

**Universidad de Costa Rica**  
Sistema de Estudios de Posgrado

**Diversidad genética del árbol de Caoba (*Swietenia macrophylla*)  
(Meliaceae) en cinco sitios sucesionales del Parque Nacional Santa Rosa**

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

***Maguil Céspedes Castro***

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, Costa Rica

---

## Dedicatoria

*A mi hija Tebër, cuya luz ha revitalizado mi corazón  
para alzarme de nuevo raudo, más allá de mis sueños.*

---

## **Agradecimientos**

**Al Dr. Oscar Rocha** por permitirme desarrollar este trabajo ofreciéndome contar con su asesoramiento, aporte logístico y su gran calidad humana.

**A Sabine Herbrink** con quien compartí los momentos más angustiantes de esta empresa y de quien recibí amor incondicional aun en los mas duros momentos. A ella mi más profundo respeto y mi eterno agradecimiento.

**A Mari Zaldívar y Gustavo Gutiérrez,** por participar como miembros de mi comité y por las valiosas observaciones que dieron forma al presente trabajo.

**A mis amigos y colegas de laboratorio, Luis Castro y Gabriel Aguilar** por su colaboración y apoyo logístico.

**A mi hermana Grettel,** cuya fe en mi siempre fue un aliciente en los momentos más críticos.

**Al Área de Conservación Guanacaste** por facilitar las muestras para el presente estudio.

**A todos aquellos** cuyas contribuciones se encuentran de una u otra forma plasmadas en el presente trabajo.

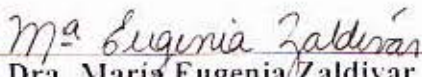
Esta tesis fue aceptada por la Comisión del Programa de Estudios de Posgrado en Biología de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar al grado de *Magister Scientiae*.



Dr. Federico Albertazzi Castro  
Representante de la Decana del Sistema de Estudios de Posgrado



Dr. Oscar Rocha Núñez  
Director de Tesis



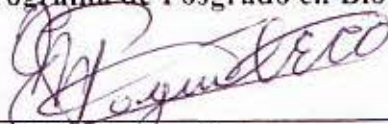
Dra. María Eugenia Zaldívar  
Asesora



Dr. Gustavo Gutiérrez Espeleta  
Asesor



Dra. María Virginia Solís Alvarado  
Directora del Programa de Posgrado en Biología



Maguil Céspedes Castro  
Candidato

---

## Indice

	Página
Dedicatoria.....	ii
Agradecimientos.....	iii
Hoja de Aprobación.....	iv
Indice.....	v
Resumen General.....	vii
Lista de Cuadros.....	ix
Lista de Figuras.....	x
Introducción.....	11
Objetivos Específicos.....	15
Materiales y Métodos.....	16
Características generales.....	16
Sitios de Muestreo.....	17
Descripción de las parcelas.....	17
Recolección de las muestras.....	18
Buffer de extracción extracción del ADN.....	18
Método de extracción del ADN.....	19
Cebadores utilizados.....	20
Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y revelado.....	20
Análisis de los Datos.....	21
Resultados.....	22
Distribución de tamaños y número de individuos.....	25
Discusión.....	26

---

Conservación de los recursos genéticos .....	31
Bibliografía.....	35



---

## Resumen

Maguil Céspedes Castro

Diversidad genética del árbol de Caoba ( *Swietenia macrophylla*) (Meliaceae) en cinco sitios sucesionales del Parque Nacional Santa Rosa

Tesis Biología. –San José, C.R.:  
M. E. Céspedes C.,2001  
50h.:11 il.-51refs.

En este documento se presentan los resultados del estudio de la variabilidad genética de *Swietenia macrophylla* (Meliaceae) en un gradiente sucesional. El trabajo constituye una descripción del proceso de recuperación del bosque seco desde el punto de vista de la constitución genética de los individuos reclutados durante las diferentes etapas de sucesión. El aspecto más importante del presente estudio es el de caracterizar la diversidad genética de los individuos que van siendo reclutados en el proceso de regeneración natural del bosque seco

En cada sitio sucesional se realizó un censo en el cual se marcaron y se midieron las plántulas y los adultos de esa especie dentro de cada parcela. Además, se buscaron todos los adultos aislados ubicados en un radio de unos 500 metros alrededor de las parcelas de estudio. Los aspectos de establecimiento considerados fueron: el tamaño de los individuos, y la abundancia de individuos por parcela. Por último se analizó la diversidad genética utilizando parámetros genéticos tales como: heterocigosidad

El análisis genético se realizó mediante la técnica de microsatélites. De diez cebadores probados cinco amplificaron con una buena resolución e interpretabilidad, a saber: Prin44, Prin49, Prin52, Prin59, Prin83. Se utilizó una muestra de 100 individuos dentro de las parcelas y 15 árboles adultos en la periferia. De los datos obtenidos, se concluyó que la estructura genética de la Caoba es diversa a pesar de los grandes

---

efectos que han tenido la sobre explotación y la degradación del ambiente por la creación de pastizales y la ocurrencia de fuegos periódicos.

Los resultados de este trabajo sugirieron que existe un flujo genético extenso. Este pareció ser causado por un movimiento efectivo de polen a más de 500 metros. Además, los datos indicaron que esta especie es predominantemente exógama, y que posee mecanismos para evitar la autopolinización.

Pese a la gran diversidad genética, los resultados de los censos indicaron que muy pocos individuos llegan a la madurez. Es decir, la diversidad genética no ofrece garantía para la recuperación de grandes poblaciones de esta especie. Además, la mayoría de los individuos encontrados estaban en estado de plántulas o estadios juveniles tempranos. Esto, unido a la poca cantidad de individuos en edad reproductiva y al riesgo de nuevos incendios, constituye una amenaza constante para la regeneración de esos sitios. Las prácticas de control de fuego realizadas en el Parque Nacional Santa Rosa, constituyen un ejemplo de cómo promover la recolonización natural, que es sin lugar a dudas un medio económicamente viable y un ejemplo para la conservación *in situ*.

Se recomiendan estudios adicionales para determinar el aporte real del banco de semillas al establecimiento de las poblaciones, que según los datos y las observaciones de campo, deben tener un impacto mayor del que hasta hora se les ha adjudicado por otros investigadores.



---

**Palabras clave:** Diversidad genética, *Switenia macrophylla*, microsatelites, Caoba, fragmentación de bosque, bosque seco, sitios sucesionales.

**Director de la Investigación:** Oscar Rocha.

**Unidad Académica:** Biología

---

## Lista de Cuadros

Página

1. Descripción de los sitios de muestreo, en el Parque Nacional Santa Rosa, Guanacaste,.....42
2. Secuencia de los 5 cebadores utilizados, repeticiones principales, número de alelos y tamaño de los loci de los 5 microsatelites .....42
3. Frecuencia alélica de loci polimórficos de *S. macrophylla* en los cinco sitios de muestreo, Parque Nacional Santa Rosa, Guanacaste, Costa Rica, 2001.....43
4. Número promedio de alelos ( $N_a$ ), promedio del número efectivo de alelos por locus ( $N_e$ ) promedio de la heterosigocidad observada ( $H_o$ ), and Nei's mean expected heterozygosity Promedio de Nei de la heterocigosidad esperada ( $H_e$ ) para cinco poblaciones de *Swietenia macrophylla* en el Parque Nacional Santa Rosa, Santa Rosa National Park, Guanacaste, Costa Rica. Standard deviations are shown in parentheses.....44
5. Estimación de una vía de Nei de las distancias genéticas en cinco parcelas para *S. macrophylla*, Parque Nacional Santa Rosa, 2001.....44
6. Frecuencias alélicas de árboles adultos de *S. macrophylla* divididos en 2 áreas: la primera corresponde a Jenny I y Jenny II y la segunda corresponde a las Mesas, Príncipe y Bosque Maduro. Parque Nacional Santa Rosa, Guanacaste, Costa Rica .....45

---

## Lista de Figuras

Página

1. Mapa de distribución y nombre de los sitios en el Parque Nacional Santa Rosa; mostrando en el recuadro su localización en el País.....46
2. Número de alelos de *S. macrophylla* vs estadio sucesional para cada uno de los loci, Parque Nacional, Santa Rosa.....47
3. Número de alelos totales de *S. macrophylla* en cada sitio, Parque Nacional Santa Rosa, Guanacaste.....48
4. Dendrograma de *S. macrophylla* mostrando las relación entre los sitios, según los datos obtenidos de los cinco loci.....49
5. Distribución, abundancia y tamaño de *S. macrophylla* en los 5 sitios, Parque Nacional Santa Rosa. Según censo realizado Agosto del 2001.....50

## Antecedentes

Las Caobas, como comúnmente se conoce a *Swietenia macrophylla*, *S. humilis* y *S. mahagoni* (Meliaceae), han sido utilizadas desde la época de la colonia como uno de los recursos maderables de mayor importancia en América Latina (George, 1992; Patiño, 1996; Snook, 1996). Su sobrexplotación ha tenido gran impacto sobre las poblaciones naturales de estas especies (Navarro *et al.*, 1996; Styles, 1976) y es el resultado histórico del uso desmedido del recurso para suplir la demanda de los mercados locales e internacionales (George, 1992; Mastrantonio *et al.*, 2000). La necesidad de uso de la tierra y la negligencia en su aprovechamiento, ha sido tradicionalmente acompañada por un conocimiento incipiente sobre la ecología y el valor intrínseco de las especies afectadas, produciendo muchas veces una pérdida irremediable del recurso en cuestión y un efecto negativo sobre otras especies (Maxted *et al.*, 1997; Kriecher 1990; Hamrick *et al.*, 1990; Hall *et al.*, 1994).

A pesar de ser una de las maderas mejor conocidas mundialmente (Snook, 1996), no es sino hasta la segunda mitad del siglo XX que empiezan a generarse trabajos que buscan el establecimiento de plantaciones comerciales. Eventualmente, el fracaso parcial de estos ensayos forestales ha puesto nuevamente sobre el tapete el problema de las poblaciones no naturales establecidas por los seres humanos (Frankel *et al.*, 1995; Guarino *et al.*, 1995). En este caso, ilustra los efectos negativos que enfrentan muchas especies susceptibles al ataque de plagas y patógenos en condiciones de plantación (Grijma, 1973; Navarro, 1997; Newton, 1990; Newton *et al.*, 1995 y Schoonhoven, 1974).



