

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA.

SISTEMA DE ESTUDIOS DE POS GRADO.

EFFECTO DE LA FRAGMENTACIÓN DEL BOSQUE Y EL AISLAMIENTO
FENOLÓGICO SOBRE EL ÉXITO REPRODUCTIVO DE *PSEUDOBOMBAX*
SEPTENATUM (BOMBACACEAE), EN EL PACIFICO DE COSTA RICA.

TESIS SOMETIDA A LA CONSIDERACIÓN DE LA COMISIÓN DEL PROGRAMA
DE ESTUDIOS DE POSGRADO EN BIOLOGÍA PARA OPTAR AL GRADO DE
MAGISTER SCIENTIAE EN BIOLOGÍA

GUIDO A. SABORÍO RODRÍGUEZ.

CIUDAD UNIVERSITARIA RODRIGO FACIO, COSTA RICA

2007.

DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS.

Esta tesis la dedico a mis abuelos, que ya no me acompañan, Eladio Rodríguez, Hilda Vargas, Gonzalo Saborío y Maria Cristina Alfaro, lo que se hereda no se hurta.

Agradezco a mis padres y hermanos porque siempre me apoyaron en este largo proyecto, a pesar de que algunas veces parecía interminable. A mi tutor, Jorge Lobo, que siempre me apoyó y me acompañó en las largas horas de trabajo en la Península de Osa y en Guanacaste. A Gilbert Barrantes que siempre se mantuvo al tanto de mi proyecto y me dio valiosas sugerencias en la ejecución y escritura del mismo. A Mauricio Quesada, que a pesar de estar en Méjico siempre me apoyó. A Alfredo Cascante por su importante ayuda en el final de este proceso.

Tengo que agradecer a los dueños de las propiedades que me permitieron ingresar a sus fincas para trabajar, en especial a las diferentes personas encargadas de "Cuatro Vientos", en playa Preciosa que me permitieron acampar y utilizar este sitio como centro de operaciones. A Héctor González que nos dejó entrar en su casa, en Puerto Jiménez, la cual parasitamos por más de un mes.

A Julissa Rojas quien fue mi compañera en muchas de las caminatas en el Parque Nacional Corcovado. A Eduardo Chacón por su apoyo en muchos momentos de mi tesis, y por acompañarme varias veces en la colecta de frutos. A Willy Pineda quien me ayudo en mi intento por capturar murciélagos. A Federico Hernández por su ayuda y apoyo en el trabajo en el laboratorio.

Agradezco especialmente a William Villalobos, Lisela Moreira y Carmen Rivera, del CIBCM, por su gran apoyo y permitirme acomodar mi horario de trabajo según mis necesidades, mil gracias.

Por último quiero agradecer a mis amigos que siempre me apoyaron con sus comentarios positivos y pido mis más sinceras disculpas a aquellos que no incluí aquí. A Sofía Rodríguez, Pablo Allen, Robert Puschendorf, Branko Hilje, Marco Barquero, Víctor Carmona, Natalie Villalobos, Viviana Arguedas y Federico Bolaños.

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

Ph. D. Álvaro Morales Ramírez.
Representante del Decano del SEP.



Ph. D. Jorge A. Lobo Segura.
Director de Tesis.



Ph. D. Gilbert Barrantes Montero.
Asesor.



Ph. D. Alfredo Cascante Marín.
Asesor.



Ph. D. Gerardo Avalos Rodríguez.
Representante del Director del Programa de Pos Grado en Biología.



Guido A. Saborío Rodríguez.
Candidato.



INDICE GENERAL.

1. Dedicatoria y agradecimientos.....	ii
2. Hoja de aprobación.....	iii
3. Índice General.....	iv
4. Resumen.....	v
5. Lista de Cuadros.....	xii
6. Lista de Figuras.....	xiv
7. Capítulo 1.....	1
Materiales y Métodos.....	3
Resultados.....	4
Discusión.....	5
Referencias.....	10
Anexo 1. Cuadros.....	15
Anexo 2. Figuras.....	18
8. Capítulo 2.....	22
Materiales y Métodos.....	26
Resultados.....	30
Discusión.....	31
Referencias.....	36
Anexo 1. Cuadros.....	42
Anexo 2. Figuras.....	46
9. Capítulo 3.....	54
Materiales y Métodos.....	56
Resultados y Discusión.....	57
Referencias.....	60
Anexo 1. Cuadros.....	62
Anexo 2. Figuras.....	63

RESUMEN.

La alta tasa de deforestación del bosque tropical a nivel mundial en los últimos años ha provocado que parte de la vegetación remanente se mantenga en fragmentos o como individuos solitarios. La respuesta de cada especie a la fragmentación del bosque depende de una compleja relación entre los factores que determinan sus patrones fenológicos, la respuesta de sus polinizadores y su sistema de apareamiento (Ghazoul y Shaanker 2004).

