Con el propósito de determinar el efecto del aislamiento espacial y fenológico sobre el éxito reproductivo femenino; éste se estudió utilizando las variables: producción de frutos y producción de semillas, para cada árbol en la muestra, como variables dependientes en modelos lineales generalizados.

La producción de frutos para cada árbol se determinó como la probabilidad de que una flor produjera un fruto ( $Pr = \text{Total de frutos producidos por el árbol} / \text{Total de flores producidas por el árbol}$ ). El efecto de población, grupo fenológico y su interacción, como factores fijos del modelo, se estudió mediante un MLG con función de ligamen tipo "logit":

$$g(\mu) = \text{logit}(p) = \alpha + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_{12} x_{12} + \varepsilon$$

donde  $p$  es la probabilidad de que una flor desarrolle un fruto,  $x_1$  es la variable "Población",  $x_2$  es la variable "grupo fenológico",  $x_{12}$  es la interacción entre Población y grupo fenológico. Finalmente  $\varepsilon$  es el componente de varianza residual.

El número de semillas aparentemente viables producidas por fruto dentro de cada árbol, se estudió mediante un modelo lineal, con población y grupo fenológico como factores fijos. El factor árbol, se estudia como un factor aleatorio, y se calcula su componente de variación. La significancia de dicho componente se estima mediante una prueba de t-student, con  $n-1$  grados de libertad, donde  $n$  es el número de árboles analizados. Dado que los conteos usualmente siguen una distribución Poisson, el modelo lineal generalizado utiliza una función de ligamen logarítmica:

$$g(\mu) = \log(n) = \alpha + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 + \beta_{12} x_{12} + \varepsilon$$

donde  $n$  es el número de semillas,  $x_1$  es la variable "Población",  $x_2$  es la variable "grupo fenológico",  $x_3$  es el factor árbol,  $x_{12}$  es la interacción entre Población y grupos fenológico, y  $\varepsilon$  es el componente de varianza residual.

Ambos modelos lineales se resuelven mediante verosimilitud máxima residual (REML, Gleeson y Cullis, 1987), utilizando el paquete estadístico ASREML (Gilmour *et al.*, 1998). En general, los estimadores de parámetros se presentan  $\pm$  sus errores estándar, o éstos entre paréntesis.

## 4. RESULTADOS.

### 4.1. Poblaciones y Grupos fenológicos.

Con el propósito de caracterizar fenológicamente todos los árboles de *P. quinata*, se siguió la fenología de un total de 91 árboles de *P. quinata*, distribuidos en 4 poblaciones: Bajo del Tigre, Hacienda Sta. Rosa, Carretera Interamericana y Cuajiniquil. Las poblaciones presentaron diferencias en el número de árboles estudiados, con el mayor número de individuos en la Hacienda Sta. Rosa; y el menor en la zona de Cuajiniquil (Cuadro 1).

Los árboles de *P. quinata* perdieron sus hojas a mediados de Diciembre, y comenzaron paulatinamente a producir flores (Figura 1). Según la fase fenológica que domina la copa de cada árbol, la floración se extendió desde Enero hasta principios de Marzo. Una vez terminada la floración, se dio una fructificación masiva de aproximadamente un mes. Las nuevas hojas se produjeron a finales de Mayo (Figura 1).

El pochote (*P. quinata*) produce en promedio un total de 4500 ( $\pm$  814.4) flores a lo largo del episodio reproductivo. La producción máxima de flores para un individuo fue de 20000 flores y la mínima de 36. En promedio un árbol de *Pachira quinata* produjo 150 frutos maduros ( $\pm$  33.8), con un rango que va desde árboles con 0 frutos hasta individuos cuya producción excede los 1500 frutos maduros.

Se determinó el pico de floración para cada árbol como la fecha en que se contó el mayor número de flores producidas. En general el número de flores producidas en el pico del episodio reproductivo comprendió en promedio  $42.1 \pm 1.3$  % de la producción total de flores para cada individuo. La distribución de árboles en su pico de floración varía según la población en que se encuentren (Figura 2). La fecha promedio en que la mayoría de individuos se encontraban en su pico de floración, se determinó mediante un promedio de días (1 = el primer día de muestreo,

121 = el último), ponderado por el número de individuos en su punto máximo de floración por población. El día promedio de floración para los árboles en la población de Cuajiniquil y los de la carretera Interamericana fue el 4 de Marzo con 4.5 y 3.2 días de desviación estándar, respectivamente. La mayoría de individuos florecieron el 6 de Marzo en la población del Tigre ( $\pm 3.04$  días) y el 14 de Marzo en la población de Sta. Rosa ( $\pm 4.32$  días). El día promedio de floración sí difirió entre poblaciones ( $F_{[3, \infty]} = 603.1$ ;  $p < 0.0001$ ), principalmente por el desvío en Sta. Rosa (Figura 2). Dado que los muestreos se hicieron quincenalmente, aquellos árboles cuyo pico de floración se anotó quince días o más antes de la fecha promedio de su población, se clasificaron como: “Tempranos”. Aquellos individuos cuyo pico de floración se encontró 15 ó más días después de su promedio poblacional, se denominaron “Tardíos”. En total hubo 21 árboles “Tardíos”, 30 “Pico” y 40 “Tempranos” (Cuadro 1).

La producción de flores varió según la población en la que se encontraban ( $F = 9.093$ ; g.l. = 3, 86;  $p < 0.0001$ ). La población de Sta. Rosa presentó la menor producción de flores por árbol entre las cuatro poblaciones ( $x = 1504$ ;  $s_x = 200$ , Figura 3), mientras que los árboles en la población de Cuajiniquil produjeron, en promedio, el mayor número de flores por árbol ( $x = 10803$ ;  $s_x = 4284.8$ ; Figura 3). La producción de flores fue similar entre las poblaciones (el Tigre, Cuajiniquil y Carretera Interamericana, cuando se realizaron comparaciones "a posteriori", mediante una prueba de Tukey (HSD). De la misma manera, se observó que la producción de flores fue significativamente mayor en los árboles pertenecientes al grupo fenológico Tardío ( $x = 11140.8$ ;  $s_x = 3134.7$ ), que en los árboles Pico ( $x = 4885.3$ ;  $s_x = 1660.1$ ) y los árboles Temprano ( $x = 3822.0$ ;  $s_x = 1220.9$ ;  $F = 3.12$ ; g.l. = 2, 84;  $p = 0.049$ ; Figura 4)

#### **4.2. Éxito reproductivo femenino.**

Con el propósito de determinar el efecto del aislamiento espacial y fenológico sobre la producción de frutos y semillas, el éxito reproductivo femenino se determinó

como: la proporción de flores que produjeron frutos, y el número de semillas, aparentemente viables, producidas por fruto. La “Hacienda Sta. Rosa” fue eliminada del cálculo de éxito reproductivo, dado que tuvo una tasa de aborto de frutos desproporcionada, en comparación con años anteriores (observación personal). En el año anterior (1998), se colectó un mínimo de 30 frutos por árbol en la población de Sta. Rosa, donde en algunos árboles se llegó a colectar un máximo de 50 frutos. No obstante, este año, la mayoría de los frutos fueron abortados antes de alcanzar la madurez.

#### 4.2.1. Producción de frutos.

Los árboles de pochote analizados en 1999 produjeron muchas más flores de lo que produjeron frutos. En total sólo el 4% de las flores llegan a madurar un fruto, no obstante, esto varía entre poblaciones.

Los coeficientes de regresión indican que la probabilidad de que una flor desarrollara un fruto fue significativamente mayor para árboles en la población de Cuajiniquil (Cuadro 2). El 4.94 % ( $\pm 0.07$ ) de las flores desarrolla un fruto en la población de Cuajiniquil, mientras que tan solo el 0.85% ( $\pm 0.06$ ) lo hacen en la población del Tigre (Figura 5.). La producción de frutos fue significativamente mayor en árboles cuyo pico de floración estuvo después del promedio de su población (datos). Las flores de los árboles con fenología tipo Pico y Temprano, maduran un 3.53% ( $\pm 0.07$ ) y 3.61% ( $\pm 0.06$ ), respectivamente (Figura 6, Cuadro 2).

Los árboles que en el Tigre tuvieron una floración temprana, desarrollaron una proporción de frutos significativamente menor a árboles de floración Pico o tardía. Es decir, la población del Tigre, aumentó la producción de frutos por flor, conforme avanzó el episodio reproductivo. Lo contrario ocurrió con los árboles tempranos en la población de Cuajiniquil; donde la probabilidad de desarrollar un fruto fue significativamente mayor en árboles de floración temprana (Cuadro 2). Por lo tanto, la población de Cuajiniquil tiene la mayor producción de frutos por flor al inicio del período reproductivo, mientras que el Tigre lo presentó al final.

#### 4.2.2. Producción de semillas.

En promedio se produjeron 24.015 semillas buenas por fruto ( $\pm 0.923$ ) y 9.550 ( $\pm 0.516$ ) semillas abortadas. El número promedio de semillas por población y por grupos fenológicos puede observarse en las Figuras 7 y 8. Se puede observar (Figuras 9 y 10) que los árboles con mayor producción de semillas se encuentran en la población del Tigre y el grupo fenológico Pico, sin embargo, también lo hacen los árboles con los mayores niveles de variación.

Ni el aislamiento espacial, ni el aislamiento fenológico lograron explicar la variación en la producción de semillas por fruto. La mayor parte de la variación en el número de semillas viables se debe al factor árbol, como lo demuestra su componente de variación ( $\sigma^2_{\text{árbol}} = 0.745 \pm 0.197$ ,  $t_{[39]} = 3.78$ ;  $p = 0.0005$ ; Cuadro 3.). La interacción de los factores fenología y población, produce coeficientes que no difieren significativamente de cero (Cuadro 3), por lo que la producción de semillas es similar en cada población a través de los diferentes grupos fenológicos.

#### 4.3. Estructura genética.

En total se analizaron 16 loci hipotéticos, de los cuales sólo 7 enzimas presentaron resolución electroforética y un polimorfismo interpretable en términos de una relación clara entre zimogramas proteicos y genotipos monogénicos (Cuadro 4). Un total de 30 árboles y 627 semillas fueron analizados.

Se observó una menor deficiencia de heterocigotas en la población del Tigre, comparado con las poblaciones de Cuajiniquil y Carretera Interamericana (Cuadro 5). Los árboles cuyo pico de floración fue Temprano, tendieron a presentar una deficiencia significativa de heterocigotas, comparado con árboles de floración Pico y Tardía (Cuadro 5).