Las Caobas presentan una alta tasa de germinación acompañada de una alta mortalidad de plántulas, lo que limita la abundancia de individuos adultos, a unos pocos por hectárea (Basgall, 1996; Patiño, 1997). Además, en Mesoamérica, el uso de técnicas agrícolas ancestrales como la roza y quema, la deforestación y la creación de pastizales permanentes, ha disminuido las posibilidades de recolonización de las Caobas y/o ha actuado como un proceso selectivo no natural que ha acentuado la grave erosión genética que sufren estas especies en la región (Gillies *et al.*, 1999). Patiño *et al.* (1997) señalaron que la erosión genética experimentada por las Caobas en nuestra región (Centroamérica y el Caribe) está ligada a tres factores principalmente: la deforestación, la fragmentación y la disgenia (escogencia selectiva de los mejores individuos de una población para su corta. Por todo lo anterior, las tres especies del género se encuentran incluidas en el apéndice II de la lista de "CITES" (siglas en inglés del Convenio sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestre).

Las Caobas son especies nativas del neotrópico. Su distribución abarca desde el norte de México hasta Brasil y Argentina, incluyendo América Central y las islas del Caribe (Patiño, 1997; George, 1992; 1998). De las tres especies, sólo *Swietenia macrophylla* todavía se extrae en buenas cantidades de países como Brasil y Bolivia (Vantomme 1991). Dada la importancia comercial de este género y la facilidad con que es atacada por *Hypsyla grandella* en los trópicos del nuevo mundo, muchas plantaciones se han establecido en el pacífico asiático durante los últimos años (Myhew, 2000). Según Guarino *et al.* (1995), si no se implementa una estrategia el desarrollo de plantaciones con muy pocos genotipos contribuye a largo plazo, al empobrecimiento del acervo genético de las poblaciones que todavía sobreviven en Centroamérica. Lo anterior es todavía más inquietante si tomamos en cuenta que S.



*humilis* y *S. macrophylla* se traslapan al menos en tres localidades: una en México, en el Istmo de Tehuantepec, otra en Guatemala y la última en Costa Rica, produciendo híbridos naturales entre ambas (Whitmore *et al.*, 1997; Newton, 1993). Esta alta tasa de hibridación natural constituye otro aspecto a valorar en el estudio del género (Schoonhoven, 1974).

La hibridación entre las dos especies de *Swietenia* presentes en esta parte de Costa Rica puede jugar un papel relevante en la búsqueda de individuos más resistentes al ataque de *Hypsyla grandella* (Styles *et al.*, 1981). Navarro y sus colaboradores (1996, 1997), entre otros, han estado realizando pruebas de resistencia y desarrollo de diferentes genotipos de *S. macrophylla* provenientes de poblaciones que sobreviven en Centroamérica y Panamá. En particular, han venido trabajando en el estudio y selección de individuos con genotipos más resistentes. Entre sus conclusiones destacan que la hibridación entre las dos especies parece favorecer la aparición de individuos resistentes.

En los últimos años la estructura genética de las especies tropicales ha comenzado a ser estudiada con especial interés, utilizando para ello aloenzimas como marcadores genéticos. Buckley *et al.* (1988), Hamrick *et al.* (1989), Hall *et al.* (1994) y Rocha *et al.* (1996) han encontrado que, tanto los árboles como los arbustos, frecuentemente presentan altos niveles de variación genética, la cual es mayor dentro de las poblaciones que entre poblaciones (Heywood *et al.*, 1986; Hamrick *et al.*, 1989; Pérez-Nasser *et al.*, 1993 y Rocha, 1996). Por ejemplo, Hamrick *et al.* (1990, 1991) estudiaron la estructura genética de 16 especies leñosas en la isla de Barro Colorado, República de Panamá, y encontraron que sitios separados por 1 o 2 kilómetros presentaban índices bajos de diversidad. Por otro lado, Buckley *et al.* (1988) estudio

la variación genética presente en dos poblaciones silvestres de Nuez del Brasil (*Bertholletia excelsa*) que se encontraban distantes una de la otra. Los resultados de ese trabajo mostraron que existía mucha mayor variación dentro de la población que entre las poblaciones, y que había muy poca variación entre poblaciones. Chase *et al.* (1995) en un estudio de un total de 11 poblaciones de *Cordia alliodora* en Centroamérica (desde Guatemala hasta Costa Rica), encontró niveles de diferenciación genética muy bajos entre las poblaciones. Rocha *et al.* (1996) en su trabajo realizado en Costa Rica con cinco poblaciones de *Enterolobium cyclocarpum* también tubo resultados similares con poca variación entre las poblaciones. Los resultados de los estudios anteriores contrastan con los obtenidos por Hall *et al.* (1994) en su trabajo con *Pentaclethra macroloba* en Costa Rica. En esa especie, la diferenciación genética entre poblaciones fue del 21.9 % del total de la variación. Giles *et al.* (1999) compararon poblaciones de *Swietenia macrophylla* de toda Mesoamérica y mostraron, de forma sorprendente, que entre poblaciones existía una diversidad genética que alcanzaba un 80% mientras que dentro de la población ésta era muy baja. Estos resultados son atribuidos a una alta tasa de deforestación y manipulación selectiva desde períodos precolombinos.

Para finalizar, el presente trabajo tubo como objetivo general, generar información que pudiera ser utilizada en el desarrollo de estrategias de conservación y manejo del género *Swietenia ssp.*, tanto a nivel local como regional

**Objetivos Específicos**

- Evaluar la diversidad Genética de *Swietenia macrophylla* a través de diferentes estadios sucesionales, en el Parque Nacional Santa Rosa, Guanacaste, Costa Rica.
- Valorar el grado de parentesco entre adultos y juveniles en el área de muestreo.
- Medir el aporte génico de los adultos al reclutamiento de nuevas generaciones en los diferentes estadios sucesionales.



## Materiales y Métodos

### *Características generales*

*Swietenia humilis* y *Swietenia macrophylla* son árboles que pueden alcanzar hasta 40 metros de altura y 2 metros de diámetro (Whitmore, 1983) aunque es más frecuente observarlos con fustes más pequeños debido a la alta explotación a la cual ha sido sometida desde tiempos de la conquista (Holdrige *et al.*, 1975). Según la literatura *S. humilis* tiene una distribución restringida a los bosques estacionales secos, caducifolios, semicaducifolios y siempre verdes. En el caso de *S. macrophylla* ésta se encuentra principalmente en bosques tropicales lluviosos muy húmedos desde las llanuras poco anegadas hasta los 700 msnm inclusive (Navarro C y Hernández, 1996). La alta tasa de hibridación que se presenta entre *S. humilis* y *S. macrophylla* en las áreas de traslape ha dificultado su estudio y descripción (Pennington y Styles, 1975).

Las *Swietenias* poseen hojas compuestas imparipinnadas de 5 a 6 foliolos aunque pueden presentar más (Holdrige *et al.*, 1975). Las flores aunque parecen perfectas, son pistiladas y estaminadas y están presentes en el mismo individuo (Pennington, 1981). Los frutos, son cápsulas leñosas dehiscentes que pueden alcanzar dimensiones entre los diez y los veintidós cm de largo y de seis a diez cm de ancho. Las semillas son sámaras aladas dispersadas por el viento.

En los bosques estacionales tanto *S. humilis* como *S. macrophylla* pierden las hojas al principio de la estación seca, durante los meses de enero a marzo. La apertura de los frutos en el bosque seco está asociada con la caída de las hojas mientras que los nuevos retoños y las flores coinciden con la apertura de los últimos frutos, al final de la estación seca (observación personal). Esto concuerda con la gran variabilidad fenológica observada en esta especie (Navarro C. y Hernández, 1996).

Fuera de su distribución natural se las encuentra en plantaciones principalmente en algunas islas del Pacífico tales como las Islas Fiji, Salomón, Samoa, así como en el sur este de Asia ( Mayhew, 1999).

### ***Sitios de muestreo***

El área de estudio de las poblaciones de *S. macrophylla* comprendió cinco parcelas que se localizaron al noroeste del país en la provincia de Guanacaste. Dentro del Parque Nacional Santa Rosa, Area de Conservación Guanacaste (10° 45'a 11° 00 N y 85°30' a 85° 45' O) (figura1). De acuerdo con la clasificación de zonas de vida de Holdridge (1967) esta región pertenece al Bosque tropical seco. El parque esta compuesto de un mosaico de bosque de diferentes edades así como pastizales abandonados (Hartshorn 1983; Janzen 1986; Gerhardt 1993). El bosque tropical seco es uno de los ecosistemas más amenazados, y queda en pie solamente cerca del 1% del área original ( Janzen 1988; Sader y Joyce 1988; Sánchez 1996,).

El clima es estacional muy característico de esta zona de vida con una estación seca que comienza a finales de Noviembre y se extiende hasta mediados de Mayo. La precipitación anual oscila entre los 800 y los 2600 mm, con un promedio anual de 1423.4mm. La temperatura promedio es de 25.7 °C, con una humedad relativa del 81 por ciento ( Rojas 2001).

### ***Descripción de las parcelas***

La selección de las parcelas se realizó con información sobre los últimos fuegos en la zona y por comunicación personal de los mismos guardaparques. Cada parcela midió aproximadamente 4960 metros cuadrados. Estas parcelas presentaron etapas de



sucesión diferentes acompañadas por una composición florística característica del bosque seco, la cual varió según el estadio de sucesión de cada sitio (cuadro 1)

### **Recolección de las muestras**

La muestra estuvo compuesta por 100 individuos extraídos de cinco sitios. La extensión total y el estadio sucesional de esos sitios se describió en el cuadro número 1. Se recolectaron hojas y brotes nuevos de 20 individuos de cada una de las cinco parcelas. Además, se incluyeron tejidos de un total de 15 árboles adultos en áreas aledañas principalmente de las parcelas denominadas Jenny I y Jenny II. El material obtenido fue colocado en bolsas plásticas con cierre en las cuales se incluyeron aproximadamente 20 g. de Silica gel para deshidratar los tejidos garantizando la preservación del ADN. Una vez en el laboratorio, las muestras fueron almacenadas en bolsas de papel debidamente etiquetadas y colocadas en un lugar oscuro y seco hasta el momento de su procesamiento.