Los patrones fenológicos en los árboles tropicales están determinados por factores próximos y factores últimos (Van Schaik *et al.* 1993, Lobo *et al.* 2003, Marques *et al.* 2004). Los factores próximos son pequeños cambios ambientales que disparan los patrones fenológicos, como disponibilidad de agua (Frankie *et al.* 1974), cambios en temperatura (Ashton *et al.* 1988), fotoperíodo (Wright y Van Schaik 1994, Rivera *et al.* 2002, Borchert *et al.* 2005) y radiación (Wright y van Schaik 1994). Los factores últimos son aquellos factores bióticos, como competencia por polinizadores (Sakai *et al.* 1999), dispersores (Snow 1965) y herbívoros (Marquis 1988, Coley y Barone 1996) que funcionan como causas últimas del patrón fenológico, es decir, factores que determinan el valor adaptativo.

La fragmentación del bosque provoca un cambio en las condiciones ambientales, que ha su vez pueden afectar los factores próximos y últimos que afectan a los patrones fenológicos. En el bosque la energía solar es absorbida por las capas de hojas y solo entre el 1 y el 2% llega al suelo del bosque, por lo que este es relativamente frío, húmedo, sombreado, con poco movimiento de aire y mantiene la temperatura durante la noche. Al eliminarse la cobertura boscosa, el suelo recibe la luz solar directamente, siendo este más caliente durante el día, mas frío durante la noche y menos húmedo (Primack 2002)

Además, la fragmentación podría provocar cambios en las condiciones bióticas, como disminución de las poblaciones de polinizadores y dispersores, o un cambio en su comportamiento (Quesada *et al.* 2004). Si bien los patrones fenológicos pueden ser afectados por estos cambios, también el éxito reproductivo

de aquellas plantas que presentan asociaciones obligatorias con animales, para su polinización y dispersión, podrían ser afectadas (Aizen y Feinsinger 1994, Bullock 1995, Aldrich y Hamrick 1998).

El efecto de la fragmentación del bosque en la actividad de los polinizadores varía según el grupo taxonómico al que estos pertenezcan y según cada especie (Quesada y colaboradores 2004). La mayoría de los árboles tropicales son auto-incompatibles (Bawa 1992) por lo tanto si el efecto de la fragmentación del bosque en los polinizadores es negativo, la llegada de polen a estos individuos disminuiría. Esto favorece la endogamia, la cual podría ser una de las causas de extinción de especies con exocruzamiento ya que produce individuos menos exitosos y poblaciones genéticamente homogéneas (Frankham 1995, Amos y Balmford 2001).

Además, la tasa de exocruzamiento de algunas especies de árboles tropicales puede variar según las condiciones en las que se encuentren. Por lo tanto, una misma especie puede presentar poblaciones con sistemas de apareamiento auto-compatibles, auto-incompatible o mixto, según la densidad de individuos reproductivos y el grado de aislamiento que exista entre ellos (Murawski *et al.* 1990, Murawski y Hamrick 1992, Gribel *et al.* 1999).

Tanto el bosque tropical seco como el bosque tropical lluvioso en Costa Rica, han sufrido una alta tasa de deforestación, lo que ha provocado la fragmentación de las poblaciones originales. En la familia Bombacaceae se encuentran algunos de los géneros de árboles tropicales de mayor tamaño, como *Ceiba*, *Quararibea*, *Pachira* y *Pseudobombax*, entre otros. El género *Pseudobombax* está compuesto por 19 especies, con la mayor diversidad ubicada en Suramérica. Solo dos especies, *P. septenatum* y *P. ellipticum* se encuentran en Centroamérica.

En Costa Rica, *P. septenatum* se encuentra a lo largo de la costa pacífica y en la zona norte del país (Jiménez *et al.* 1996). Este árbol puede alcanzar de 6 a 20 m de altura (Robyns 1964). Su fuste es cilíndrico o abultado y su corteza gris con estrías verdes anchas (Robyns 1964, Holdridge *et al.* 1997). Las flores son grandes, de color blanco, con antésis nocturna, duran una sola noche y producen

una gran cantidad de polen, todas estas son características asociadas a flores visitadas por murciélagos (Proctor *et al.* 1996).

Aunque *P. septenatum* es una especie relativamente común en la vertiente pacífica de Costa Rica, poco se conoce sobre su historia natural y su sistema de apareamiento. Además, no se han realizados estudios sobre el efecto de la fragmentación del bosque sobre esta especie. En este documento se presentan los resultados de un proyecto de investigación para optar por el grado de *Magíster Scientiae* en Biología en el Sistema de Estudios de Posgrado de la Universidad de Costa Rica, realizado con *P. septenatum* en la vertiente pacífica de Costa Rica, entre diciembre del 2001 y febrero del 2003.