Todos los loci presentaron equilibrio Hardy-Wienberg, con excepción de la GPI (1) ( $\chi^2 = 7.8431$ , g.l. = 1 ;  $p = 0.0051$ ) y la LAP ( $\chi^2 = 83.0809$ , g.l. = 1 ;  $p \leq$

0.00001), donde se observó un exceso de homocigotas. Finalmente, las estadísticas  $F$  sugieren que existe cierto grado de diferenciación entre poblaciones ( $F_{ST1} = 0.0513 \pm 0.0156$ ;  $t = 3.28$ ; g.l. = 6;  $p = 0.017$ ) y entre fenofases ( $F_{ST2} = 0.0149 \pm 0.006$ ;  $t = 2.5$ ; g.l. = 6;  $p = 0.047$ ), ambos parámetros difieren de cero, más no lo hacen entre sí ( $t = 1.68$ ; g.l. = 10;  $p = 0.123$ ). No existen niveles significativos de endogamia dentro de las distintas poblaciones ( $F_{IS1} = 0.1042 \pm 0.0676$ ;  $t = 1.54$ ; g.l. = 6;  $p = 0.174$ ), ni dentro de los grupos fenológicos ( $F_{IS2} = 0.1272 \pm 0.0742$ ;  $t = 1.71$ ; g.l. = 6;  $p = 0.138$ ).

Los niveles de exogamia sugieren que el pochote presenta un sistema de apareamiento predominantemente exocruzado ( $t_m = 0.814 \pm 0.057$ ). La proporción de semillas originadas por polinización cruzada no difirió estadísticamente de 1.0 ( $t = 3.26$ ; g.l. = 99;  $p = 0.0015$ ). La proporción de semillas hermanas-completas dentro de un mismo fruto, fue  $r_p = 0.872 \pm 0.117$ , la proporción observada no difiere de una donde el 100% de las semillas son hermanas completas ( $t = 1.09$ ; g.l. = 99;  $p = 0.28$ ). La correlación de paternidad para semillas entre frutos fue  $r_p = 0.723 \pm 0.121$  ( $t = 2.29$ ; g.l. = 99;  $p = 0.024$ ).

La proporción de semillas originadas por exogamia ( $t_m$ ) no difirió entre las tres poblaciones estudiadas (Cuadro 6). Se observó una tendencia no significativa a un incremento en los niveles de autogamia, por parte de los árboles en la Carretera Interamericana. Los niveles de exocruzamiento fueron similares para los árboles, sin importar el momento de su pico de floración. Los árboles de floración Pico, tienden a demostrar un leve incremento en la proporción de semillas exogámicas (Cuadro 7).

La correlación de paternidad ( $r_p$ ) entre semillas del mismo fruto fue menor para árboles en la población del Tigre, aunque esta diferencia no fue significativa (Cuadro 6). Paralelamente, la proporción de hermanos completos en los frutos de árboles en las poblaciones de Cuajiniquil y Carretera Interamericana no difirió del 100%. En la población del Tigre las semillas pertenecientes a distintos frutos tuvieron menos probabilidad de ser hermanas completas, que árboles en la Carretera Interamericana ( $t = 2.22$ ; g.l. = 99;  $p = 0.03$ ) o en Cuajiniquil ( $t = 2.27$ ; g.l. = 99;  $p =$

0.02; Cuadro 6). Esto sugiere que la progenie de árboles inmersos en bosque continuo, fue originada por un grupo más diverso de donadores de polen.

Fenológicamente, se observó que la correlación de paternidad en semillas extraídas del mismo fruto fue similar para los tres grupos fenológicos (Cuadro 7). Para progenie 'entre frutos', la correlación de paternidad fue menor en árboles Pico, que en árboles Tempranos, no obstante dicha diferencia no fue significativa para un alfa de 0.05 ( $t = 1.39$ ; g.l. = 99;  $p = 0.167$ ). La progenie de árboles Tempranos y Tardíos fue similar en el número de donadores que la origina (Cuadro 7;  $t = 0.63$ ; g.l. = 99;  $p = 0.531$ ).

El número de apareamientos independientes que explica los genotipos filiales fue significativamente mayor en las poblaciones del Tigre comparado con los árboles en la carretera Interamericana ( $t = 2.198$ ; g.l. = 17;  $p = 0.04$ ; Cuadro 8.). El número de apareamientos en los árboles del Tigre no difirió del número de apareamientos estimados para la población de Cuajiniquil ( $t = 0.964$ ; g.l. = 16;  $p = 0.35$ ). Los árboles dentro de Cuajiniquil presentaron el mismo número de apareamientos que los árboles en la Carretera ( $t = 1.11$ ; g.l. = 17;  $p = 0.28$ ). Estos resultados concuerdan con lo estipulado por los valores de correlación de paternidad (Cuadro 8). Los grupos fenológicos tuvieron el mismo número de apareamientos efectivos ( $F = 0.300$ ; g.l. = 2, 23;  $p = 0.743$ , Cuadro 8.).

## CUADRO 1.

TOTAL DE ÁRBOLES DE PACHIRA QUINATA ANALIZADOS FENOLÓGICAMENTE  
SEGÚN LOCALIDAD Y GRUPO FENOLÓGICO PARA  
EL PERÍODO REPRODUCTIVO DE 1999.

<i>Zona</i>	<i>Fenología</i>			<i>Total</i>
	<i>Temprano</i>	<i>Pico</i>	<i>Tardío</i>	
Bajo del Tigre	5	13	5	23
Hacienda Sta. Rosa	9	19	5	33
Carretera Interamericana	6	13	3	22
Bahía de Cuajiniquil	5	4	2	11
<i>Total</i>	25	49	15	89

**CUADRO 2.**

COEFICIENTES DE REGRESIÓN LINEAL ESTIMADOS ( $\pm$  E.S) PARA LA VARIABLE DEPENDIENTE; PROBABILIDAD DE QUE UNA FLOR PRODUZCA UN FRUTO. SE ANALIZAN LOS FACTORES POBLACIÓN Y GRUPO FENOLÓGICO. LA POBLACIÓN CARRETERA INTERAMERICANA Y EL GRUPO FENOLÓGICO TEMPRANOS SON LOS NIVELES BASE.

<b>Factor</b>	<b>Coefficiente</b>	<b>E.S.</b>	<b>t</b>
<b>Tigre</b>	- 1.4768	0.082	18.12**
<b>Cuajiniquil</b>	0.3265	0.024	13.52**
<b>Interamericana</b>	0	0	N.A.
<b>Temprano</b>	0	0	N.A. <sup>†</sup>
<b>Pico</b>	- 0.0239	0.029	0.84 <sup>NS</sup>
<b>Tardío</b>	0.4228	0.067	6.29**
<b>INTERACCIÓN</b>			
<b>Cuajiniquil * Pico</b>	-1.4684	0.0523	28.10**
<b>Cuajiniquil * Tardío</b>	-1.3406	0.1406	9.53**
<b>Tigre * Pico</b>	1.6475	0.0905	18.19**
<b>Tigre * Tardío</b>	1.4009	0.1096	12.78**

<sup>†</sup>: No aplica.

\*:  $p < 0.05$  para estadístico "t" con hipótesis nula:  $H_0: \beta = 0$ .

\*\* :  $p < 0.01$  para estadístico "t" con hipótesis nula:  $H_0: \beta = 0$ .

N.S. : valor del estadístico "t", no significativo para un alfa de 0.05.

**CUADRO 3.**

COEFICIENTES ESTIMADOS ( $\pm$  E.S) PARA LA VARIABLE DEPENDIENTE; NÚMERO DE PROMEDIO SEMILLAS VIABLES POR FRUTO Y ÁRBOL. SE ANALIZAN LOS FACTORES POBLACIÓN, GRUPO FENOLÓGICO Y ÁRBOL. LA POBLACIÓN CARRETERA INTER-AMERICANA Y EL GRUPO FENOLÓGICO TEMPRANOS SON LOS NIVELES BASE. EL FACTOR ÁRBOL SE ANALIZA COMO UN FACTOR ALEATORIO.

<b>Factor</b>	<b>Coefficiente</b>	<b>E.S.</b>	<b>t</b>
<b>Tigre</b>	- 0.5086	0.438	1.16 <sup>NS</sup>
<b>Cuajiniquil</b>	0.5689	0.923	0.62 <sup>NS</sup>
<b>Interamericana</b>	0	0	N.A. <sup>†</sup>
<b>Temprano</b>	-0.1616	0.542	0.30 <sup>NS</sup>
<b>Pico</b>	0	0	N.A. <sup>†</sup>
<b>Tardío</b>	-0.1380	0.601	0.23 <sup>NS</sup>
<b>INTERACCIÓN</b>			
<b>Cuajiniquil * Temprano</b>	-0.8393	1.091	0.77 <sup>NS</sup>
<b>Cuajiniquil * Tardío</b>	-0.1640	1.363	0.12 <sup>NS</sup>
<b>Tigre * Temprano</b>	1.0224	0.728	1.40 <sup>NS</sup>
<b>Tigre * Tardío</b>	0.0553	0.772	0.07 <sup>NS</sup>
	<b>Componente de variación</b>	<b>E.S.</b>	<b>t</b>
<b>Arbol</b>	0.745	0.197	3.78**

<sup>†</sup> : No aplica.

\*:  $p < 0.05$  para estadístico "t" con hipótesis nula:  $H_0: \beta = 0$ .

\*\* :  $p < 0.01$  para estadístico "t" con hipótesis nula:  $H_0: \beta = 0$ .

N.S. : valor del estadístico "t", no significativo para un alfa de 0.05.

### CUADRO 4.

SISTEMAS ENZIMÁTICOS RESUELTOS PARA *PACHIRA QUINATA*. NÚMERO DE ALELOS OBSERVADOS PARA CADA SISTEMA Y SOLUCIONES TAMPÓN UTILIZADAS. 1999.

Enzima	Nº de alelos	Soluciones tampón y pH
ADH	2	Tris-HCl (8.6 – 8.6*)
AAT	4	Litio-Borato (8.1 – 8.5)
Est (flurogénica)	3	Litio-Borato (8.1 – 8.5)
GPI (1)	2	Litio-Borato (8.1 – 8.5)
GPI (2)	2	Litio-Borato (8.1 – 8.5)
SKDH	4	Tris-Citrato (6.3 – 6.7)
LAP	4	Tris-Citrato (6.3 – 6.7)

\*: Se refiere al pH de la solución del electrodo y el gel, respectivamente.