### **Buffer de extracción del ADN**

Se extrajo el ADN de las hojas y los brotes nuevos, de *S. macrophylla* utilizando un protocolo modificado del propuesto por Karp *et al.* (1998) y Lohdi *et al.* (1994). Para ello se tomaron aproximadamente 250 mg de tejidos foliares y/o brotes nuevos se pulverizaron en nitrógeno líquido y se colocaron en tubos Ependorf de 1.5 ml. Al tejido pulverizado se le agregaron 600  $\mu$ l de un litro de extracción compuesto por Tris-HCl y EDTA en concentraciones de 0.1 M y pH 8.0, NaCl 1M, CTAB y PVP al 2% y finalmente  $\beta$ mercaptoetanol al 1% en una relación de 24 volúmenes de octanol y 1 de mercapto.

**Método de extracción de ADN**

1. Se maceraron unos 250 miligramos de muestra en nitrógeno líquido y se pasaron a tubos eppendorf de 1.5 ml. Se guardaron a 5 °C, hasta el siguiente paso.
2. Se precalentó el buffer de extracción a 30 °C y se agregó 600µl a cada muestra procediéndose a homogeneizar por agitación. Las muestras luego fueron incubadas a 60 °C por 40 minutos. Las muestras se agitaron cada 10 minutos para asegurar una digestión homogénea.
3. Al final de la digestión, las muestras fueron centrifugadas por espacio de 10 minutos a 12 000 revoluciones por minuto y a una temperatura de 10 °C.
4. El sobrenadante fue trasvasado a un nuevo eppendorf de 1.5 ml y se agregó 1 volumen de cloroformo octanol (24-1) agitando suavemente hasta generar una emulsión.
5. Se realizó una nueva centrifugación en las mismas condiciones que la anterior y de nuevo se trasvasó el sobrenadante a otro eppendorf. Se agregaron 1/10 volúmenes de NaAC 3 molar ph 5.2, en conjunto con 0,6 volúmenes de isopropanol frío.
6. Se dejó reposar unas 10 a 20 horas a una temperatura de -12 °C.
7. El precipitado se lavó con ETOH 70% dos veces seguidas y finalmente, después de dejarlo secar por espacio de 10 a 15 minutos se resuspendió el producto en 100 ml de buffer TE 1M.

### ***Cebadores utilizados***

El proceso de caracterización del ADN de las muestras mediante microsatélites se realizó con la ayuda de diez iniciadores desarrollados en trabajos previos de White y Powell (1997). De los diez cebadores iniciales, mac44, mac49, mac52, mac59 y mac83 amplificaron satisfactoriamente. Las características de estos 5 cebadores se muestran en el cuadro No.2.

### ***Reacción en cadena de la Polimerasa (PCRs) y revelado***

La amplificación selectiva de los microsatélites de ADN se realizó en un Rapidcycler de Idaho Technology con capacidad para 54 muestras por cada corrida. Cada reacción se realizó en un tubo Eppendorf con un volumen total de 20  $\mu$ l que contenía 3.3  $\mu$ l de cuyo buffer para PCR 10X (50  $\mu$ M Tris-HCl ph 8.3, 2,5 mg/ml de BSA y 10  $\mu$ M MgCl<sub>2</sub>), 2  $\mu$ l (0.3 unidades) de Taq Polimeraza, (Promega), 2.6  $\mu$ l (0.32 mM) de dNTPs, 2  $\mu$ l de AND patrón y 9.7  $\mu$ l de agua desionizada y autoclavada. Se adicionaron 1.6  $\mu$ l (0.4  $\mu$ M) de los cebadores, tanto a favor como contracorriente. Las condiciones de la reacción fueron las siguientes: un minuto a 94 °C, seguido de 30 ciclos de 5 segundos a 94 °C, 10 segundos a 55 °C y 35 segundos a 72 °C. La fase de extensión final duró cuatro minutos a una temperatura de 72 °C.

El producto de la reacción se corrió en geles de Poliacrilamida y se revelaron utilizando tinción de plata (Promega). Los diferentes alelos de cada locus fueron identificados de una forma arbitraria, donde al más anodal de los alelos se le asignó el número "1" y así sucesivamente con el resto.



---

**Análisis de los datos**

La diversidad genética de cada sitio se cuantificó calculando diferentes índices de diversidad. Entre los índices utilizados estaban: número de alelos por locus, número efectivo de alelos por locus, heterocigosidad observada ( $H_o$ ), y la heterocigosidad esperada ( $H_e$ ) según el modelo de equilibrio Hardy-Weinberg para cada locus y el promedio para todos los loci. El nivel de significancia de las frecuencias alélicas entre las localidades fue estimada mediante pruebas de exactitud. Este análisis se realizó utilizando el programa POPGENE 1.31. Además, la diferenciación genética se determinó mediante un modelo de alelos infinitos  $F_{st}$  (Weir & Cockerham 1984). El grado de relación entre localidades basado en las distancias genéticas de Nei, se representó en un árbol utilizando UPGMA. Se probó la solidez de los agrupamientos para el árbol mediante mil simulaciones realizadas en POPGENE 1.31

## Resultados

En este trabajo se encontraron niveles significativos de diversidad genética en todos los sitios. Para los cinco microsatélites que amplificaron se identificaron 21 alelos en 89 de los 96 individuos estudiados (Cuadro 2). Los niveles de variación fueron también altos para cada estadio sucesional analizado; donde se encontraron entre 14 y 21 alelos en los sitios estudiados (figura 2).

Se observó más de un alelo en cada uno de los cinco loci examinados, de ellos casi todos los alelos se encontraban presentes en más de un sitio. Además, todos los alelos estuvieron presentes con una frecuencia mayor al 1%. Destaca el hecho de que los dos estadios sucesionales más recientes contienen un alto número de alelos (21), mientras que el Bosque Maduro presentó el menor número de alelos (14).

Existía heterocigosidad en las frecuencias alélicas entre los sitios (cuadro 3). Por ejemplo, los alelos 6 del locus MAC49 y 2 del locus MAC 83 se encontraban únicamente en Jenny I. Además para los loci MAC49 y MAC 52, el alelo más frecuente variaba de un sitio a otro. Para los loci , MAC 59, MAC 83 y MAC 44 el alelo más frecuente fue el mismo en todos los sitios.

Con base en los resultados se observó un descenso en el número de alelos encontrados en cada sitio conforme la edad del estadio sucesional aumentaba. En los estadios más jóvenes, Jenny I y Jenny II, se encontraron más alelos (21 y 18 alelos respectivamente) que los encontrados en el bosque maduro (14 alelos). En los otros dos sitios intermedios se observó la misma tendencia, mientras que el sitio más viejo, en este caso Príncipe, mostró menos alelos que Las Mesas ( Figura 2 y Cuadro 3)



Los resultados del análisis de la diversidad genética se muestran en el cuadro 4. Se encontró que el número promedio de los alelos por locus varió entre 2.8 y 4.0. Sin embargo, la variación del número efectivo de alelos en promedio es pequeño con un ámbito entre 2.22 y 2.70. De forma parecida, la heterocigosidad esperada estuvo entre 0.45 y 0.58. Uno de los locus, mac49 no calzó dentro del equilibrio Hardy –Weimberg en tres de los sitios. Esta desviación podría resultar del número relativamente pequeño de la muestra en relación con el número de genotipos potenciales.

La diferenciación genética entre los 5 sitios fue calculada utilizando el estimador de distancias de Nei (Nei 1997). En general, el sitio conocido como Príncipe fue genéticamente el más distante de todos. Las distancias genéticas entre los sitios variaron de 0.1805 a 0.0272. Las distancias geográficas no estuvieron correlacionadas con las distancias genéticas debido a que los dos estadios sucesionales tempranos, Jenny I y Jenny II, eran adyacentes uno del otro y presentaban una distancia genética de 0.0889. De forma parecida se encontró que otros dos sitios adyacentes ( Príncipe y Bosque Maduro) tuvieron una distancia de 0.1656 siendo esta la segunda distancia más alta. En contraste, 2 sitios también adyacentes, Las Mesas y Bosque Maduro presentaron la segunda distancia genética más baja (0.0309). El  $F_{st}$  promedio de todos los loci fue solamente de 0.0631, indicando una débil diferenciación genética y por ende un flujo génico significativo entre los sitios (cuadro 5). El rango de variación de los valores de  $F_{st}$  para cada uno de los locus fue también bajo, con niveles significativos de intercambio genético entre los sitios.

Adicionalmente, el promedio  $F_{is}$  fue también bajo, indicando que la estructura entre los sitios (por autopolinización o efecto Wahlunt) no fue significativa (Cuadro 5). Sin embargo, algunos loci presentaron altos valores de  $F_{is}$ , indicando ya sea deficiencia o

exceso de heterocigotos. Una vez más, estos valores podrían ser el resultado de un tamaño de muestra relativamente pequeño en relación con el número potencial de genotipos.

Las distancias genéticas entre los 5 sitios en Santa Rosa fueron representadas en el árbol filogenético de la figura 4. Dos sitios, Jenny I y las Mesas, con edades similares desde el último disturbio presentaron similitudes en cuanto a la composición de especies. Dos sitios, Jenny II y las Mesas con edades parecidas desde el último disturbio son los sitios más cercanos. Estos sitios también comparten una composición y estructura parecida.