Se estudiaron cuatro poblaciones de *P. septenatum* que se encontraban en diferentes grados de fragmentación. La primera población se ubica a orillas de la carretera interamericana norte, desde Miramar de Puntarenas, hasta Cañas Guanacaste. Estos árboles se encuentran rodeados por una matriz de pastizales, zonas agrícolas y en algunos casos zonas habitadas. Las tres poblaciones restantes se ubican en la Península de Osa, una población se ubica en la carretera que va de Puerto Jiménez a Carate, la cual está en una matriz de pastizales y zonas agrícolas; otra población se ubica en Playa Preciosa, a 1.5 km NE de Puerto Jiménez, y se encuentran rodeados por una matriz de pastizales; la última población se ubica en Punta Salsipuedes, en el Parque Nacional Corcovado, la cual está rodeada de bosque primario.

Este documento se divide en tres capítulos, escritos bajo el formato de artículo científico de acuerdo a la Revista de Biología Tropical y los reglamentos del Sistema de Estudios de Posgrado de la Universidad de Costa Rica. En el primer capítulo se presenta información sobre la historia natural de *P. septenatum* en la Península de Osa. En el segundo capítulo se presentan los patrones fenológicos observados durante dos periodos reproductivos y algunas medidas del éxito reproductivo, para poblaciones de *P. septenatum* en ambientes fragmentados en Guanacaste y la Península de Osa, y una población dentro del bosque en el pacífico sur de Costa Rica. En el último capítulo se presenta un análisis de varios sistemas enzimáticos en *P. septenatum*, para su potencial uso

como marcadores moleculares en futuros estudios de genética de poblaciones de esta especie en Costa Rica.

El Capítulo 1 se titula: "Historia Natural de la polinización de *Pseudobombax septenatum* (Bombacaceae) en el pacífico sur de Costa Rica". El objetivo principal de este capítulo es dar a conocer algunos aspectos de la historia natural de *P. septenatum*, principalmente sobre su polinización en el Parque Nacional Corcovado y sus alrededores. Además se dan a conocer algunas observaciones que pueden ayudar en el conocimiento de la historia natural de la especie.

Esta especie de bombacaceae presenta flores con características típicas para murciélagos, los cuales se saben son los principales polinizadores en otras especies de la familia. El promedio de flores de *P. septenatum* abiertas por noche, observado en la Península de Osa, fue de 24 flores. Estas flores producen en promedio 19.3 μ l de néctar al abrir, con un mínimo de 0 μ l y un máximo de 78 μ l, con una porcentaje de sacarosa promedio del 1.46, con un mínimo de 0.3 y un máximo de 4.2.

Con el fin de determinar la tasa de visitación a las flores del ceibo barrigón se realizaron filmaciones nocturnas durante 52 horas, para un total de 87 flores filmadas. En este tiempo solo se filmaron cuatro visitas de *Phyllostomus discolor* en un único árbol ubicado en Tamales, entre Puerto Jiménez y Carate. Las visitas ocurrieron entre las 18:44 y las 19:10 horas. Se observó un grupo de entre 3-6 murciélagos que dan varias vueltas al árbol y empiezan a visitar las flores. Las visitas duran entre 1-3 segundos, tiempo en el cual el murciélago se cuelga de la flor e introduce su cara en la corola. En dos de las visitas los murciélagos golpean el botón floral con la cabeza, abriéndolo y visitándolo posteriormente.

El comportamiento observado en las visitas de *P. discolor* a las flores de *P. septenatum* en la Península de Osa, es semejante al observado en el murciélago *P. hastatus* visitando flores de *P. mumguba* en Brasil (Gribel y Gibbs 2002). Sin embargo, la baja tasa de visitación de *P. discolor* a *P. septenatum* no permite determinar la importancia de esta especie como polinizador.

La población de Carate-Jiménez presenta las flores con pétalos, estambres y base de la corola más grandes, mientras que los árboles de Salsipuedes

presentaron las flores más pequeñas. El cambio en características florales importantes en la atracción de polinizadores puede llevar al aislamiento reproductivo (Grant 1994). El efecto que pueda tener la diferencia de tamaños en las flores de *P. septenatum* en la Península de Osa, dependería de su efecto en la atracción de polinizadores, la variación genética que la especie tenga para estos caracteres y el éxito reproductivo de cada población.

El capítulo 2 se titula: Efecto de la fragmentación del bosque en los patrones fenológicos y algunos componentes del éxito reproductivo de *Pseudobombax septenatum* Dugand (Bombacaceae), en la vertiente pacífica de Costa Rica. El objetivo general de este capítulo es comparar los patrones fenológicos y algunos componentes del éxito reproductivo de *Pseudobombax septenatum* (Bombacaceae), entre poblaciones con diferente grado de fragmentación, en la costa Pacífica costarricense.