### CUADRO 5.

HETEROCIGOSIDAD OBSERVADA, ESPERADA (EHW) E ÍNDICES DE FIJACIÓN PARA LAS TRES POBLACIONES Y LOS TRES GRUPOS FENOLÓGICOS. 1999.

Grupo	H <sub>O</sub>	H <sub>E</sub>	F
El Tigre	0.3755	0.4032	0.0687
Carretera Interamericana	0.3675	0.4096	0.1028
Cuajiniquil	0.3145	0.3580	0.1215
Temprano	0.3065	0.3831	0.1999*
Pico	0.3846	0.4161	0.0757
Tardío	0.3655	0.4004	0.0872
Total	0.3521	0.4049	0.1304

\*  $p < 0.05$ . Prueba chi-cuadrado para  $H_0: F = 0$ .

### CUADRO 6.

INDICE DE EXOGAMIA MULTILOCUS ( $T_M$ ) Y CORRELACIÓN DE PATERNIDAD ( $R_P$ )  
ESTIMADOS PARA LAS DISTINTAS POBLACIONES, UTILIZANDO SEMILLAS  
ENTRE FRUTOS Y DENTRO DE FRUTOS. E.S. SE DAN EN PARÉNTESIS.

Población	$t_m$	$r_p$	
		Dentro de Frutos	Entre Frutos
<b>Tigre</b>	0.918 <sup>††</sup> (0.061)	0.638 <sup>b‡</sup> (0.096)	0.252 <sup>c‡</sup> (0.037)
<b>Cuajiniquí</b>	0.823 <sup>*</sup> (0.163)	0.990 <sup>b</sup> (0.160)	0.685 <sup>d</sup> (0.153)
<b>Interamericana</b>	0.780 <sup>*</sup> (0.092)	0.923 <sup>b</sup> (0.129)	0.560 <sup>d</sup> (0.102)

†: valores con la misma letra no difieren estadísticamente entre sí.

‡: valores con la misma letra no difieren estadísticamente entre sí

### CUADRO 7.

INDICE DE EXOGAMIA MULTILOCUS ( $T_M$ ) Y CORRELACIÓN DE PATERNIDAD ( $R_p$ ) PARA  
LOS DISTINTOS GRUPOS FENOLÓGICOS, UTILIZANDO SEMILLAS ENTRE  
FRUTOS Y DENTRO DE FRUTOS. E.S. SE DAN ENTRE PARÉNTESIS.

Población	$t_m$	$r_p$	
		Dentro de Frutos	Entre Frutos
Temprano	0.702 <sup>e†</sup> (0.085)	0.990 <sup>‡</sup> (0.097)	0.875 <sup>‡</sup> (0.139)
Pico	0.898 <sup>e</sup> (0.049)	0.881 <sup>f</sup> (0.139)	0.502 <sup>g</sup> (0.129)
Tardío	0.775 <sup>e</sup> (0.175)	0.933 <sup>f</sup> (0.150)	0.690 <sup>g</sup> (0.155)

†: valores con la misma letra no difieren estadísticamente entre sí.

‡: valores con la misma letra no difieren estadísticamente entre sí

**CUADRO 8.**

PROMEDIO Y ERROR ESTÁNDAR PARA EL NÚMERO DE APAREAMIENTOS QUE MAXIMIZAN LA PROBABILIDAD DE LOS GENOTIPOS FILIALES; SEGÚN LA POBLACIÓN Y EL GRUPO FENOLÓGICO AL QUE PERTENEZCAN LOS ÁRBOLES. 1999.

<b>Grupo</b>	<b>Promedio</b>	<b>E.S.</b>
El Tigre	6.6	1.05
Carretera Interamericana	3.0	0.60
Cuajiniquil	4.7	0.94
Temprano	5.1	1.30
Pico	5.5	1.31
Tardío	4	0.93

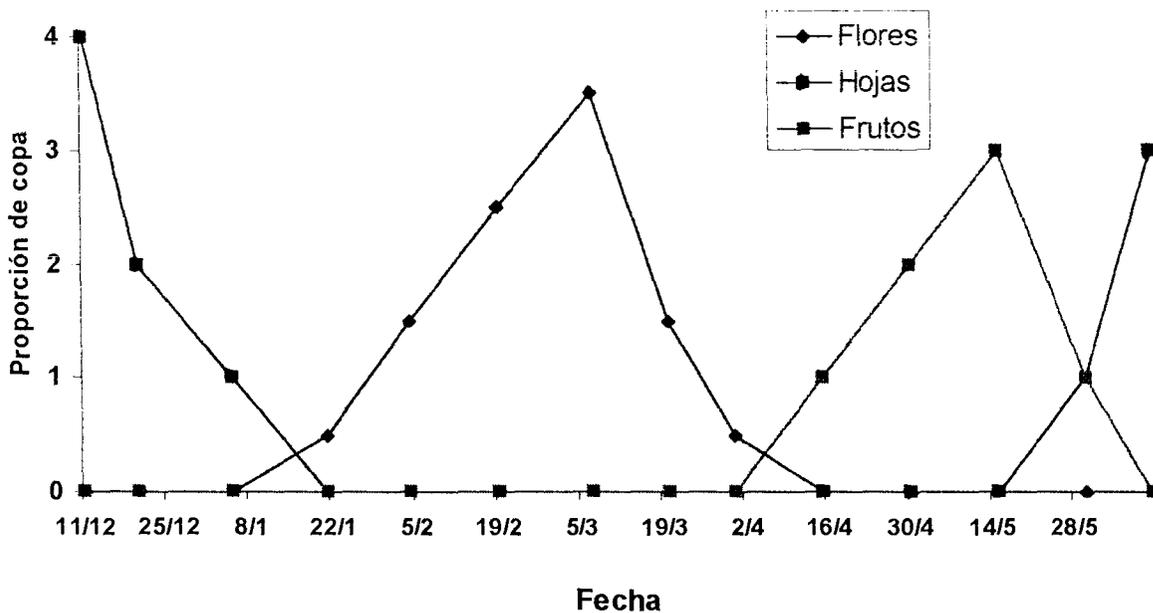


Figura 1. Proporción de la copa de *Pachira quinata* (1 = 0% a 25%; 2 = 25% a 50%; 3 = 50% a 75%; 4 = 75% a 100%) que se encuentra cubierta por hojas, flores o frutos según la fecha. El valor expuesto es la moda (Mo) de la muestra. 1999.

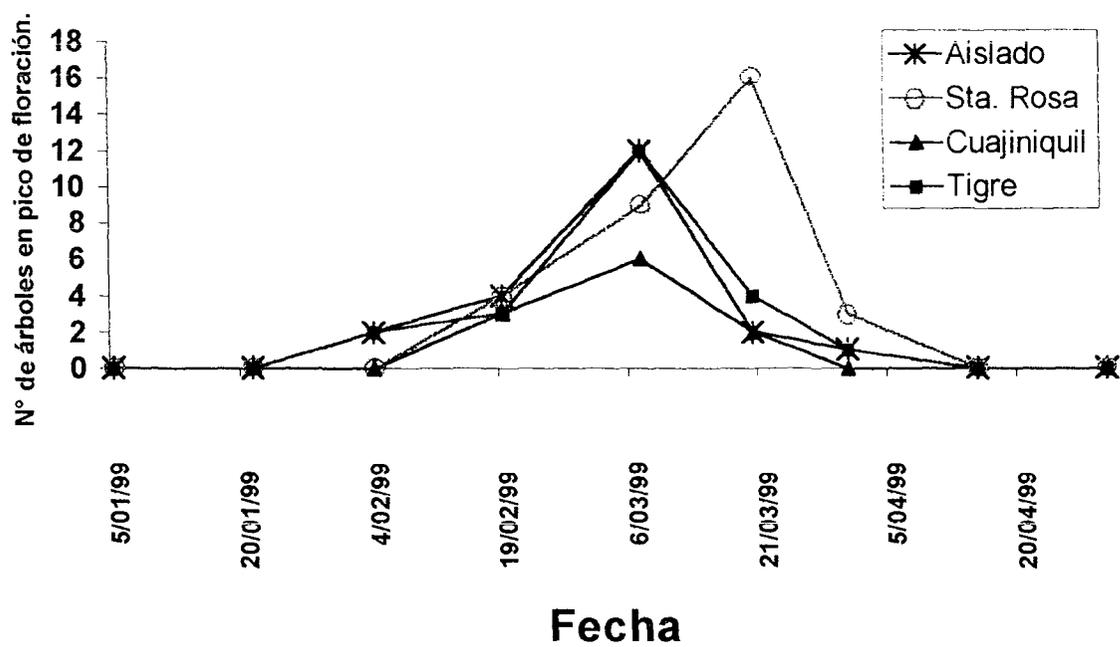


Figura 2. Número de árboles de *P. quinata*, en su punto máximo de floración según la fecha de muestreo y las distintas poblaciones estudiadas en el episodio reproductivo de 1999.

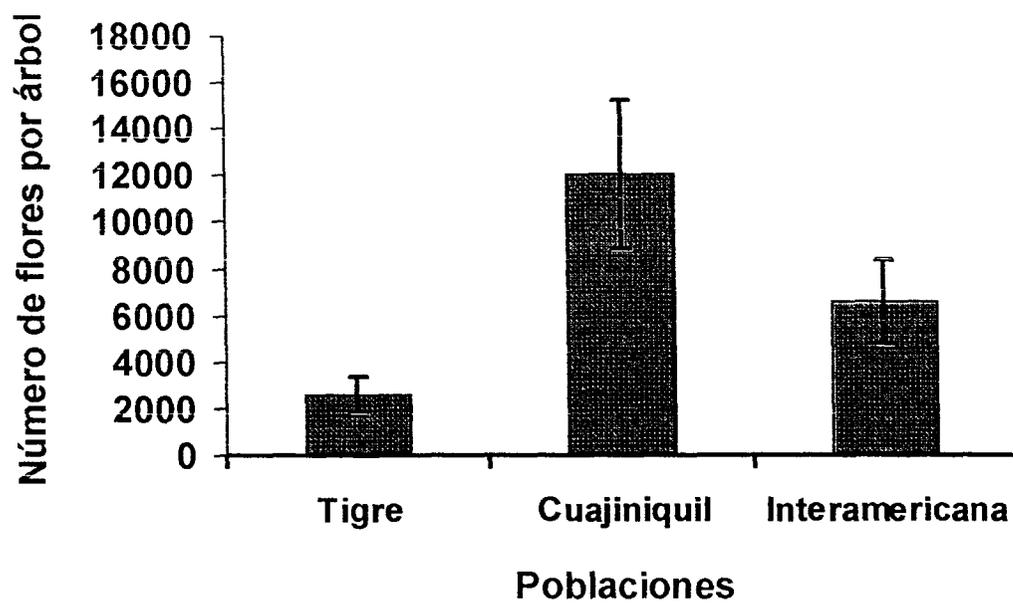


Figura 3. Número promedio de flores producidas por los árboles de *Pachira quinata* según la población en la que se encuentren. 1999.