Geográficamente los sitios más cercanos deberían compartir los árboles que contribuyen con semillas en estos sitios, resultando en una composición alélica similar. Sin embargo, Príncipe estaba también al lado del Bosque maduro pero en el dendrograma presentó menor cercanía con este que las Mesas. Adicionalmente Príncipe se encontraba en tal posición geográfica respecto de Las Mesas y bosque seco que hace que los vientos que corren durante la época de liberación de frutos sean predominantemente paralelos a éstas teniendo esto un efecto en el grupo de árboles que aportan semillas y cuyo efecto puede explicar su posición alejada en el dendrograma respecto de las Mesas y Bosque Maduro.

Del análisis de los adultos encontrados, tanto dentro como en áreas aledañas a las parcelas en estudio, se obtuvieron diferencias no solo en cuanto a la cantidad de alelos encontrados respecto de los presentes en los juveniles, sino también algunos otros alelos que no estaban presentes en las poblaciones estudiadas.



### Distribución de tamaños y número de individuos

Las distribuciones de individuos por parcela demostraron que existe un decrecimiento en la abundancia y tamaño de los individuos dentro de las parcelas ( figura 5 ). Siendo el estadio sucesional (Jenny I) más reciente el que poseía la mayor cantidad de individuos con tamaños que oscilaban entre menos de un metro y los 5 metros mientras que los tres estadios sucesionales intermedios presentaron un número parecido de individuos, pero las frecuencias de tamaños son diferentes, siendo los estadios con más años en regeneración los que poseían individuos con alturas mayores. Por su parte en el Bosque maduro había una distribución de tamaños claramente sesgada con algunos individuos de menos de dos metros y tan solo 1 de más de 10 metros. Cabe agregar que la mayoría de los individuos marcados en el sitio de bosque húmedo murieron durante el desarrollo de este estudio.

El análisis de los adultos en edad reproductiva que se encontraban tanto dentro como en las cercanías de las parcelas reveló que éstos no establecían la diversidad alélica encontrada en cada sitio (cuadro 5). Los datos mostraron que hay menos alelos en los árboles en edad reproductiva que en las plántulas y árboles jóvenes recolectados en las parcelas. Por ejemplo, para el locus mac49 se identificaron seis alelos en la Jenny I; mientras que los árboles adultos solamente presentaron 3. Adicionalmente se encontró que 2 de los alelos encontrados en los adultos no se encontraban en los juveniles de las 5 parcelas.

## Discusión

### Variación Genética

La estructura genética de árboles tropicales ha sido objeto de estudio en trabajos recientes ( Buckley *et al.*, 1988; Hamrick, 1993; Rocha y Lobo, 1996; Rosetto *et al.*, 1999). Estos trabajos han encontrado un alto grado de variación genética, en árboles y arbustos, mucha de la cual, se encuentra dentro de las poblaciones y/o sitios. Como resultado de lo anterior la diferenciación genética entre poblaciones es poca. Tal es el caso de los estudios realizados por Chase *et al.* (1995) en su trabajo sobre la variación genética de *Cordia alliodora* en 11 poblaciones ubicadas desde Guatemala hasta Costa Rica. En contraste, Hall *et al.* (1994a) reportó que para *Pentaclethra macroloba* en las llanuras del atlántico de Costa Rica, la diferenciación genética encontrada entre poblaciones fue del 21.9% del total de la variación genética

Los resultados presentados aquí, indican que existen niveles significativos de variación genética en todos los sitios, a pesar del alto grado de degradación del hábitat experimentado en la zona. Sobre todo, se encontró que todos los loci examinados fueron polimórficos para el total de los sitios. Adicionalmente, se encontraron 21 alelos entre los cinco loci, para un promedio de 4.2 alelos por locus, con hasta 20 alelos en un solo sitio (Cuadro 3). De los resultados se desprende que la mayoría de la variación se encuentra dentro de los sitios, lo cual refleja una buena dispersión alélica.

En otras especies de meliáceas, los niveles de diferenciación genética han sido objeto de estudio. Por ejemplo, Hall *et al.* (1994d) realizaron su trabajo en diversidad genética y tasas de exocruzamiento de nueve poblaciones de *Carapa guianensis* en



Costa Rica. Ellos determinaron que la variación entre las poblaciones correspondía solamente al 4.6%, a pesar de que estas poblaciones se encontraban aisladas con distancias de hasta 70 km. De forma parecida, Doligez y Joly (1997 a, 1997 b) reportaron bajos niveles de diferenciación genética entre los parches de *Carapa procera* en la Guyana francesa. Adicionalmente, Giles *et al.* (1999) desarrollaron un trabajo sobre la diversidad genética de poblaciones Mesoamericanas de *Swietenia macrophylla* utilizando RAPDs como marcadores genéticos y encontraron que el 80% de la variación se mantuvo dentro de las poblaciones. Basados en estos hallazgos, ellos propusieron que *S. macrophylla* es una especie que tiende predominantemente al exocruzamiento. La diferenciación genética entre las localidades estudiadas aquí es baja, y apoya lo propuesto por Giles *et al.* (1999), el cual indica que *S. macrophylla* experimenta un flujo génico extensivo. Se concluye entonces que, *S. macrophylla* es una especie en la cual se da el exocruzamiento de forma substancial lo cual contribuye de forma directa a experimentar un extensivo flujo génico.

Otros autores han estudiado los niveles de variación genética de especies relacionadas. Se tienen los trabajos realizados en *Swietenia humilis* (White y Powell 1997; White, Boshier, y Powell 1999) en los cuales se determinaron los niveles de diversidad genética dentro de poblaciones fragmentadas en Choluteca, Honduras. Como resultado de estos trabajos se concluyó que los altos niveles de diversidad genética observada son típicos de especies que presentan un altísimo exocruzamiento. Además estos autores, reportaron que la mayoría de la variación fue encontrada dentro de los fragmentos, concluyendo indirectamente que existe un flujo génico significativo entre fragmentos. Sin embargo, ellos propusieron que uno de los efectos iniciales de la fragmentación es la pérdida de alelos con frecuencias bajas en los bosques continuos.

Algo que sin duda puede tener un efecto pero que desgraciadamente escapó a los resultados del presente estudio.

La mayoría de las especies de los bosques tropicales investigadas hasta ahora manifiestan exocruzamiento con un extensivo flujo génico (Ashton, 1969; Bawa *et al.*, 1985; Hamrick y Murawski, 1991, Hamrick *et al.*, 1991, Hall *et al.*, 1994a, 1994b, 1996; Doligez y Joly, 1997a). Estudios en isoenzimas han permitido dilucidar los sistemas de apareamiento de estas especies y por lo tanto también respaldan la predominancia de los sistemas de exocruzamiento en los árboles del Bosque Tropical lluvioso (O'Malley y Bawa, 1987; O'Malley *et al.*, 1988; Murawski *et al.*, 1990, Hamrick y Murawski, 1991, 1992, 1994; Hall *et al.*, 1994a, 1994b, 1996; Doligez y Joly, 1997, Tim *et al.*, 1998). Doligez y Joly (1997) recientemente han revisado las tasas de exocruzamiento reportadas para 28 especies de árboles en poblaciones naturales. Ellos encontraron que para 20 de estas especies el estimado de las tasas de exocruzamiento fue 0.80. Giles *et al.* (1999) alega que los niveles de diferenciación genética que ellos encontraron en sus resultados concuerda con la idea de que *S. macrophylla* es una especie que presenta predominantemente exocruzamiento. Por todo lo anterior es claro que esta especie es predominantemente exógama, y posee mecanismos para evitar la autopolinización de manera efectiva y aunque estudios posteriores son necesarios para precisar tales mecanismos se concluye que los mismos existen y juegan un papel preponderante en la biología de la *S. macrophylla*.

Los árboles en edad reproductiva ubicados tanto dentro como en la vecindad de las parcelas en sucesión no determinan la riqueza alélica encontrada. Lo anterior por cuanto se encontró una mayor cantidad de alelos en las plántulas y juveniles que en los adultos reproductivamente activos (Cuadro 3 y 5). James *et al.*, 1998 y Rocha *et al.*



(2001) indican que existe una diferencia en las frecuencias alélicas de los árboles que contribuyen con polen y aquellos que producen las semillas. Según los resultados los aportes realizados por árboles fuera de los linderos de los sitios sin duda son importantes y contribuyen de manera significativa. Además pese a no poder determinar los posibles donadores se puede concluir que estos se encuentran fuera de los rangos en que los adultos censados fueron encontrados, con distancias que superan los 500 metros.

Aunque no se realizaron estudios comparativos entre individuos aislados y poblaciones en bosque continuo durante este estudio. Trabajos realizados en el bosque seco de Costa Rica, encontraron que existe una diferencia en el vigor de la progenie (Cascante, 1999, Rocha y Aguilar, 2001). Indicando que el vigor es menor en la progenie de individuos aislados que en la de individuos en bosques continuos. Aducen los autores que esto está ligado directamente a los genotipos aportados en el polen. Es clara entonces la importancia de estos árboles aislados de *S. macrophylla* en el proceso de regeneración, al actuar como trampas de polen. Captando la variabilidad existente en el área.