Para determinar el efecto de la fragmentación del bosque en los patrones fenológicos y el éxito reproductivo de *P. septenatum* se marcaron individuos en cuatro poblaciones; denominadas "Guanacaste", en el pacífico norte y "Platanares", "Carate-Jiménez" y "Salsipuedes" en la Península de Osa. Los árboles fueron visitados cada 15 días durante un periodo reproductivo en Guanacaste (diciembre 2001-febrero 2002) y dos periodos reproductivos (diciembre 2001-febrero 2002 y diciembre 2002-febrero 2003) en la Península de Osa.

En cada visita se registraron cuatro eventos fenológicos: a) pérdida de hojas, b) producción de botones florales, c) producción de flores y d) producción de frutos. La pérdida de hojas y la producción de botones florales se registraron mediante el sistema propuesto por Fournier (1974); la producción de flores y frutos se registraron como un conteo directo de cada evento. El grado de sincronía de los eventos fenológicos de cada árbol se calculó mediante el índice de Augspurger (1983).

Para el período reproductivo 2001-2002 las poblaciones de *P. septenatum* de Carate Jiménez y Platanares iniciaron primero la producción de botones florales que las poblaciones de Guanacaste y Salsipuedes. En el segundo período

reproductivo (2002-2003), la población de Platanares mostró un adelanto en la producción de botones florales, con respecto a las poblaciones de Carate Jiménez y Salsipuedes.

En cuanto a los factores ambientales o próximos, la principal diferencia se da en la disponibilidad de agua entre la población de Guanacaste y las poblaciones de la Península de Osa. La literatura sugiere que la falta de disponibilidad de agua favorece el inicio de la reproducción en ciertas especies de árboles tropicales. Si la disponibilidad de agua es un factor determinante en el inicio de la producción de botones florales en las poblaciones estudiadas de *P. septenatum*, se predeciría que en Guanacaste debe iniciar primero su época reproductiva, lo cual no se encontró en este estudio.

En cuanto a los factores bióticos o últimos, se ha sugerido que la competencia por polinizadores entre varias especies de bombacáceas es uno de los factores determinantes en los patrones fenológicos de estas especies (Lobo *et al.* 2003). En Guanacaste el murciélago *Phyllostomus discolor* visita las flores de *P. septenatum* (Heithaus *et al.* 1975), y *Ceiba pentandra* (Lobo *et al.* 2005), también de la familia Bombacaceae, por lo que la competencia intra específica por polinizadores podría ser un factor que influye en los patrones fenológicos de *P. septenatum* en el bosque seco de Costa Rica. Sin embargo, como se mencionó en el capítulo 1, en la Península de Osa los murciélagos no parecen ser un visitante regular de las flores de todos los árboles de *P. septenatum*.

La población de Salsipuedes mostró los índices de sincronía de Augusperger más bajos, tanto en la defoliación, como en la producción de botones florales, para ambos periodos reproductivos. La sincronía en la reproducción de los árboles tropicales es un factor determinante en el comportamiento de los polinizadores y por lo tanto en la llegada de polen a las flores (Murawski y Hamrick 1992 y Kenta *et al.* 2002). Esta disminución en la sincronía de la población de Salsipuedes podría ser responsable de la menor producción de flores, frutos y la menor relación frutos/flores de esta población en comparación con las poblaciones de Guanacaste, Carate-Jiménez y Platanares.

Otro factor importante que podría explicar los patrones observados es la cantidad de recursos disponibles. El principio de distribución de Levins (1968) propone que si los recursos son limitados la inversión de energía en uno de los componentes (reproducción, crecimiento vegetativo y escape de depredadores) implica la disminución de energía disponible para los otros componentes. La disponibilidad de polinizadores es otro factor que podría explicar los resultados obtenidos. Sin embargo la poca información que se tiene para estos en la Península de Osa, no permiten hacer predicciones al respecto.

El último capítulo de esta Tesis, se titula: Patrones isoenzimáticos de poblaciones de *Pseudobombax septenatum* Dugand (Bombacaceae) de la costa Pacífica de Costa Rica. El objetivo de este capítulo es identificar cuales sistemas enzimáticos pueden ser utilizados en estudios de genética de poblaciones en Costa Rica.

Se analizaron nueve sistemas enzimáticos: AAT (2.6.1.1), ADH (1.1.1.1), EST (3.1.1.-), 6-PGD (1.1.1.49), GPI (5.3.1.9), MDH (1.1.1.37), ME (1.1.1.40), ICD y SKDH (1.1.1.25). La mayoría de estos sistemas (AAT, EST, MDH e ICD) no presentaron variación ni entre familias de semillas ni dentro de las mismas. La ADH mostró variación entre las familias, pero no dentro de estas; y solo la SKDH presento variación entre las familias de semillas y dentro de las mismas.