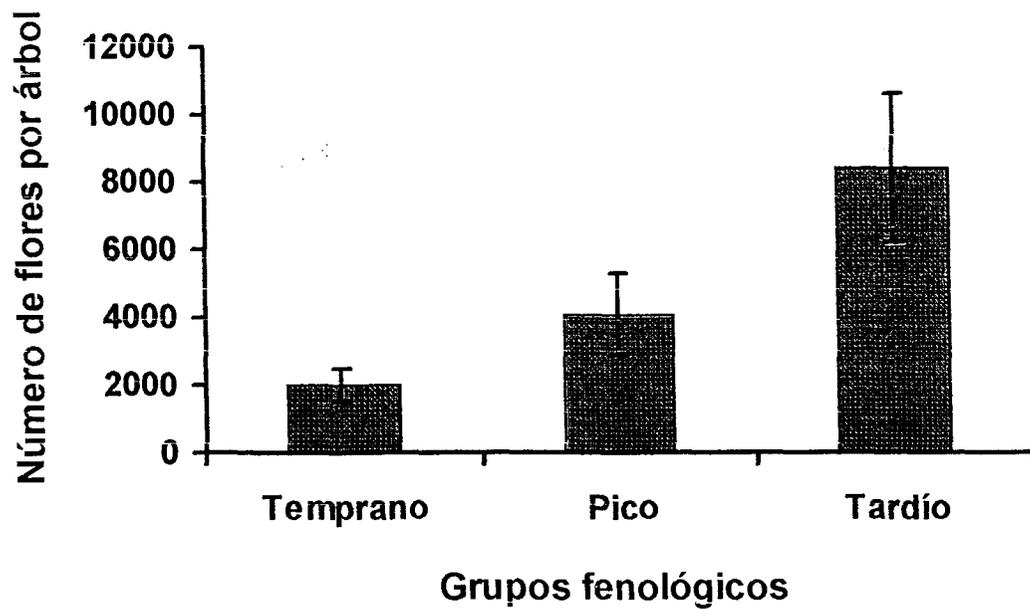


Figura 4. Número promedio de flores producidas por los árboles de *Pachira quinata* según el grupo fenológico en el que se encuentren. 1999.

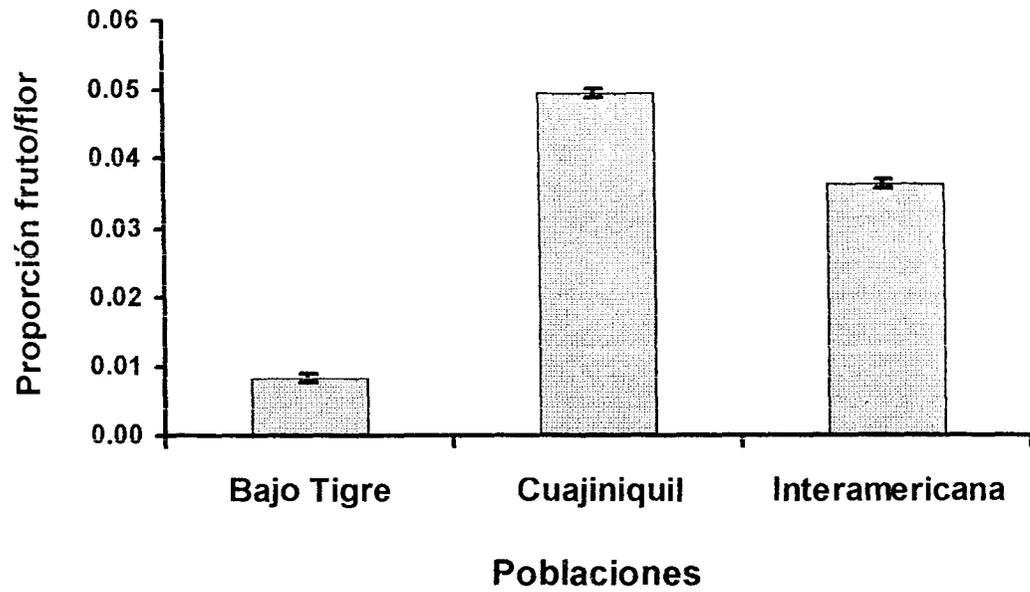


Figura 5. Proporción promedio de flores que llegan a madurar un fruto, según la población en la que se encuentre el árbol. *Pachira quinata*, 1999.

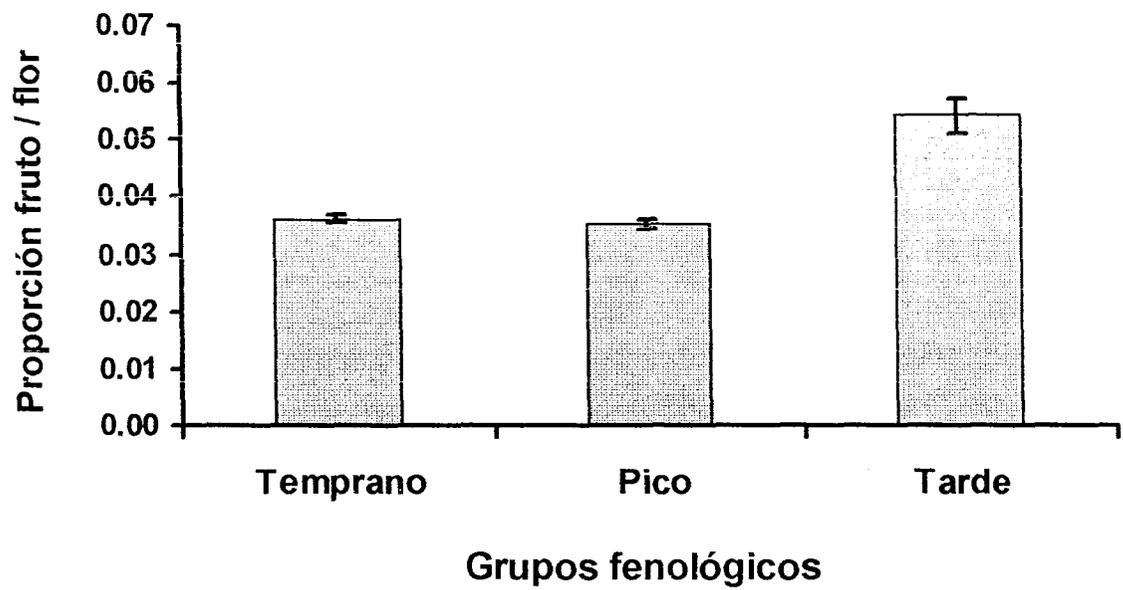


Figura 6. Proporción promedio de flores que llegan a madurar un fruto, según el grupo fenológico en el que se encuentre el árbol.  
*Pachira quinata*, 1999.

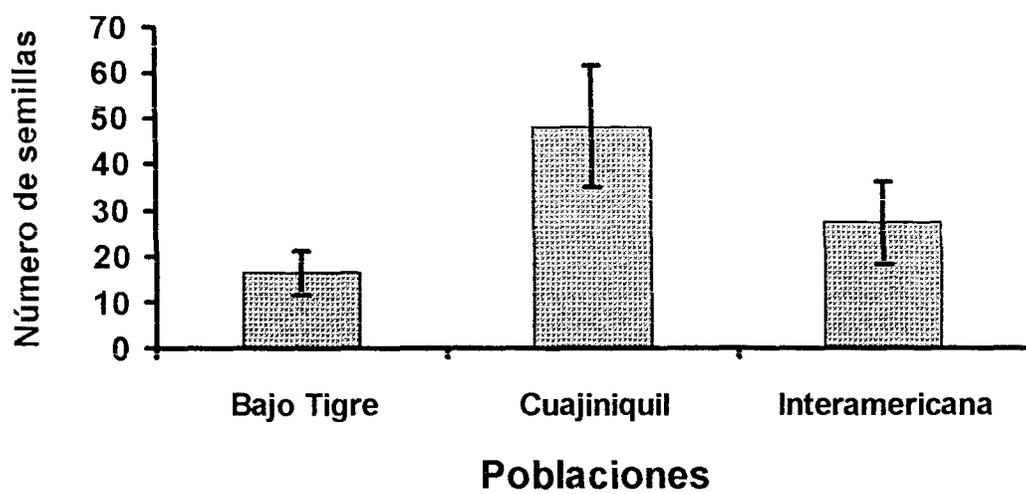


Figura 7. Número promedio ( $\pm$  e.s.) de semillas buenas por fruto, para los árboles de *P. quinata*, en las distintas poblaciones. 1999.

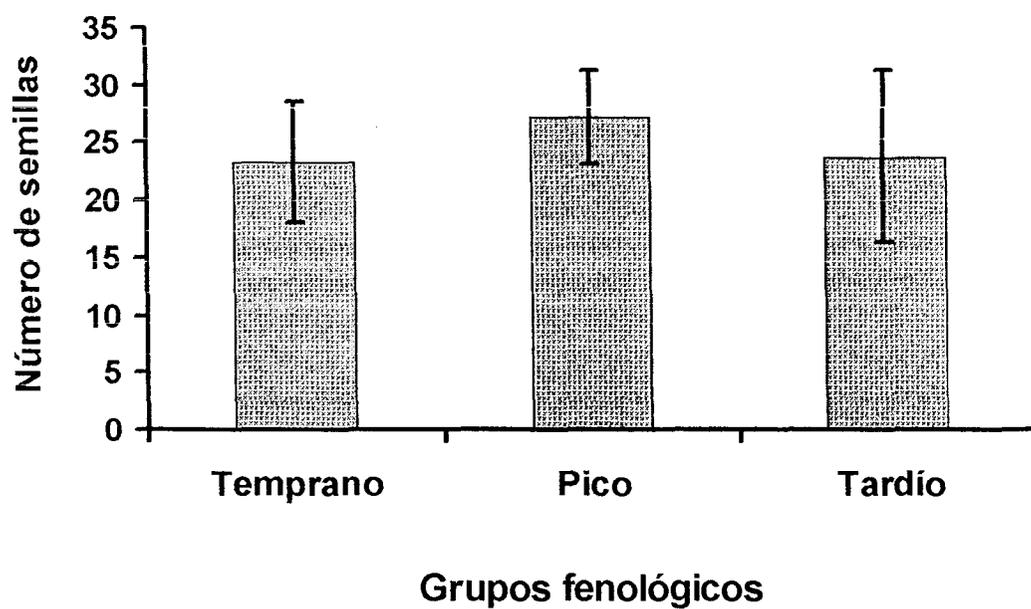


Figura 8. Número promedio ( $\pm$  e.s.) de semillas buenas por fruto, para los árboles de *P. quinata*, en los diferentes grupos fenológicos. 1999.