El impacto de la corta selectiva en la variación genética de los árboles de bosques tropicales ha sido estudiado por otros autores ( Snook, 1996; Doligez y Joly 1997b; Hall *et al.*, 1994). Hall *et al.* (1994) menciona que la tala selectiva de *Carapa Guianensis* en Costa Rica no ha reducido la variación genética. Ellos proponen que la alta densidad y sincronía a la hora de la floración contribuyen a promover el exocruzamiento, lo cual permite mantener altos niveles de variación genética dentro de las poblaciones. En contraste, Doligez y Joly (1997b) reportan que las tasas de exocruzamiento estimado para *Carapa procera* en parches talados en la Guyana



Francesa son más bajas que en parches donde no ha habido disturbio, y proponen que el decrecimiento en la densidad probablemente no es la única causa del detrimento de las tasas de exocruzamiento en los lugares en que a ocurrido disturbio. Por su parte Rocha y Aguilar (2001) realizaron trabajos tendientes a esclarecer la dinámica en las tasas de exocruzamiento en su trabajo comparativo de *E. cyclocarpum* en parches de bosque continuo y árboles aislados. Ellos, no obtuvieron diferencias significativas en las tasas de exocruzamiento de *E. cyclocarpum* pero encontraron un efecto negativo en el vigor de la progenie de árboles aislados así como otros efectos colaterales. Resultados muy similares fueron obtenidos por Cascante(1999) en *S. saman* donde tampoco hubo diferencias significativas en las tasas de exocruzamiento de tratamientos en bosque continuo e individuos aislados. Adicionalmente Giles *et al.* (1999) atribuyen los bajos niveles de diferenciación encontrados en *S. macrophylla* a un extensivo flujo génico y argumentan que una alta diferenciación en poblaciones podría ser suscitada por disturbios importantes. Donde cambios en los comportamientos de insectos polinizadores pueden derivar en un flujo genético limitado. Por lo tanto, se concluye que a pesar de encontrar una alta variabilidad genética de *S. macrophylla* en los sitios en sucesión esta no es garantía de sobrevivencia y recuperación perse. Y se considera importante tomar en cuenta otros factores tales como flujo génico, densidad de individuos en edad reproductiva, agentes polinizadores, movimiento de polen y dispersión de semillas para comprender mejor el fenómeno de repoblación en *S. macrophylla*.

La reducción de hábitad continuos en muchos parches aislados espacialmente representan un factor significativo a la sobré vivencia en periodos de tiempo relativamente grandes en muchas especies de plantas (Saunder, Hobbs y Margules, 1991; Young Boyle y Brown, 1996; Nason, Aldrich and Hamrick, 1997). Se ha propuesto que el aislamiento

reproductivo es una consecuencia importante en la fragmentación del bosque y puede tener un efecto directo en la biota de parches remanentes (Saunders, Hobbs y Margules, 1991). Además, El aislamiento reproductivo está frecuentemente asociado con la reducción en los tamaños de las poblaciones de plantas en turno, pudiendo resultar en una pérdida drástica de variabilidad genética debido a deriva, reducción del flujo génico, incremento en la auto polinización y depresión por endogamia (Templeton, Shaw, Routman y Davis, 1990; Young, Boyle y Brown, 1996). Sin embargo, White, Boshier, y Powell (1999) argumentan que existen altos niveles de flujo génico en las poblaciones fragmentadas de *S. humilis* que ellos estudiaron en Honduras. Conclusiones similares pueden ser inferidas para *S. macrophylla* en base a los trabajos desarrollados por Giles *et al.* (1999). Los resultados obtenidos en este trabajo no solo concuerdan con lo propuesto por estos autores sino que también ilustran el enorme potencial de regeneración de importantes especies maderables que han sufrido episodios de sobre explotación y degradación del hábitat.

### Conservación de los recursos genéticos.

Hace cerca de 30 años que el Parque Nacional Santa Rosa fue establecido. Las tierras protegidas no eran más que un mosaico de plantaciones, pastizales y parches de bosque a menudo sometidos a episodios de sobre explotación que incluían fuegos estacionales y cuyo resultado era una alta degradación del ecosistema. Ante estas prácticas el reclutamiento de nuevos individuos de *S. macrophylla* y en general de cualquier especie de árbol, prácticamente se paralizó en muchos sectores de lo que hoy es el parque (Janzen 1986). A pesar de todo esto, los resultados obtenidos indican que todavía existe un buen nivel de variabilidad genética en las plántulas y árboles jóvenes de *S. macrophylla* que se están incorporando en diferentes estadios sucesionales. Los resultados también indican, que los pocos adultos dejados en los campos, junto con



algunos juveniles que no fueron talados en el pasado, son ahora una muestra viviente de la diversidad genética que estuvo presente en el área. Por lo tanto estos árboles sirven como un elemental reservorio para la recolonización de los pastizales abandonados.

Típicamente, se ha pensado que la dispersión de semillas esta mucho más limitada que la dispersión de polen (Hamilton 1999). Para *Swietenia*, existe información que sugiere que existen altos niveles de flujo génico entre fragmentos de bosque (White, Boshier y Powel 1999) y /o poblaciones (Guilles *et al.*, 1999). En general muchos autores proponen que la dispersión de semillas es limitada (Janzen 1988, Poveda 1976, White *et al.*, 1999). Por ejemplo, White, Boshier y Powell (1999) subrayan que la dispersión de semillas en *Swietenia humilis* es restringida. Indican los autores, que la mayoría de las semillas son dispersadas a no más de 50 metros. Adicionalmente, Hammond (1995) reportó una alta depredación de semillas durante los dos meses siguientes a la dispersión, estos estudios indican que el ataque de vertebrados constituye 98.4% de la pérdida total de semillas. Sin embargo, el presente trabajo nos hace pensar que la dispersión semillas es más importante de lo que se supone y que a pesar del alto nivel de predación de semillas seguidas a la dispersión, debería ser considerado para comprender mejor los altos niveles de diversidad genética reportados aquí. Por otro lado se propone que los pastizales abandonados proveen una situación ideal para el estudio de la dispersión de semillas y su contribución al flujo génico. Eso podría también ilustrar el impacto negativo que ha tenido el fuego sobre el establecimiento de plántulas después de que los pastizales fueran abandonados y su efecto ulterior en el restablecimiento de la diversidad genética.



Al hablar de la diversidad genética de los sitios propiamente. Esta disminuye conforme aumenta la edad de los sitios. Es posible que estos estén ligados a los periodos en los cuales nuevos individuos reproductivamente activos fueron reclutados aportando más alelos conforme fueron incorporándose nuevos individuos a los periodos reproductivos. Por otro lado los resultados pueden deberse a un efecto de sitio. También esta disminución en puede deberse simplemente al efecto de la selección natural donde se obtiene una mortalidad diferenciada sobre ciertos genotipos en condiciones particulares. Esto último basado en la mortalidad ocurrida en Bosque Maduro donde todas las plántulas menores de un metro murieron ( observación personal ) en un solo evento disminuyendo drásticamente la población de dicho sitio. Debido a la ambigüedad que existe, son necesarios estudios ulteriores para dilucidar cuales son las causas reales de esta caída en las frecuencias y esclarecer el porque de la disminución de las frecuencias alélicas.

Los resultados de este estudio muestran que existe una población de *S macrophylla* en proceso de recuperación. Se ha encontrado una variabilidad genética aceptable, como lo indican los indicadores de diversidad utilizados. Por ello, se considera que la estrategia utilizada por las autoridades del Parque Nacional Santa Rosa es una opción de bajo costo y efectiva para acelerar la regeneración natural después del abandono de pastizales. Además, los resultados obtenidos sugieren que este manejo también es efectivo para conservación *in situ* de la diversidad genética de *S. macrophylla*. Sin embargo, se debe estar consiente de la fragilidad del proceso y la susceptibilidad de los estadios en sucesión a nuevos disturbios causados por los fuegos.

Aunque pareciera que no es necesario conectar fragmentos de bosque para mantener la variabilidad genética de *S. macrophylla*. La realidad es que no conocemos cuanto de la variabilidad genética presente antes de la colonización se ha perdido. Por lo tanto, estos resultados justifican la realización de un esfuerzo mayor para garantizar que el proceso de erosión génica no siga ocurriendo. Sin embargo, dadas las limitaciones para la compra de tierras destinadas a la conservación, es necesario involucrar más activamente a los finqueros para que estos brinden un manejo diferente de sus fincas. Entre las prácticas que pueden recomendarse está el mantener individuos de esta especie en cercas vivas, donde puedan promover la visitación por parte de sus polinizadores y con ello el flujo génico. Para que lo anterior mantenga la rigurosidad científica necesaria, es imprescindible el desarrollo de estudios que documenten la dinámica de los polinizadores y los niveles de flujo génico que puedan ocurrir en estos ambientes.

**Bibliografia**

- Basgall M. 1996. Logging is Creating "Mahogany Deserts". Duke University Research Magazine.  
<http://www.dukeresearch.duke.edu/dukeresearch/dr97/mahogany.htm>. Pp: 1-4
- Buckley DP, DM O'Malley, V Apsit, GT Prance, KS Bawa. 1988. Genetics of Brazil nut (*Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl.: Lecythidaceae). I. Genetic in natural populations. Theoretical and Applied Genetics. 76:923-928.
- Chase MR, DH Boshier, KS Bawa. 1995. Population genetics of *Cordia alliodora*, a neotropical tree. I. Genetic variation in natural populations. American Journal of Botany, 82:468-475
- Chase M, Kessell & Bawa KS. 1996. Microsatellite Markers For Population and Conservation Genetics of Tropical Trees. American Journal of Botany, 83(1):51-57
- Chalmers KJ, Newton AC, Waugh R, Wilson J & Powell W. 1994. Evaluation of the extent of genetic variation in Mahoganies (Meliaceae) using RAPD markers. Theoretical and Applied Genetics 89(4):504-508.
- Karp A, G. Peter, Ingram I & Ingram D. 1998. Molecular Tools for Screening Biodiversity. Edit by Chapman & Hall. Pp:26
- Frankel OH, Brow AHD & Burdon JJ. 1995. The Conservation of Plant Biodiversity. Edit. Cambridge University Press. Pp: 299
- George M. 1992. Mahogany Report. Published by Friends of the Earth.  
<http://nativenet.uthscsa.edu/archive/nl/9205/0061.html>. Pp: 1-26
- Gerhardt, K. 1993. Tree seedling development in tropical dry abandoned pastures and secondary forest in Costa Rica. Journal of Vegetation Sciences 4: 95-102.