El que la mayorías de los sistema enzimáticos no presentaran variación y que en aquellos sistemas con variación, esta fuera principalmente entre familias de semillas y no dentro de las mismas, sugiera que *P. septenatum* presenta altas tasas de endogamia. Además, se plantea la necesidad de explorar otros tipos de marcadores moleculares que puedan brindar mejor información sobre *P. septenatum*, para ser utilizados en estudios de genética de poblaciones.

LISTA DE CUADROS.

Capítulo 1.

Cuadro 1. Valores estimados para la comparación del largo del pétalo de las flores de *P. septenatum* en la Península de Osa, Costa Rica.

(Pág. 15).

Cuadro 2. Valores estimados para la comparación del largo del estambre de las flores de *P. septenatum* en la Península de Osa, Costa Rica (Pág. 16).

Cuadro 3. Valores estimados para la comparación del ancho de la base de la columna estaminal de las flores de *P. septenatum* en la Península de Osa, Costa Rica (Pág. 17).

Capítulo 2.

Cuadro 1. Resultados del modelo lineal mixto ($X_{ij} = \mu + p_i + b^*c_{ij} + e_{ij}$, Logit (X_{ij}/Y_{ij}) = $\mu + p_i + rb^*c_{ij} + e_{ij}$) en el primer periodo reproductivo para todas las poblaciones de *P. septenatum* estudiadas (Pág. 42).

Cuadro 2. Resultados del modelo lineal mixto ($X_{ikj} = \mu + p_i + b^*c_{ij} + a_{i(j)} + r_k + e_{ikj}$, Logit(X_{ikj}/Y_{ikj}) = $\mu + p_i + b^*c_{ikj} + a_{i(j)} + r_k + e_{ikj}$), en el segundo periodo reproductivo para todas poblaciones de *P. septenatum* del Pacífico Sur (Pág. 43).

Cuadro 3. Índices de correlación de Spearman entre el índice de sincronía de Augspurger de la producción de botones florales y la relación frutos/flores para cada población en ambos periodos reproductivos (Pág. 44).

Cuadro 4. Datos climáticos para la Provincia de Guanacaste y la Península de Osa, para los años 2000-2002. Ver detalles en Lobo *et al.* 2003 (Pág. 45).

Capítulo 3.

Cuadro 1. Número de semillas analizadas según el Lugar y la Solución Tampón (Pág. 62).

LISTA DE FIGURAS.

Capítulo 1.

Figura 1. Ubicación de las poblaciones de *P. septenatum* estudiadas en la Península de Osa, Costa Rica. a) Playa Preciosa, b) Tamales y c) Salsipuedes (Pág. 18)

Figura 2. Flores de *P. septenatum* en recipientes con agua, para el análisis de la cantidad y calidad del néctar producido (Pág. 19)

Figura 3. Flor de *P. septenatum* y las medidas morfológicas analizadas. a) lardo del pétalo, b) ancho de la columna estaminal y c) largo de los estambres (Pág. 20)

Figura 4. Promedio, error estándar y desviación estándar de la longitud de los pétalos, los estambres, y el ancho de la corola de las flores de *P. septenatum* según la población, Península de Osa (Pág. 21)

Capítulo 2.

Figura 1. Proporción de árboles de *P. septenatum* con más del 25% de la copa cubierta por botones florales según la fecha, para cada población estudiada en el primer período reproductivo (2001-2002). El diámetro de los círculos es proporcional al porcentaje de árboles con más del 25% de la copa con botones florales (Pág. 46).

Figura 2. Proporción de árboles de *P. septenatum* con más del 25% de la copa cubierta por botones florales según la fecha, para cada población estudiada en el segundo período reproductivo (2002-2003) (Pág. 47).

Figura 3. Índices de sincronía de Augspurger (S_A) para la pérdida de hojas y la producción de botones florales de los individuos de *P. septenatum*, según la población, en el primer período reproductivo estudiado (2001-2002) (Pág. 48).

Figura 4. Índices de sincronía de Augspurger (S_A) para la pérdida de hojas de los individuos de *P. septenatum*, según la población, en el segundo período reproductivo estudiado (2002-2003) (Pág. 49).

Figura 5. Promedio y desviación estándar de la producción de flores y frutos para cada población en el primer período reproductivo estudiado (2001-2002) (Pág. 50).

Figura 6. Promedio y error estándar de la relación frutos/flores para cada población de *P. septenatum* en el primer período reproductivo estudiado (2001-2002) (Pág. 51).