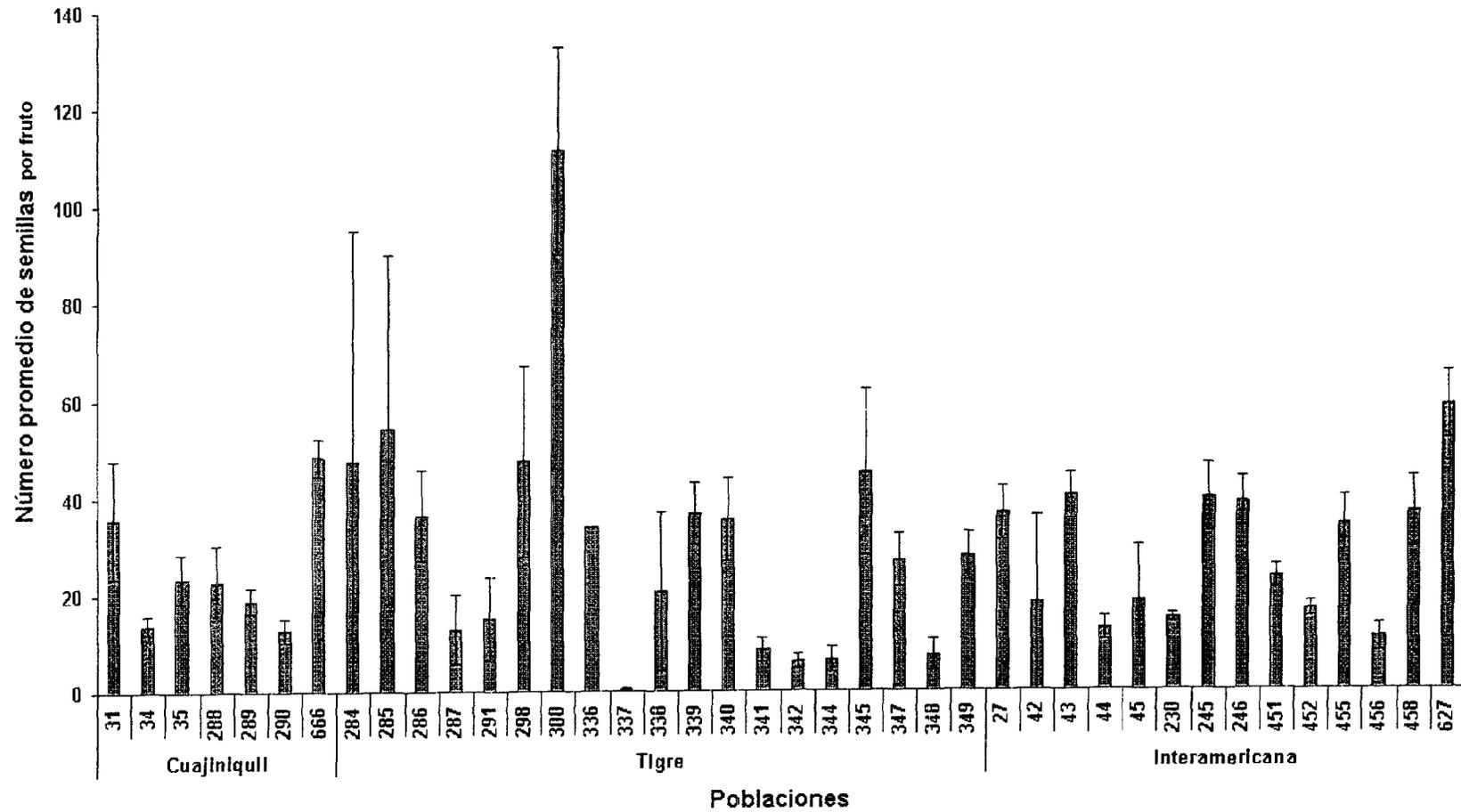


Figura 9. Número promedio ( $\pm$  E.S) de semillas por fruto, para cada árbol de *Pachira quinata*, según la población en la que se encuentre. 1999.

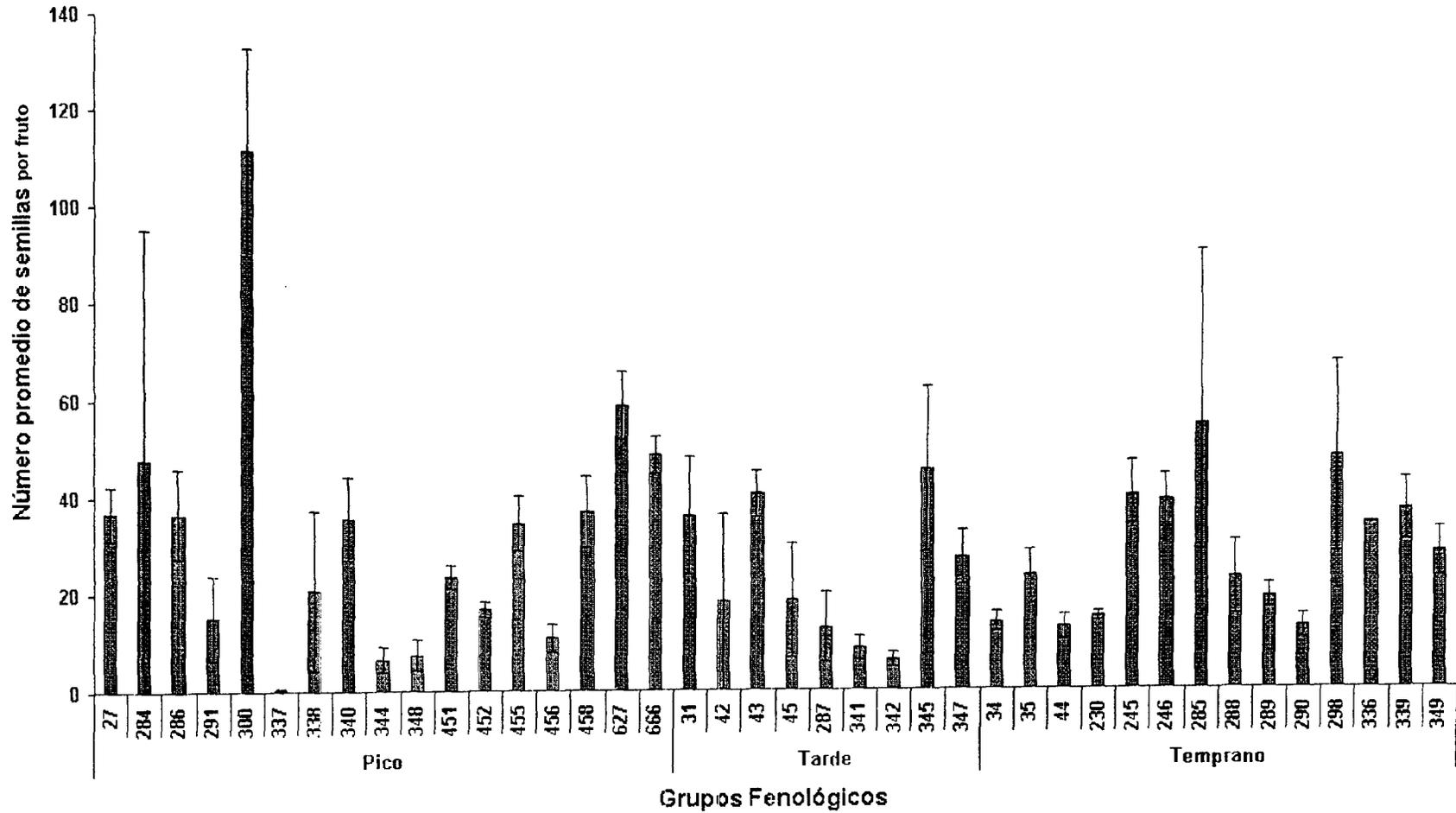


Figura 10. Número promedio ( $\pm$  E.S.) de semillas por fruto para cada árbol de *Pachira quinata*, según la fase fenológica en la que se encuentre. 1999.

## 5. DISCUSIÓN.

Este estudio demostró que la floración del pochote se extiende por un período aproximado de 4 meses, durante la época seca (Figura 1). La floración del pochote es de tipo anual y duración intermedia según la clasificación propuesta por Newstrom et al. (1994), o, "Steady-State" según la clasificación de Gentry (1974). Frankie *et al* (1974), propusieron que árboles anuales de floración intermedia, tienden a ser muy sincrónicos en la amplitud de su floración, lo cual también ha sido observado en árboles del bosque seco de Chamela (Bullock y Solís-Magallanes, 1990). Los resultados de este trabajo demostraron que las poblaciones de *P. quinata*, con la excepción de la población de Sta. Rosa, tienden a florecer sincrónicamente. La fecha de floración máxima no difiere estadísticamente entre las poblaciones de Cuajiniquil, Tigre y Carretera Interamericana (Figura 2.). Janzen (1967), sugiere que dicho nivel de sincronía está asociado a una ventaja adaptativa a reproducirse sexualmente en la época seca, para maximizar el comportamiento de los polinizadores.

La población de Sta. Rosa experimentó un atraso significativo en su fecha de floración. Varios autores han determinado una relación entre periodos de desecación y rehidratación y el inicio de floración para árboles tropicales de floración sincrónica (Borchert, 1980; Opler, *et al.* 1980; Augspurger, 1990; Madrigal, 1997). Se ha determinado que las condiciones ambientales que afectan el inicio y la intensidad de floración pueden variar entre sitios y entre años (Reich y Borchert, 1982; Heideman, 1989). El desfase de floración en la población de Sta. Rosa, pudo deberse a condiciones ambientales que imperaban en dicho sitio. El año de muestreo (i.e. 1999) experimentó el fenómeno ambiental conocido como "La Niña", el cual se caracteriza por un incremento en la precipitación. Un aumento en la precipitación pudo ocasionar el desfase en la floración, y el incremento en la tasa de abortos, observados en este sitio de muestreo. Foster (1990), observó que los árboles de varias especies (incluyendo la bombacácea *C. platanifolia*) en la

isla de Barro Colorado (BCI, Panamá) presentaron una disminución en la producción de frutos, asociado con un aumento en la precipitación durante la época seca.