- Gilles ACM, Navarro C, Lowe AJ, Newton AC, Hernández M, Wilson J y Cornelius JP. 1999. Genetic diversity in Mesoamerican populations of mahogany (*Swietenia macrophylla*), assessed using RAPDs. *Heredity* 83:722-732
- Goldstein D. B. & Schlötterer C. 2001. *Microsatellites Evolution and Applications*. Published by Oxford University Press. Pp: 352
- Grijma P. 1973. Studies on the shoot borer *Hypsyla grandella* ( Zeller) (Lep. Pyralidae) XVIII. Records of two parasites new to Costa Rica. CATIE-IICA. Costa Rica. Turrialba. 23(2):235-236.
- Guarino, L, Ramanatha, V & Reid, R .1995. *Collecting Plant Genetic Diversity: Technical Guidelines*. Edit. International Plant Genetic Resources Institute. 748 pp
- Hall, P , Orrell LC & Bawa, K . 1994. Genetic Diversity and Mating System in a Tropical Tree, *Carapa gualanensis* ( Meliaceae). *Journal of Botany*. 81(9):1104-1111
- Hamrick JL & Loveless MD. 1989. The genetic structure of tropical tree populations: associations with reproductive biology. Páginas 129-146 en JH Bock, YB Linhat, eds. *The evolutionary ecology of plants*. Westview, Boulder, Colo.
- Hamrick JL and D Murawski. 1990. The breeding structure of tropical tree populations *Plant Species Biol.* 5:157-167.
- Hamrick JL and D Murawski. 1991. Levels of allozyme diversity in populations of uncommon Neotropical tree species. *Journal of Tropical Ecology* 7:395-399.
- Heywood JL and Fleming TH. 1986. Patterns of allozyme variation in three tropical species of *Piper*. *Biotropica* 18:208-21
- Holdridge LR & Poveda LJ. 1975. *Árboles de Costa Rica*. Centro de Ciencias Tropicales, San José. Costa Rica.. Vol. I

- Holdridge, L.R. 1967. Life zone ecology. Tropical Science Center, Rev. Ed., San José, Costa Rica.
- Janzen, D.H. 1988. Tropical dry Forest: the most endangered major tropical ecosystem. *In*: E.O. Wilson (Ed) Biodiversity, pp. 130-137. National Academy Press. Washington, D.C.
- Kriecher JCA. 1990. Neotropical Companion: an introduction to the animals, plants and ecosystems of the new world tropics. New Jersey . Princeton University Press. Pp: 435
- Lodhi, M. A. Ye, G. N. Weeden, N. F. y Reisch, B. I. 1994. A simple and efficient method for DNA extraction from grapevine cultivars and vitis species. Plant Molecular Biology Reporter. 12 (1): 6-13.
- Mayhew J. 2000. The Future of Mahogany Plantations. ITTO Newsletter. <http://www.itto.or.jp/newsletter/v7n2/14future.html>. Pp. 1-3
- Mastrantonio JL & Francis JK.. 2000. A Student Guide To Tropical Forest Conservation. <http://www.fs.fed.us/global/zone/student/tropical.html>. Pp: 1-11
- Maxted, N, Ford-Lloyd, BV & Hawkes, JG. 1997. Plant Genetic Conservation: The *in situ* approach. Edit. Chapman y Hall. Pp: 446
- Navarro, PC. 1997. Variación Genética de la *Swietenia macrophylla* en Upala Norte de C.R.
- Navarro PC & Hernández M. 1996. Informe anual interno del proyecto de diversidad genética de Caoba. CATIE. Costa Rica. Pp: 4.
- Newton AC .1990. Selección por resistencia al perforador de las meliáceas. Mejoramiento Genético y Semillas Forestales para América Central. Turrialba. Costa Rica. CATIE. Noticiero (5).
- Newton AC ,Cornelius JP, Mesén JF & Leakey RRB. 1995. Genetic variation in Apical Dominance of *Cedrela odorata* seedlings in response to decapitation. *Silvae Genetia* 44(2-3).

- Pacheco Moscoa A. 1998. Inventario Florístico Durante La Sucesión del Bosque Tropical Seco, Parque Nacional Santa Rosa, Guanacaste. Instituto Tecnológico de Costa Rica, Departamento de Ingeniería Forestal. Informe de Práctica Especial. Pp: 103
- Patiño VF. 1996. Recursos Genéticos de Especies de la Familia Meliaceae en los Neotrópicos : Prioridad para acciones coordinadas. México. Centroamérica y El Caribe. Forestry Department. FAO.Rome,Italy.
- Patiño VF .1997. Recursos Genéticos de *Swietenia macrophylla* y *Cedrela odorata* en el neotrópico: Prioridades Para Coordinar Acciones. Recursos Genéticos Forestales # 25. Rome:FAO.
- Pennington TD y Styles BT. 1975 . A generic monograph of the Meliaceae. Blumea 22(3):419-540.
- Pennington TD. 1981 A monograph of the neotropical Meliaceae. Flora neotropica . New York. The New York Botanical Gardens. 360-390
- Pérez\_Nasser N, Eguiarte LE, Piñero D. 1993. Mating systems and genetic structure of the distylous tropical tree *Psychotria faxlucens*( Rubiaceae). Am J Bot 80:45-52
- Rojas Jiménez K. 2001. Fenología de la copa y del sistema de raíces finas de *Enterolobium cyclocarpum* (guanacaste) un árbol de brotación temprana en el bosque tropical seco. M.SC. Thesis. Sistema de Estudio de Posgrado, Universidad de Costa Rica.
- Rocha J O Y Lobo A J. 1996 Genetic variation and differentiation among five populations of the guanacaste tree (*Enterolobium cyclocarpum* Jacq.) in Costa Rica. Int. J. Plant t Sci.157(2):234-239.
- Rocha JO & Aguilar G. 2001. Variation in the Breeding Behavior of the Dry Forest Tree *Enterolobium Cyclocarpum* (Guanacaste) in Costa Rica. American Journal of Botany in press
- Sader SA & Joyce AT. 1988. Deforestation rates eand trends in Costa Rica Biotropica 20:11-19



- Sanchez-Azofeifa GA. 1996. Assessing land use/cover changes in Costa Rica. Ph.D. Dissertation, University of New Hampshire, New Hampshire.
- Schoonhoven L M. 1974. Studies on the shoot borer *Hypsyla grandella* Zeller (Lep. Pyridae) XXIII Electroantennograms (EAG) as a tool in the analysis of insect attractants. CATIE. Costa Rica. Turrialba. 24(1):24-29.
- Schveja D. 1998. Mahogany is Murder Campaign. Published by Rainforest Relief. <http://www.enviroweb.org/rainrelief/campaigns/mahogany.html>. Pp: 1-7.
- Snook L. K. 1996. Catastrophic disturbances, logging and the ecology of mahogany (*Swietenia macrophylla* King): grounds for listing a major tropical timber species in CITES. Botanical Journal of the Linnean Society 122:35-46.
- Styles BT & Khosla PK. 1976. Cytology and Reproductive Biology of Meliaceae. In: Tropical trees: Variation, breedings and conservation. Burley J. & Styles B.T. (eds). Linnean Society. Symposium. Series Number 2:61-68.
- Vantomme P. 1991. The timber export potential from the Brazilian Amazon. *Revue Bois et Forêts des Tropiques*. (227):69-74.
- White G & Powell W. 1997. Isolation and Characterization of Microsatellite Loci in *Swietenia humilis* (Meliaceae): an Endangered Tropical Hardwood Species. *Molecular Ecology*, 6, 851-860.
- White G & Powell W. 1997. Cross-specie Amplification of SSR Loci in the Meliaceae Family. *Molecular Ecology*(6), 1195-1197
- Whitmore J L. 1983. *Swietenia macrophylla* and *S. humilis* (Caoba, mahogany). En Janzen, D.H. (ed) *Historia Natural de Costa Rica*, pp. 331-333. University of Chicago Press, Chicago, IL.
- Wier, B.S. and C. C. Cockerham. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. Evolution 38: 1358-1370.

---

Templeton A R & Read B.1994.Imbreeding : One Word, Several Meanings Much Confusion.  
Conservation Genetics. Chicago press. Pp: 92-105

**Cuadro 1** Sitios sucesionales, última intervención y extensión del estadio en hectáreas Parque Nacional Santa Rosa, Guanacaste, Costa Rica.2001

Sitio	Última intervención En años	Número de Hectáreas
Bosque maduro	100-500	10.22
El Príncipe	20	11.49
Las Mesas	15	11.83
Jenny II	9	6.65
Jenny I	6	9.58

**Cuadro 2:** Secuencias de los cebadores , repeticiones principales, número de alelos y producto de los loci de los 5 microsatelites\*

Locus	Secuencias Repetidas	Iniciador (5'-3')	Tamaño del fragmento
MAC44	(AC)13	TCCCTTCCAGCTTFTTCCTG	184-196
MAC49	(GT)27	TGGCCCTTTCTCGATGTC	105-151
MAC52	(A)10(AC)11	AGGGTCTTTGTTGATGAATACC	234-252
MAC59	(AAT)5(CAT)3	ATCATCGCCGTTGATACATT	197-212
MAC83	(CT)10 (AC)14	GCGATGAATGTTGTACACCG	165-175
		AGCAGCCCGGTTACTAGCATGT	
		TGGAGTAAAGTCGAGGGCTG	
		GGCTGGATATGGCACTTGTT	
		CCTGAAAGCTTAATGGCCAC	
		TCAGCCTTTGAGGGATGAAC	

\* Tomado de G. White and W. Pawel, 1997.