Figura 7. Promedio y error estándar de la producción de flores y frutos de *P. septenatum* para cada población en el segundo período reproductivo estudiado (2002-2003) (Pág. 52).

Figura 8. Promedio y error estándar de la relación frutos/flores para cada población en el segundo período reproductivo estudiado (2002-2003) (Pág. 53).

Capítulo 3.

Figura 1. Patrón observado para la enzima AAT utilizando la solución tampón Litio Borato (Pág. 63).

Figura 2. Patrón observado para la enzima ADH utilizando la solución tampón Morfolina Citrato (Pág. 64).

Figura 3. Patrón observado para la enzima EST utilizando la solución tampón Tris HCl 7.0/7.0 (Pág. 65).

Figura 4. Patrón observado para la enzima ICD utilizando la solución tampón Tris HCl 7.0/7.0 (Pág. 66).

Figura 5. Patrón observado para la enzima MDH utilizando la solución tampón Tris HCl 7.0/7.0 (Pág. 67).

Figura 6. Patrón observado para la enzima SKDH utilizando la solución tampón Tris HCl 7.0/7.0 (Pág. 68).

Figura 7. Patrón observado para la enzima GPI utilizando la solución tampón Morfolina Citrato (Pág. 69).

CAPITULO 1.

Historia Natural de la polinización de *Pseudobombax septenatum* (Bombacaceae) en el pacífico sur de Costa Rica.

Guido Saborío-R.

Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica.

En la Familia Bombacaceae se encuentran algunos de los géneros de árboles tropicales de mayor tamaño, como *Ceiba*, *Quararibea*, *Pachira* y *Pseudobombax*, entre otros. El género *Pseudobombax* está compuesto por 19 especies, con la mayor diversidad ubicada en Suramérica. Solo dos especies, *P. septenatum* y *P. ellipticum* se encuentran en Centroamérica, llegando la última hasta México.

Pseudobombax septenatum (Jacq.) Dugand es conocido en Costa Rica como Ceibo, Ceibo Verde o Ceibo Barrigón. Este árbol puede alcanzar de 6 a 20 m de altura (Robyns 1964). Su fuste es cilíndrico o abultado y su corteza gris con estrías verdes anchas (Robyns 1964, Cascante-Mariín 1997, Holdridge *et al.* 1997). Esta especie se encuentra desde Nicaragua hasta Venezuela, Brasil y Perú, en bosques de elevaciones bajas, con climas de húmedos a muy húmedos y en suelos arenosos (Robyns 1964, Holdridge *et al.* 1997). En Costa Rica se encuentra a lo largo de la costa pacífica y en la zona norte del país (Jiménez *et al.* 1996).

A parte de su distribución, poco se sabe acerca de la historia natural de esta especie (Janzen 1972) y aún menos sobre su polinización (Heithaus *et al.* 1975, Wcislo *et al.* 2004). Las flores de *P. septenatum* son grandes, de color blanco, con antésis nocturna, duran una sola noche y producen una gran cantidad de polen; todas estas características están asociadas a flores visitadas por murciélagos (Proctor *et al.* 1996). Este síndrome de polinización es común en la familia Bombacaceae. Por ejemplo, en México, *Ceiba grandiflora*, *C. eascalifolia* y *C. pentandra* son polinizadas por *Musonycteris harrisoni*, *Leptonycteris curasoae* y *Glossophaga soricina* (Quesada *et al.* 2003, 2004). En Brasil, *Pseudobombax munguba* es polinizado por

Phyllostomus hastatus, especie de murciélago que visita las flores en grupos de 5 a 20 individuos al inicio de la noche (Gribel y Gibbs 2002).

En Guanacaste, zona noroeste de Costa Rica, se ha informado que *P. septenatum* es uno de los principales recursos aprovechados por *Phyllostomus discolor* (Phyllostomidae) y *Carollia perspicillata* (Phyllostomidae) en la época seca (Heithaus *et al.* 1975). También se ha informado abejas del género *Megalopta* cargando polen de esta especie en Panamá (Wcislo *et al.* 2004) y se ha propuesto que *P. septenatum*, al igual que *Alibertia edulis* y el género *Inga* podrían ser visitadas por mariposas nocturnas (Sphingidae) (Janzen 1983). Sin embargo, en ninguno de los casos mencionados se sabe con certeza cuál es el papel que estos organismos tienen en la polinización de *P. septenatum*.