Varios autores han demostrado una relación positiva entre la densidad de individuos reproductivos y el éxito de polinización y producción de frutos y semillas (Sih y Baltus, 1987; Kunin, 1992; Lamont *et al.*, 1993; Agren, 1996; Kunin, 1997; Nason y Hamrick, 1997; Bosch y Waser, 1999; Molano-Flores y Hendrix, 1999), principalmente relacionando con un incremento en el tamaño de la población, con un aumento en el número de flores disponibles para los polinizadores. Además, dicha relación se ha extendido a poblaciones fragmentadas, donde los árboles aislados o en bajas densidades tienden a tener una reducción en la producción de frutos o semillas (Aizen y Feinsinger, 1994). Nason y Hamrick (1997), demuestran en *Spondias mombin*, una reducción en la producción de frutos para árboles dentro de fragmentos de bosque, comparado con árboles en bosque continuo. Los resultados este trabajo contrastan con dicha predicción, dado que se observó una producción significativamente menor de frutos en la Población del Tigre, donde solamente el 1 % de las flores llegaron a madurar frutos (Figura 5.). Lo mismo ocurrió con la producción de semillas, la cual no difirió entre las poblaciones ni los distintos niveles de densidad poblacional (Figura 7). La mayor proporción de frutos fue producida por los árboles en la población de Cuajiniquil, donde alrededor del 4% de las flores maduraron un fruto (Figura 5). El incremento en el éxito reproductivo femenino puede explicarse por un incremento en la cantidad del recurso para los polinizadores (i.e. más flores, más néctar), en vez de un incremento en la densidad de árboles. Los árboles en la población de Cuajiniquil produjeron el mayor número de flores (Figura 3), a pesar de que no existen diferencias en el diámetro de los árboles entre poblaciones ( $F = 1.98$ ; g.l. = 2; 42;  $p = 0.150$ ). Árboles con una alta producción floral, se espera que experimenten tasas altas de visitación y fertilización, por lo que se espera un incremento en su producción de frutos.

Algunos estudios han demostrado un incremento en la producción de frutos para individuos con reproducción tipo pico (Sih y Baltus, 1987; Burczyk y Prat, 1997), relacionándolo a la capacidad de los mismos para atraer polinizadores. Otros trabajos, principalmente en plantas herbáceas, han descrito una mayor producción de frutos y

semillas en individuos de floración temprana (Bawa y Webb, 1984; Copland y Whelan, 1989; Kelly y Levin, 2000). Estos resultados se explican sugiriendo que los frutos de flores tempranas utilizan los recursos de la planta, necesitados por los frutos de flores tardías. Un tercer tipo de resultados, sugiere que los individuos de floración tardía presentan la mayor producción de frutos, relacionado a un aumento en la tasa de visitación por parte de los polinizadores al final de la época reproductiva (Augspurger, 1981; Stephenson, 1982). Este trabajo demostró que los árboles de *P. quinata* con floración tardía tuvieron la mayor producción de frutos (Figura 6.). Esto concuerda con los árboles de mayor floración (Figura 4). Se demuestra que el aislamiento fenológico no afecta la producción de frutos, como lo hace la intensidad de floración por árbol. Augspurger (1983), demostró en seis especies de arbustos que los niveles de floración asincrónica no afectan la producción de frutos, como sí lo hace el número de flores producidas por árbol. El murciélago es capaz de recordar sitios de muchos recursos y los visita ávidamente (Lemke, 1984), por lo que árboles con muchas flores presentarán la mayor visitación por parte de los polinizadores, de esta manera, incrementando su producción de frutos.

Pocos estudios han evaluado la interacción entre el efecto de aislamiento espacial y fenológico sobre la producción de frutos. Sih y Baltus (1987), demostraron en *Nepeta cataria*, que individuos aislados presentan su mayor éxito reproductivo al final del episodio reproductivo, dado que los polinizadores utilizan el recurso más ansiosamente dado que fuera del bosque hay menos disponibilidad de recursos. Plantas de *N. cataria* dentro de un parche de bosque, tuvieron su mayor producción de frutos en las épocas temprano y pico. En *P. quinata*, no se observa una relación clara entre densidad y fenología. En la población del Tigre, la mayor producción de frutos se da en el pico y al final del episodio reproductivo, mientras que los árboles en densidades intermedias tienen la mayor producción de frutos cuando su floración es temprana (Cuadro 2.). Janzen (1967), sugirió que árboles de floración tardía experimentarán un incremento en la tasa de visitación por parte de los polinizadores, ya que éstos - acostumbrados a un recurso - visitarán los árboles hasta el último momento antes de buscar una nueva fuente de alimento. Este hipótesis puede explicar el por qué los árboles en dentro de bosque continuo, presentan un incremento en su éxito reproductivo mientras avanza el periodo reproductivo.

Para árboles tropicales se ha establecido que una reducción en el número de individuos reproductivos (i.e. dentro de una vecindad reproductiva) disminuye la diversidad genética y aumenta los niveles de endogamia en la progenie (Slatkin, 1985; Hall *et al.*, 1996; Nason *et al.*, 1997). Dicha relación se confirmó en *Symphonia globulifera* donde los árboles en fragmentos de bosque presentaron niveles de endogamia significativos (Aldrich *et al.*, 1998). En *P. quinata* no se probó estadísticamente una relación entre el número de individuos reproductivos cercanos y los niveles de endogamia observados; aunque las tendencias sugieren que los niveles de endogamia son mayores en poblaciones de individuos en bajas densidades. Además, los niveles de variación genética son mayores dentro de poblaciones que entre poblaciones. Estos resultados pueden ser explicados por la capacidad de dispersión del polinizador. Fleming y Sossa (1994), sugieren que las poblaciones de plantas quirópterofilicas presentan los menores niveles de diferenciación genética, principalmente por la gran capacidad de dispersión de estos organismos (Heithaus *et al.*, 1975), la cual conlleva a un alto nivel de flujo génico entre poblaciones. Los niveles más altos de endogamia se observaron en los árboles de floración temprana (Cuadro 5.). El índice de fijación observado en árboles de floración temprana fue mayor que el reportado por Hall (1996), para árboles de *Pithecellobium elegans* aislados en la zona norte de Costa Rica ( $F=1.01$ ), y para árboles de *S. globulifera* en remanentes de bosque en la zona sur de Costa Rica (Aldrich *et al.*, 1998). Estos resultados sugieren que el nivel de aislamiento reproductivo de los árboles de *P. quinata* de floración temprana es comparable con árboles tropicales en poblaciones de baja densidad.

Los resultados de este trabajo demostraron que *P. quinata* es una especie predominantemente exogámica ( $t_m = 0.814 \pm 0.057$ ) con cierto grado de autopolinización. Sin embargo, los valores de  $t_m$  no son tan altos como los de otras Bombacaceae autoincompatibles (*Quararibea asterolepis*;  $t_m = 0.970$ ; Murawski *et al.* 1990). Una opinión contrastante sugiere que *P. quinata* es autoincompatible, y que los valores reducidos de  $t_m$ , se fundamentan en endogamia biparental (Ritland, 1981). Experimentos de polinización realizados en 1995, apoyan la segunda hipótesis; de 46 autopolinizaciones realizadas en 4 árboles distintos, ninguna llegó a madurar un fruto (Quesada *et al.* en

preparación). Esto sugiere un sistema de autoincompatibilidad. No obstante, los análisis de marcadores genéticos, pueden estar detectando cierto nivel de autopolinización, fuera del alcance de experimentos de polinización clásica.

Se ha reportado una relación positiva entre la densidad de individuos y los niveles de exogamia (Raijmann *et al.*, 1994; Hall *et al.* 1996; Aldrich y Hamrick, 1998; Routley *et al.* 1999; en contra ver Pascarella, 1997). Esta relación ha sido determinada especialmente para especies de la familia Bombacaceae. *Ceiba pentandra* y *Cavanillesia platanifolia* presentan una correlación positiva entre el número de individuos reproductivos y los niveles de exogamia representados en la progenie (Murawski y Hamrick, 1991; Murawski y Hamrick, 1992a, b). Basado en estos resultados uno esperaría que en *P. quinata* los árboles de poblaciones en baja densidad (Carretera Interamericana) o en aislamiento fenológico (Temprano o Tardío), presentarían una mayor proporción de semillas originadas por autopolinización. Los resultados de la presente investigación demuestran que los índices multilocus de exocruzamiento, no difieren estadísticamente entre las distintas poblaciones ni entre los grupos fenológicos. Este contraste en los resultados puede ser explicado, si *C. pentandra* y *C. platinifolia*, son más autocompatibles que *P. quinata*. De esta manera, ellas serían capaces de presentar un sistema mixto de apareamiento. Si el pochote es más incompatible, una reducción en la densidad de individuos no afectará los sistemas de autoincompatibilidad, por ende, tampoco la proporción de semillas exocruzadas.