**Cuadro 3** Frecuencia alélica de loci polimórficos de *S. macrophylla* en los cinco sitios de muestreo, Parque Nacional Santa Rosa, Guanacaste, Costa Rica

Locus	Población				
	Jenny I	Jenny II	Las Mesas	Príncipe	Bosque Maduro
<b>Mac49</b>					
n.....	18	19	20	19	19
1.....	0.4722	0.4474	0.3750	0.1842	0.5000
2.....	0.0833	0.1842	0.1750	0.3421	0.0000
3.....	0.0278	0.0526	0.1250	0.3158	0.0000
4.....	0.0278	0.0263	0.0250	0.0000	0.0000
5.....	0.3056	0.2895	0.3000	0.1579	0.5000
6.....	0.0833	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
<b>mac59</b>					
n.....	20	20	16	17	16
1.....	0.7000	0.7250	0.8125	0.6471	0.7188
2.....	0.1250	0.0750	0.0625	0.1176	0.1250
3.....	0.1750	0.2000	0.1250	0.2353	0.1563
<b>mac83</b>					
n.....	20	19	18	17	17
1.....	0.7000	0.8684	0.6944	0.6471	0.7059
2.....	0.0750	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
3.....	0.2250	0.1316	0.3056	0.3529	0.2941
<b>mac44</b>					
n.....	20	17	18	17	18
1.....	0.7250	0.8529	0.6944	0.6471	0.6389
2.....	0.0500	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
3.....	0.2250	0.1471	0.3056	0.3529	0.3611
<b>mac52</b>					
n.....	20	20	20	17	19
1.....	0.5750	0.0750	0.2750	0.2750	0.2368
2.....	0.1250	0.4500	0.2750	0.5000	0.3421
3.....	0.0750	0.2500	0.2250	0.2000	0.2632
4.....	0.0750	0.1750	0.1000	0.0000	0.0526
5.....	0.0000	0.0250	0.0000	0.0250	0.0000
6.....	0.1500	0.0250	0.1250	0.0000	0.1053

**Cuadro 4:** Número promedio de alelos (Na), promedio del número efectivo de alelos por locus (Ne) promedio de la heterosigocidad observada (Ho) y Promedio de Nei de la heterocigosidad esperada (He) para cinco poblaciones de *Swietenia macrophylla* en el Parque Nacional Santa Rosa, Santa Rosa, Guanacaste, Costa Rica. Desviación estándar entre paréntesis \*.

Sitio	Na	Ne	Ho	He
Jenny I	4.00 *(1.41)	2.22 (0.59)	0.50 (0.33)	0.53 (0.11)
Jenny II	3.60 (1.82)	2.27 (1.11)	0.45 (0.34)	0.47 (0.23)
Las Mesas	3.40 (1.52)	2.70 (1.44)	0.52 (0.34)	0.54 (0.21)
Príncipe	3.00 (1.00)	2.22 (1.45)	0.58 (0.25)	0.54 (0.09)
Bosque Maduro	2.80 (1.30)	2.24 (0.93)	0.49 (0.34)	0.51 (0.14)

**Cuadro 5** Estimación de una vía de Nei de las distancias Genéticas en cinco parcelas para *S. macrophylla*, Parque Nacional Santa Rosa, Guanacaste, Costa Rica

Población	Jenny I	Jenny II	Príncipe	Mesas	Bos. Mad.
Jenny I	.....				
Jenny II	0.0889	.....			
Príncipe	0.0426	0.0272	.....		
Las Mesas	0.1805	0.1074	0.0507	.....	
Bos. Maduro	0.0476	0.0394	0.0309	0.1656	.....

**Cuadro 6** Frecuencias alélicas de Adultos de *S. macrophylla* divididos en 2 áreas: la primera corresponde a Jenny I y Jenny II y la segunda corresponde a las Mesas, Príncipe y Bosque Maduro. Parque Nacional Santa Rosa, Guanacaste, Costa Rica.

		Mac59	Mac83	Mac44	Mac49	Mac52
<b>Area I</b>	<b>Alelos</b>					
	A	0.1000	0.6500	0.6000	0.3000	0.1111
	B	0.8500	0.3500	0.2000	0.2500	0.1111
	C			0.2000	0.2500	0.4444
	D	0.0500			0.2000	0.2778
	E					0.0556
<b>Area II</b>	<b>Alelos</b>					
	A		0.6667	0.5833	0.5000	
	B	0.5000	0.3333	0.2500	0.2500	0.6000
	C	0.0833		0.1667	0.1667	0.3000
	D	0.2500			0.0833	
	E	0.1667				0.1000



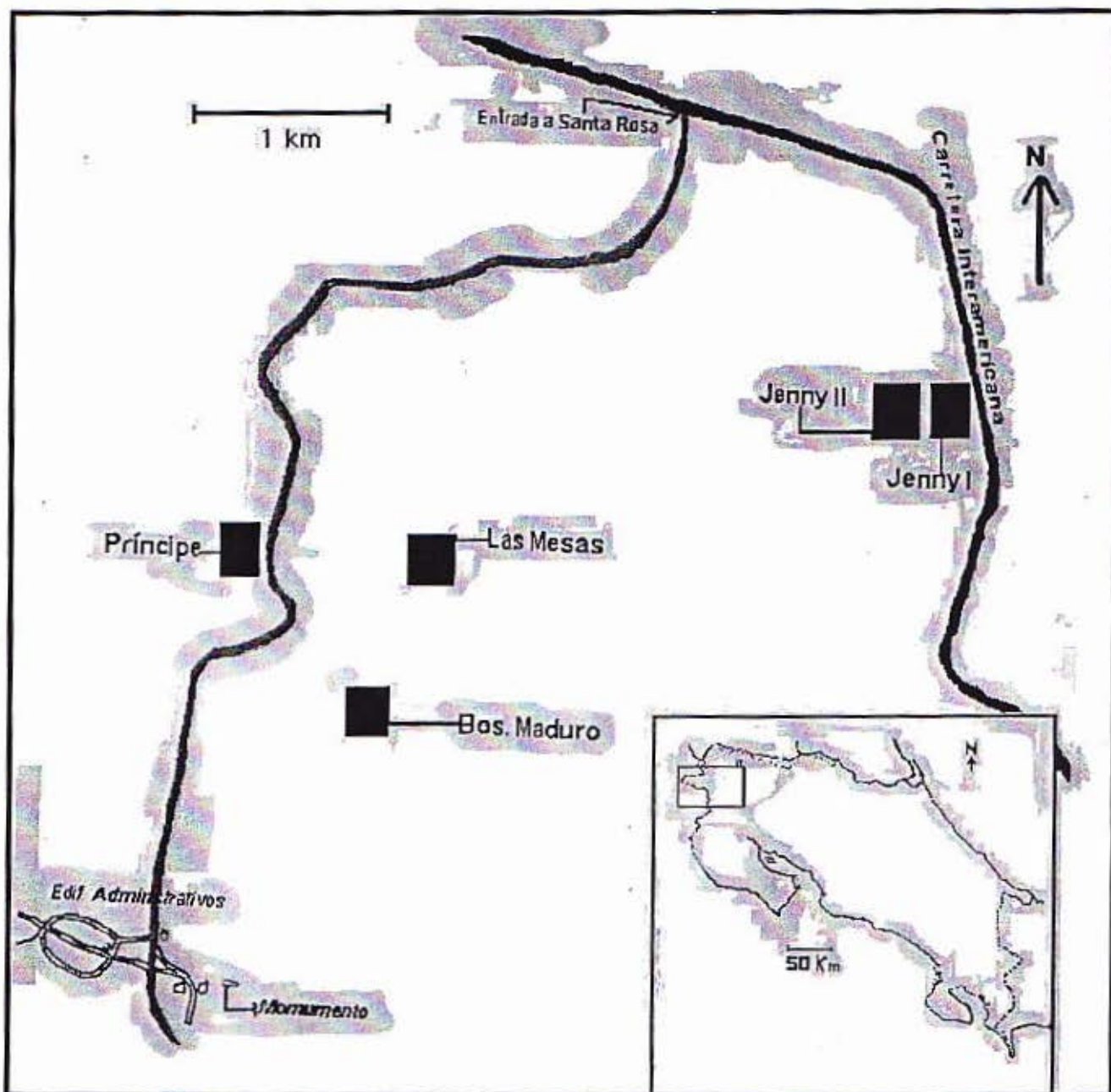


Figura 1 Mapa de la distribución y nombre de los sitios; mostrando en el recuadro su localización en el país.