En los últimos años, tanto el bosque tropical seco como el bosque tropical húmedo, ambos hábitats del ceibo barrigón, han sufrido una gran disminución en su área por la deforestación, reduciendo la vegetación original a fragmentos (Janzen 1988, Sader y Joyce 1988, Maass 1995, Achard *et al.* 2002). Estos fragmentos tienen diferentes grados de aislamiento y en general una mayor influencia del viento, la luz y la desecación, al tener un borde mucho más extenso (Saunders *et al.* 1991, Aizen y Feinsinger 1994). Estos cambios pueden provocar la disminución de las poblaciones de polinizadores y un cambio en su comportamiento, influyendo directamente sobre la reproducción de las plantas que tienen asociaciones obligatorias con estos para su polinización (Aizen y Feinsinger 1994, Bullock 1995, Aldrich y Hamrick 1998, Quesada *et al.* 2004).

Pseudobombax septenatum es una especie común en el Parque Nacional Corcovado y sus alrededores. Este Parque se ubica al Suroeste de la Península de Osa, Costa Rica y comprende 51 563 ha. Se encuentra en una de las zonas más lluviosas del país (5500 mm) y se puede encontrar desde bosques de montaña, en las partes altas, hasta la vegetación típica del litoral. En sus alrededores se encuentra la Reserva Forestal del Golfo Dulce, la cual ha sido sometida a una fuerte deforestación y extracción selectiva en los últimos años (Barrantes *et al.* 1999).

El efecto que causa la fragmentación del bosque en los árboles que persisten en estos parches ha sido objeto de diversos estudios en los últimos

años (Aizen y Feinsinger 1994, Cascante *et al.* 2002, Fuchs *et al.* 2003 y Quesada *et al.* 2004). Sin embargo, en algunos casos, la falta de información sobre la historia natural de la especie dificulta determinar cual es el efecto real de este proceso. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo es identificar las especies de murciélagos que visitan las flores de *P. septenatum* en la Península de Osa y determinar su tasa de visitación. Además, determinar la cantidad y calidad del néctar producido por las flores de *P. septenatum* en la Península de Osa.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo en los alrededores de Puerto Jiménez y el Parque Nacional Corcovado, en el cantón de Golfito, provincia de Puntarenas, durante diciembre 2001 a febrero 2003. *Pseudobombax septenatum* pierde sus hojas y produce flores durante los meses de diciembre a febrero, por lo que este estudio cubrió dos periodos reproductivos de la especie. Se estudiaron individuos de *P. septenatum* en tres sitios: Playa Preciosa, Tamales y Salsipuedes (Fig. 1). Playa Preciosa se ubica a 3 km al SE de Puerto Jiménez, cerca de la desembocadura del Río Platanares. Este grupo de 28 individuos de *P. septenatum* se encuentra rodeado principalmente de pastizales. En el sector conocido como Tamales, que se encuentra ubicado entre Puerto Jiménez y Carate, hay 25 árboles que se encuentran a la orilla del camino ubicados en los potreros. Por último está la población de 36 individuos ubicados en Salsipuedes, en el Parque Nacional Corcovado, el cual se encuentra rodeado de bosque secundario en regeneración y bosque primario.

Para determinar la identidad de los polinizadores y la tasa de visitación a las flores de *P. septenatum* en la Península de Osa se escogieron nueve árboles en total, dos en Playa Preciosa, cinco en Tamales y dos en Salsipuedes. Se realizaron filmaciones con dos cámaras de video digitales Sony DCR-TRV27 con luz infraroja. Se ubicaron de 1-3 flores por árbol por noche, las cuales se filmaron por un mínimo de cuatro horas, iniciando a las 18:30 y finalizando a las 22:30, aproximadamente. La hora de inicio se determinó por la antéesis de las flores y se finalizó el periodo de filmación cuando la actividad de la mayoría de especies de murciélagos filostómidos

decrece notablemente (Fenton y Kunz 1977). Además, se anotó el número de flores abiertas cada noche para determinar si la cantidad de visitas de murciélagos por noche era función de la cantidad de recurso floral disponible.

Para cuantificar la cantidad de néctar que producen las flores de *P. septenatum* se recolectaron botones florales antes de la antesis, durante horas de la tarde y se colocaron en botellas con agua (Fig. 2) (debido a lo difícil que es el acceso a las flores de *P. septenatum* por encontrarse a gran altura). Estas flores abren a la misma hora que aquellas en los árboles y el polen está listo al mismo tiempo, lo cual sugiere que la manipulación no las afecta. La cantidad de néctar producido se midió con una micropipeta de 20 μ l al abrir las flores y se midió la concentración de néctar con un refractómetro (ATAGO, S/Mill).

Al manipular las flores se observó que el tamaño de las mismas variaba considerablemente entre los individuos de Tamales y Salsipuedes. Con el fin de determinar si realmente existía una diferencia en el tamaño de las flores entre los sitios de estudio se recolectaron 5 flores caídas de 10 árboles por sitio. Posteriormente se midió el largo de un pétalo, el ancho de la base de la columna estaminal y el largo de uno de los estambres de las flores frescas (Fig. 3). Para analizar los datos se utilizó un análisis de varianza de medidas repetidas, para considerar que hay varias flores que pertenecen a un mismo árbol. Se consideró a la población como el efecto principal y el diámetro a la altura del pecho (DAP) como una covariable.