Los resultados demostraron que la correlación de paternidad de la progenie entre frutos es significativamente menor en árboles en altas densidades, por lo que la proporción de semillas hermanas-completas es mayor en Cuajiniquil y Carretera Interamericana (Cuadro 7). Esta proporción se relaciona directamente con el número de padres que origina la progenie (Ritland, 1989). El número promedio de apareamientos presenta una relación positiva con la densidad de individuos reproductivos, donde la progenie del Tigre está representada por un número mayor de padres ( $6.6 \pm 1.05$ ) que las poblaciones de Cuajiniquil y Carretera Interamericana (Cuadro 8). Es posible explicar estos resultados a partir del patrón de forrajeo del polinizador *Glossophaga soricina*. En estudios realizados

en zonas urbanas, se demostró que cuando los recursos eran limitados *G. soricina* presentaba un comportamiento de forrajeo territorial. Además los individuos incrementan la tasa de visitación a las flores hasta un máximo de 1000 visitas por hora (Lemke, 1984). En un estudio similar se demostró que los murciélagos de esta especie demuestran fidelidad al recurso, visitando la misma planta por períodos de hasta 6 meses (Lemke, 1985). No obstante, en poblaciones de bosque continuo se ha propuesto que *G. soricina* visita menos flores dentro de un árbol y mucho más individuos por unidad de tiempo. Además, visita varias veces la misma flor por lo que este patrón de forrajeo se sugirió que asemeja el tipo "trapliner" (Fleming, *et al.* 1972; Heithaus *et al.* 1974). Los árboles inmersos en matriz de pastizal o potrero son un recurso muy grande para los polinizadores, en una zona de escasos recursos. Árboles que son capaces de producir hasta 10000 flores en un episodio reproductivo atraerán a varios polinizadores, además dado a que estos árboles se encuentran en zonas de bajos recursos, los murciélagos visitarán más a estos individuos y no se arriesgarán a buscar otros árboles a mucha distancia. Esto implica que la paternidad representada en la progenie será baja. En contraste los árboles en altas densidades (i.e. El Tigre), reciben mayor diversidad de polen, ya que el comportamiento del polinizador cambia. En zonas donde los recursos son abundantes, como dentro del bosque continuo, *G. soricina* tiende a visitar un mayor número de árboles, además establece rutas de forrajeo de hasta 1.5 km de distancia (Lemke, 1985). Esto implica un incremento en el número de árboles visitados y el acarreo de polen de un mayor número de donadores. El número de padres representados en la progenie es mayor, para árboles en alta densidad. No se observaron diferencias en la correlación de paternidad y en el número de apareamientos entre grupos fenológicos (Cuadros 7 y 8), lo que evidencia que el número de padres está influenciado por el aislamiento espacial y no el fenológico.

En conclusión, la producción de frutos y semillas se relacionó directamente con la intensidad de floración y no con la densidad poblacional. El efecto de la reducción en el número de individuos reproductivos de *P. quinata* originado por la fragmentación del bosque, se evidenció principalmente en una disminución en la proporción de semillas hermanas-completas y el número de padres representados en la progenie. Se demostró que la fenología es un factor importante a estudiar en aspectos de éxito reproductivo y

diversidad génica. No obstante, el aislamiento fenológico no afecta las tasas de exocruzamiento y la estructura de parentesco en las poblaciones de *P.quinata*, aunque existen tendencias que tal vez puedan ser confirmadas con un incremento en el número de árboles estudiados o utilizando marcadores con un número mayor de loci o niveles altos de polimorfismo.

## 6. BIBLIOGRAFÍA.

- Aizen, M.A. y P. Feisinger. 1994. Forest fragmentation, pollination and plant reproduction in a Chaco Dry Forest, Argentina. *Ecology* 75(2): 330-351.
- Agren, J. 1996. Population size, pollinator limitation, and seed set in the self incompatible herb *Lythrum salicaria*. *Ecology* 77: 1779-1790.
- Aldrich, P.R. y Hamrick, J.L. 1998. Reproductive Dominance of pasture trees in a fragmented tropical forest mosaic. *Science*, 281(28): 103-105.
- Aldrich, P.R., Hamrick, J.L., Chavarriaga, P. Y Kochert, G. 1998. Microsatellite analysis of demographic genetic structure in fragmented populations of the tropical tree *Symphonia globulifera*. *Molecular Ecology* 7: 933-944.
- Alfenas, A.C., Peters, I., Brune, W. y Passador, G.C. 1991. Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais. Universidade Federal de Vicosa.
- Arguedas, M. y Torres, G. 1995. Especies Forestales de Mayor Utilización en Costa Rica. Segunda Versión. Serie de Apoyo Académico N° 13. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Pp: 5-6.
- Augspurger, C.K. 1981. Reproductive synchrony of a tropical shrub: experimental studies on effects of pollinators and seed predators on *Hybanthus prunifolius*. *Ecology* 62: 775-788.
- Augspurger, C.K. 1983. Phenology, Flowering synchrony and fruit set of six neotropical shrubs. *Biotropica* 15 (4): 257-267.
- Auspurger, C.K. 1990. Una señal para la floración sincrónica. . In: Leigh, E.G., Rand, A.S. y Windsor, D.M. (eds.). *Ecología de un bosque Tropical*. Smithsonian Tropical Research Institute. Bogotá, Colombia. Pp: 201-218.
- Baker, H.G. 1983. *Ceiba pentandra*. En *Costa Rican Natural History*, D.H. Janzen, ed., pp 212-215. The University of Chicago Press, Chicago.
- Barrett, S.C.H. y J.R. Kohn. 1991. Genetic and evolutionary consequences of small population size in plants: implications for conservation. En D.A. Falk y K. E. Hollinger, editores. *Genetics and Conservation of rare plants*. Oxford University Press. New York. E.E.U.U.
- Bawa, K.S. 1974. Breeding systems of tree species of a lowland tropical community. *Evolution* 28: 85-92.

- Bawa, K.S. 1992. Mating systems, genetic differentiation and speciation in tropical rain forest plants. *Biotropica* 24:250-255.
- Bawa, K.S. y Webb, C. J. 1984. Flower, fruit and seed abortion in a tropical forest trees: implications for the evolution of paternal and maternal reproductive patterns. *AJB*. 71(5): 736-751.
- Borchert, R. 1980. Phenology and ecophysiology of tropical trees: *Erythrina poeppigiana*. *Ecology*, 61(5): 1065-1074.
- Bosch M. y Waser, N.M. 1999. Effects of Local density on pollination and reproduction in *Delphinium nuttallianum* and *Aconitum columbianum* (Ranunculaceae). *American Journal of Botany* 86(6): 871-879.
- Brown, A.H.D y R.W. Allard. 1970. Estimation of the mating system in open pollinated maize populations using isozymes polymorphism. *Genetics* 66:133-145.
- Bullock, S. H. y Solís-Magallanes, J. A. 1990. Phenology of canopy trees of a tropical deciduous forest in Mexico. *Biotropica* 22(1): 22-35.
- Burczyk, J. L y Prat, D.. 1997. Male reproductive success in *Pseudotsuga menziesii*: the effects of spatial structure and flowering characteristics. *Heredity*, 79: 638-647.
- Cascante, A. 1997. La familia Bombacaceae (Malvales) en Costa Rica. *Brenesia*: 47-48.
- Chase, M.R., Moller, C., Kesseli, R. y Bawa, K.S.. 1996. Distant gene flow in tropical trees. *Science* 383: 398-399.
- Charlesworth, D. y Charlesworth, B. 1987. Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 18: 237-268.
- Copland, B.J. y Whelan, R.J. 1989. Seasonal variation in flowering intensity and pollination limitation of fruit set in four co-occurring *Banksia* species. *J. Ecology*. 77: 509-523.
- Doligez A. y H. Joly. 1997a. Mating system of *Carapa procera* (Meliaceae) in the French Guyana tropical forest. *Amer. J. of Botany*, 84: 461-470.
- Doligez A. y H. Joly. 1997b. Genetic diversity and spatial structure within a natural stand of a tropical forest tree species, *Carapa procera* (Meliaceae), in French Guyana. *Heredity* 79: 72-82.
- Ellstrand, N.C. 1992. Gene flow by pollen: implications for plant conservation genetics. *Oikos* 63: 77-86.

- Ellstrand, N.C. y Ellam, D.R. 1993. Population Genetic consequences of small population size: Implications for plant conservation. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 24: 217-242.
- Fernandes, D.N. y Sanford, R.L. 1995. Effects of Recent Land-use practices on soil Nutrients and succession under tropical wet forest in Costa Rica. *Conservation Biology* 9(4): 915-922.
- Fleming, T.H., E.T. Hooper, y D.E. Wilson. 1972. Three Central American bat communities: Structure, reproductive cycles, and movement patterns. *Ecology* 53:555-569.
- Fleming, T.H., y V.J. Sosa. 1994. Effects of nectarivorous and frugivorous mammals on reproductive success of plants. *Journal of Mammalogy* 75:845-851.
- Foré, S.A., Hickey, J., Vankat, J.L., Guttman, S.I. y Schaefer, R.L. 1992. Genetic structure of a forest fragmentation: a landscape ecology perspective on *Acer saccharum*. *Canadian Journal of Botany* 70: 1659-1668.
- Foster, R.B. 1990. Hambruna en la isla de Barro Colorado. In: Leigh, E.G., Rand, A.S. y Windsor, D.M. (eds.). *Ecología de un bosque Tropical*. Smithsonian Tropical Research Institute. Bogotá, Colombia. Pp: 271-284.
- Fournier, L.A. 1974. Un método cuantitativo para la medición de características fenológicas de árboles. *Turrialba*. 24(4): 422-423.
- Frankie, G.W., Baker, H.G. y P.A. Opler. 1974. Comparative phenological studies of trees in tropical wet and dry forest in the lowlands of Costa Rica. *Journal of Ecology* 62: 881-919.
- Gentry, A. H. 1974. Flowering Phenology and Diversity in Tropical Bignoniaceae. *Biotropica*, 6(1): 64-68.
- Gleeson, A. C. y Cullis, B. R. 1987. Residual maximum likelihood (REML) estimation of a neighbour model for field experiments. *Biometrics* 43: 277-288.
- Gilmour, A.R., Cullis, B.R., Welham, S.J. y Thompson, R. 1998. ASREML. Program user manual. Printed by NSW Agriculture, Orange Agricultural Institute, Forest Road, Orange, NSW, 2800, Australia. 200 pp.
- Goodell, K., Elam, D.R., Nason, J.D. y Ellstrand, N.C.. 1997. Gene flow among small populations of a self-incompatible plant: an interaction between demography and genetics. *American Journal of Botany*. 84(10): 1362-1371.
- Gribel, R., y R.J. Abbott. 1995. Genetics of cytosolic phosphoglucose isomerase (PGI) variation in the Amazonian tree *Pseudobombax munguba* (Bombacaceae). *Heredity* 76:531-538.