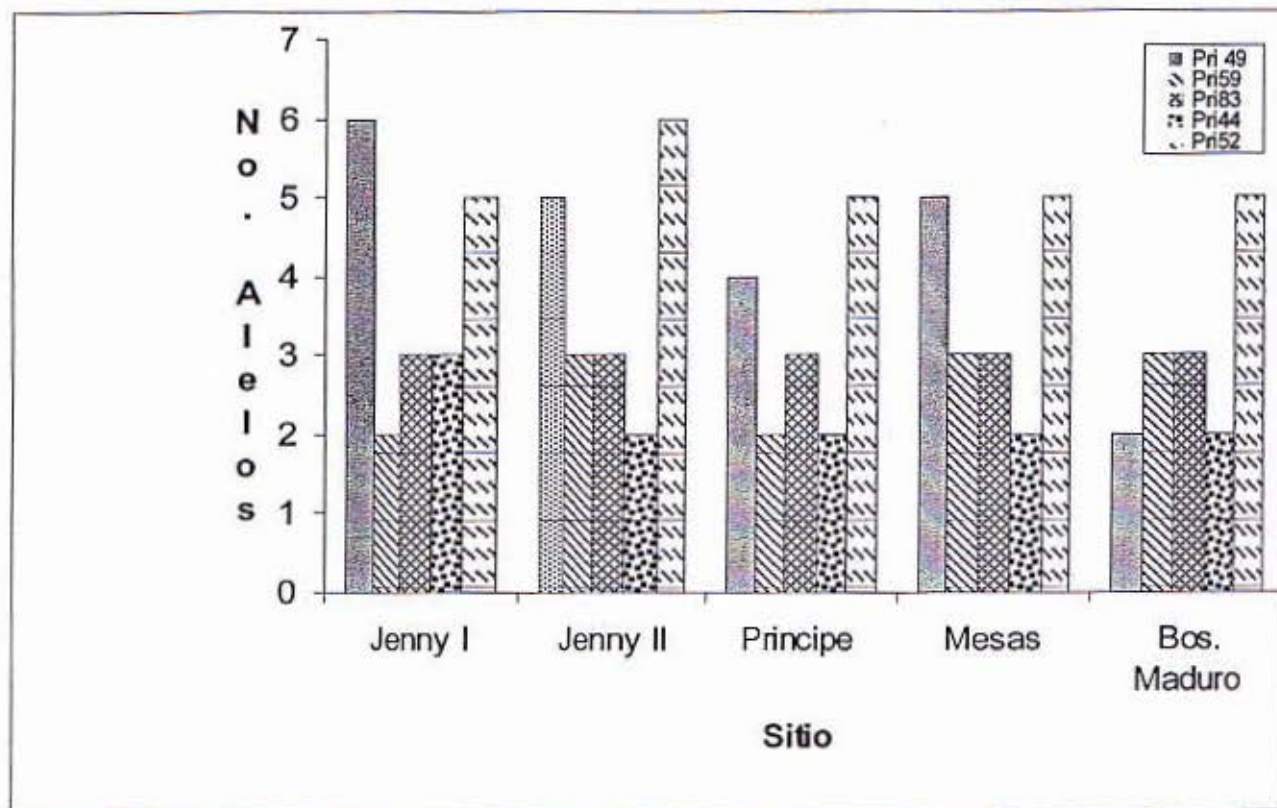
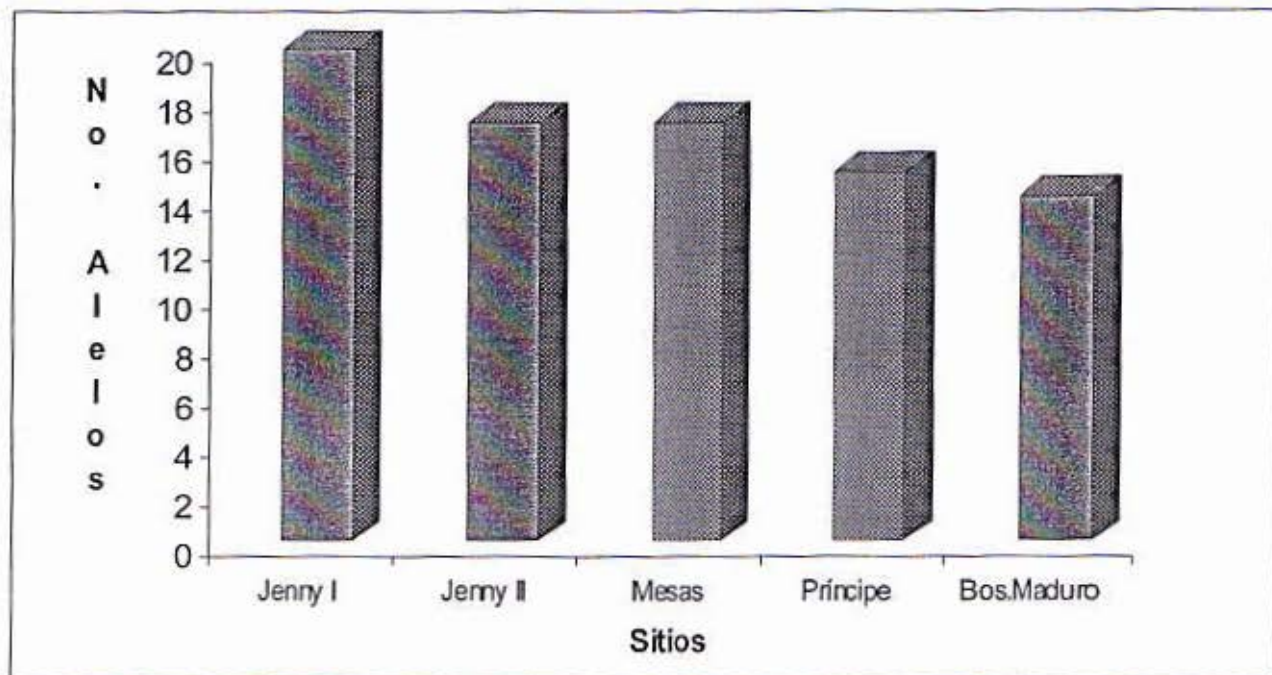


Figura 2 Número de alelos de *S. macrophylla* vs estadio sucesional para cada uno de los loci, Parque Nacional, Santa Rosa.



**Figura 3** Número de alelos totales de *S. macrophylla* en cada sitio, Parque Nacional Santa Rosa.



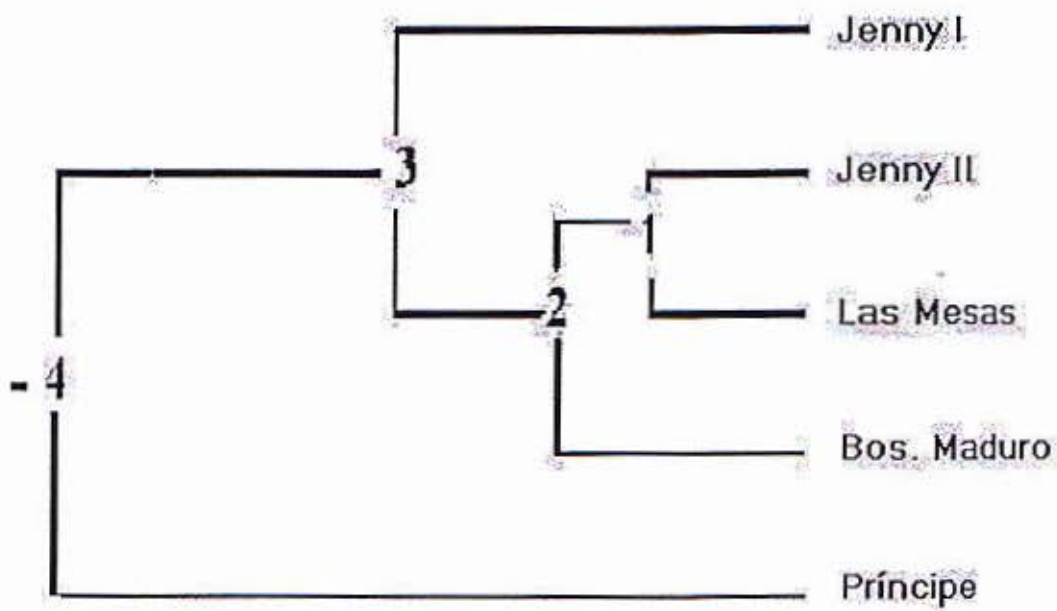


Figura 4 Dendrograma de *S. macrophylla* mostrando las relación más posible según los datos obtenidos de los 5 loci, Parque Nacional Santa Rosa.

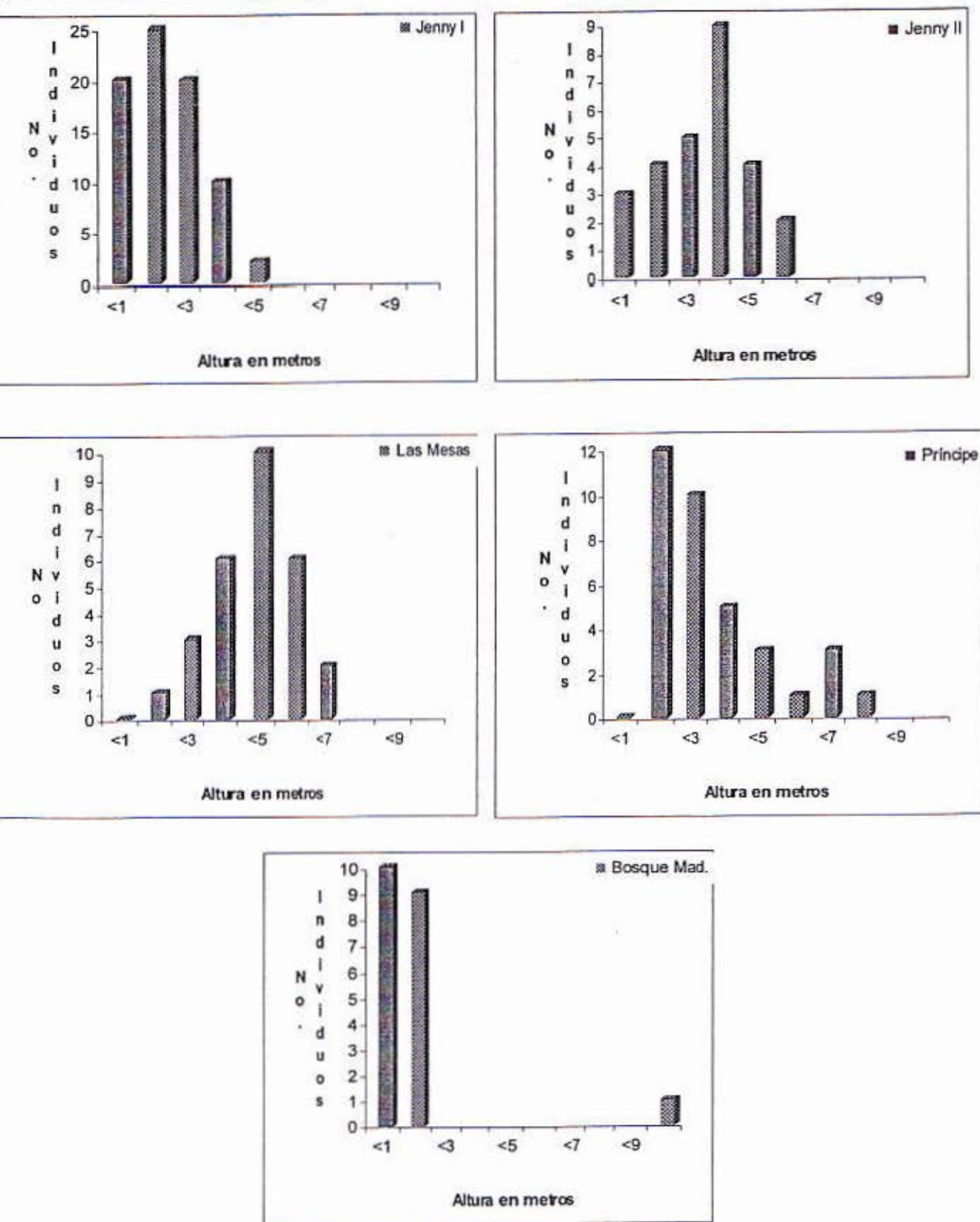


Figura 5 Distribución, abundancia y tamaño *S. macrophylla* en los 5 sitios, Parque Nacional Santa Rosa, 2001