- Hall, P. Walker, S. y Bawa, K. 1996. Effect of forest fragmentation on Genetic Diversity and mating system in a tropical tree, *Pithecellobium elegans*. *Conservation Biology*, 10(3): 757-768.
- Hamrick, J.L., D.A. Murawski y J.D. Nason. 1993. The influence of seed dispersal mechanisms on the genetic structure of tropical tree populations. *Vegetatio* 107/108: 281-297.
- Hideman, P.D. 1989. Temporal and Spatial variation in the phenology of flowering and fruiting in a tropical rainforest. *Journal of Ecology*, 77: 1059-1079.
- Heithaus, E.R., T.H. Fleming, y P.A. Opler. 1975. Patterns of foraging and resource utilization in seven species of bats in a seasonal tropical forest. *Ecology* 56:841-54.
- Hoel, P.G. 1971. Introduction to Mathematical statistics. Wiley-International. EEUU, N.Y. Pp: 203-220.
- Husband, B.C. y Schemske, D.W. 1995. Evolution of the magnitude and timing of inbreeding depression in plants. *Evolution*, 50: 54-70
- Janzen, D.H. 1967. Synchronization of sexual reproduction of trees within the dry season in Central America. *Evolution* 21: 620-637.
- Janzen, D. H. 1986. The external threat. *In*:: Conservation Biology: the science of scarcity and diversity. M. Soulé (editor). Sinauer Associates, Inc. Massachusetts. Pp: 286-303.
- Janzen, D. H. 1988. Tropical Dry Forest: the most endangered major tropical ecosystem. *In* : Biodiversity. E.O. Wilson (editor). National Academy of Sciences. (148): 1-60.
- Kaufman, S. R., Smousse, P. E y Alvarez -Buylla, E.R. 1998. Pollen-mediated gene flow and differential male reproductive success in tropical pioneer tree, *Cecropia obtusifolia* Bertol. (Moraceae): a paternity analysis. *Heredity* 81: 164-173.
- Kelly, M.G. y Levin, D.A. 2000. Directional selection on the initial flowering date in *Phlox drummondii*. *AJB* 87(3): 382-391.
- Keogh, R 1984. Changes in the forest cover of Costa Rica through history. *Turrialba* 34(3): 325-331.
- Kunnin, 1992. Density and reproductive success in wild populations of *Diplotaxis eruroides* (Brassicaceae). *Oecologia*. 91: 129-133.
- Kunnin, 1997. Population size and density effects in pollination: pollinator foraging and plant reproductive success in experimental arrays of *Brassica kuber*. *J. Ecology* 85: 225-234.

- Lamont, B.B. Klinkhamer, P.G. y Witkowski, E.T. 1993. Population fragmentation may reduce fertility to zero in *Banksia goodii*- A demonstration of the Allee effect. *Oecologia*, 94:446-450.
- Lemke, T.O. 1984. Foraging ecology of the long-nosed bat, *Glossophaga soricina*, with respect to resource availability. *Ecology*, 65(2): 538-548.
- Lemke, T.O. 1985. Pollen Carrying by the Nectar-feeding Bat *Glossophaga soricina*, in a suburban environment. *Biotropica*, 17(2): 107-111.
- Levin, D.A. 1995. Plant outliers: an ecogenetic perspective. *The American Naturalist*. 145(1): 109-118.
- Levy, F. y Neal, C.L. 1999. Spatial and temporal genetic structure in chloroplast and allozyme markers in *Phacelia dubia* implicate genetic drift. *Heredity* 82: 422-431.
- Lobo, J.A. y Kerr, W.E. 1993. Estimation of the number of matings in *Apis mellifera*: extensions of the model and comparison of different estimates. *Ethology Ecology & Evolution* 5: 337-345.
- Loveless, M.D, Hamrick, J.L. y Foster, R.B.. 1998. Population structure and mating system in *Tachigali versicolor*, a monocarpic neotropical tree. *Heredity* 81: 134-143.
- Madrigal, T.A. 1997. Fenología y ecofisiología del *Quercus oocarpa*. *Rev. Biol. Trop.* 44(3)/45(1): 117-123.
- Mark, M.P. 1997. Tools for population genetic analysis (TFPGA) 1.3.. A windows program for the analysis of Allozyme and molecular population genetic data. Computer software distributed by author.
- Molano-Flores, B. y Hendrix, S. 1999. The effects of population size and density on the reproductive output of *Anemone canadensis* (Ranunculaceae). *Int. J. Plant Sci.* 160(4): 759-766.
- Mulcahy, D.L. y G.B. Mulcahy. 1987. The effects of pollen competition. *American Scientist* 75: 44-50.
- Murawski, D.A. y J.L. Hamrick. 1991. The effect of density of flowering individuals on the mating system of nine tropical tree species. *Heredity*, 67: 167-174.
- Murawski, D. A. y J.L. Hamrick. 1992 a. The mating system of *Cavanillesia platanifolia* under extremes of flowering-tree density: a test of predictions. *Biotropica* 24: 99-101.
- Murawski, D.A. y J.L. Hamrick. 1992 b. Mating system and phenology of *Ceiba pentandra* (Bombacaceae) in Central Panama. *Journal of Heredity* 83: 401-404.

- Murawski, D.A., J.L. Hamrick, S.P. Hubbel y R.B. Forest. 1990. Mating systems of two Bombacaceous trees of a neotropical moist forest. *Oecologia*, 82: 501-506.
- Murphy, P.G. y Lugo, A.E. 1986. Ecology of Tropical Dry Forest. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 17: 67-88.
- Nason, J.D. Aldrich, P.R. y Hamrick, J.L. 1997. Dispersal and the dynamics of genetic structure in fragmented tropical tree populations. In Laurence, W.F. y Bierregaard, R.O. (ed.). *Tropical Forest Remnants*. The University of Chicago Press. EEUU. Pp: 304-321
- Nason, J.D. y J.L. Hamrick. 1997. Reproductive and Genetic Consequences of Forest Fragmentation: Two case Studies of Neotropical Canopy Trees. *Journal of Heredity* 88: 264-276.
- Navarro, C. y Martinez, H. 1989. El pochote en Costa Rica. Guía Silvicultural para el Establecimiento en Plantaciones. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Turrialba, Costa Rica.
- Newstrom, L.E., Frankie, G.W., Baker, H.G. y Colwell, R.K. 1994. Diversity of Long-term Flowering Patterns. In : McDade, L.A., Bawa, K.S., Hespeneide, H.A. y Hgartshorn, G.S. (eds). *La Selva. Ecology and Natural History of a Neotropical Rain Forest*. The University of Chicago Press. EEUU. Pp: 142-160.
- Niesenbaum, R.A. 1999. The effects of pollen load size and donor diversity on pollen performance, selective abortion, and progeny vigor in *Mirabilis jalapa* (Nyctaginaceae). *American Journal of Botany* 86(2): 261-268.
- Opler, P.A., Frankie, G.W y Baker, H. 1980. Comparative phenological studies of treelet and shrub species in tropical wet and dry forests in the lowlands of Costa Rica. *Journal of Ecology*, 68: 167-188.
- Pascarella, J.B. 1997. The mating system of the tropical understory shrub *Ardisia escallonoidea* (Myrsinaceae). *American Journal of Botany* 84(4): 456-460.
- Quesada, M. J.A. Winsor, A.G. Stephenson. 1993. Effects of pollen competition on progeny performance in a heterozygous cucurbit. *The Am. Nat.* 142(4): 694-706.
- Raijmann, L.E., Van Leeuwen, N. Kersten, R. y Menken, S. 1994. Genetic Variation and Outcrossing rate in relation to population size in *Gentiana pneumonanthe*. *Conservation Biology*, 8(4): 1014-1026.
- Reich, P.B. y Borchert, R. 1982. Phenology and ecophysiology of the tropical tree, *Tabebuia neochrysantha*. *Ecology*, 63(2): 294-299.
- Ritland, K. 1989. Correlated matings in the partial selfer *Mimulus guttatus*. *Evolution*, 43(4): 848-859.

- Ritland, K. 1990. A series of FORTRAN computer programs for estimating plant mating systems. *J. Heredity*, 81: 235-237.
- Ritland K. y Jain S.K. 1981. A model for the estimation of outcrossing rate and gene frequencies based on  $n$  independent loci. *Heredity* 47:37-54.
- Routley, M. R., Mavraganis, K. y Eckert, C. 1999. Effect of population size on the mating system in a self-compatible, autogamous plant, *Aquilegia canadensis*. *Heredity* 82: 518-528.
- Sader, S. A y A.T. Joyce. 1988. Deforestation rates and trends in Costa Rica, 1940 to 1983. *Biotropica* 20: 11-19.
- Schmitt, J. 1983. Density-dependent pollinator foraging, flowering phenology, and temporal pollen dispersal patterns in *Liatris bicolor*. *Evolution*. 17(6): 1247-1257.
- Sih, A. y Baltus, M. 1987. Patch size, pollinator behavior and pollinator limitation in catnip. *Ecology*, 68(6): 1679-1690.
- Slatkin, M. 1985. Gene flow in natural populations. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 16: 393-430.
- Slatkin, M. 1987. Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science* 236: 787-792.
- Stacy, E.A., Hamrick, J.L., Nason, J.D., Hubbell, S.P., Foster, R.B. y Condit, R. 1996. Pollen dispersal in low-density populations of three neotropical tree species. *The American Naturalist* 148(2): 275-298.
- Stephenson, A.G. 1982. When does outcrossing occur in a mass flowering plant. *Evolution*. 36(4): 762-767.
- Stephenson, A.G., J.A. Winsor y L.E. Davis. 1986. Effects of pollen load size on fruit maturation and sporophyte quality in zucchini. In D.L. Mulcahy y E.M. Ottaviano (eds.) *Biotechnology and ecology of pollen*. Springer Verlag, Berlin. Pp: 429-434.
- Templeton, A.R., Shaw, K., Routman, E. y Davis, S.K. 1990. The Genetic consequences of habitat fragmentation. *Ann. Miss. Bot. Gard.* 77: 13-27.
- Uhl, C. y R. Buschbaker. 1985. A disturbing synergism between cattle ranch burning practices and selective tree harvesting in the Eastern Amazon. *Biotropica* 17: 265-268.
- Ureña, K, M., D.W. Atehortúa y C. Zobel. 1993. The potential of *Bombacopsis quinata* as a commercial plantation species. *Forest Ecology and Management* 56(1-4): 99-112.
- Wright, S. 1951. The genetical structure of populations. *Ann. Eugenetics*. 15: 323-354.

- Weir, B.S. y C.C. Cockerham. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38: 1358-1370.
- Wendel J.F. y N.F. Weeden. 1989. Visualization and interpretation of plant isozymes. En: *Isozymes in Plant Biology*, D.E. Soltis y P.S. Soltis (eds.). Dioscorides Press. pp: 5-45.
- Young A.G., Merriam H.G. y S.I. Warwick. 1993. The effects of forest fragmentation on genetic variation in *Acer saccharum* Marsh. (sugar maple) populations. *Heredity*, 71:277-289.
- Zar, J. H. 1996. *Biostatistical analysis*. 3ª Edición. Prentice Hall. New Jersey, E.E.U.U. Pp. 662.