RESULTADOS

Los individuos del ceibo barrigón en las poblaciones estudiadas, producen en promedio 29 ± 6 flores por noche. El tiempo total de filmación fue de 52 horas, para un total de 87 flores. En el tiempo de filmación solo se observaron 4 visitas de murciélagos en un único árbol ubicado en Tamales. Todas las visitas ocurrieron entre las 18:44 y las 19:10 horas. Un grupo de entre 3-6 murciélagos dan varias vueltas al árbol y empiezan a visitar las flores. Las visitas duran entre 1-3 segundos, los individuos se posan en la flor y colgando introduce su cara en la corola de la flor. Este comportamiento provoca que se desprenda una nube de polen, el cual probablemente quede en el cuerpo del murciélago. En dos ocasiones se observó un murciélago golpear un

botón floral, el cual se abre por el impacto y es visitado posteriormente. Por el aspecto de los murciélagos en las filmaciones y mediante la relación del tamaño de los botones o las flores de *P. septenatum* y el tamaño del antebrazo y del uropatagio del murciélago, se logró determinar que las visitas fueron realizadas por *Phyllostomus discolor* (Bernal Rodríguez, com. pers). En el resto de los árboles no se observaron visitantes florales.

Un total de 24 botones de ceibo barrigón fueron cortados y colocados en botellas con agua para medir la producción de néctar. Las flores recién abiertas de *P. septenatum* producen en promedio de 19.3 μ l de néctar, con un mínimo de 0 μ l y un máximo de 78 μ l, con una concentración promedio en porcentaje de sacarosa de 1.46, con un mínimo de 0.3 y un máximo de 4.2.

Las flores de las tres poblaciones de *P. septenatum* son significativamente diferentes en las tres medidas analizadas. La población de Tamales presenta las flores con pétalos (Cuadro 1), estambres (Cuadro 2) y base de la columna estaminal más grandes (Cuadro 3), mientras que los árboles de Salsipuedes presentaron las flores más pequeñas (Fig. 4). El diámetro a la altura del pecho (DAP) tiene un leve efecto negativo en el largo del pétalo y del estambre, pero no así en el ancho de la columna estaminal (Cuadros 1,2 y 3).

Durante los periodos de filmación se observó al abejón nocturno *Cyclocephala discolor* subfamilia Dynastinae (Scarabaidea) visitando las flores del *P. septenatum* en el Sector de Tamales. También se observaron abejas del género *Trigona* (Meliponidae), visitando las flores en las mañanas y robando polen de los botones florales en las tardes. Se encontró un abejón de la familia Curculionidae, el cual no fue posible identificar, alimentándose de las semillas dentro de los frutos de *P. septenatum*.

DISCUSIÓN

El número de flores abiertas por noche, varía mucho según la especie de *Pseudobombax* (Eguiarte *et al.* 1987, Gribel 1988, Fischer *et al.* 1992). En *P. septenatum* se observaron en promedio 29 flores abiertas por noche, en la Península de Osa, Costa Rica. En Brasil, *P. grandiflorum* presenta un promedio

de 4 a 5 flores abiertas por noche (Fischer *et al.* 1992, Pereira da Silva y Peracchi 1995) y *P. tomentosum*, también en Brasil, presenta un promedio de 18 flores abiertas por noche (Gribel 1988). Mientras que en México, *P. ellipticum* puede presentar hasta 400 flores abiertas en una noche (Eguiarte *et al.* 1987).

Las visitas de *P. discolor* a el ceibo barrigón ya habían sido reportadas en Guanacaste (Heithaus *et al.* 1975, Reid 1997). Sin embargo, la baja frecuencia de visitas (4 en 52 horas de filmación) y que todas hayan sido a un solo árbol, no permiten determinar cual es la importancia de esta especie como polinizador de *P. septenatum* en el área de estudio. En *Ceiba pentandra*, se han reportado visitas de *P. discolor* y *G. soricina* en Guanacaste pero no se reportan visitas por murciélagos en la Península de Osa (Quesada *et al.* 2004, Lobo *et al.* 2005). Lobo *et al.* (2005) proponen que la diferencia en la visita de murciélagos a *C. pentandra* entre Guanacaste y Osa se debe a la eficiencia del néctar como recurso para los murciélagos. En Guanacaste el déficit de agua es mayor, por lo tanto el néctar se convierte en un recurso importante, mientras que en Osa, el agua parece no ser un recurso limitante (Lobo *et al.* 2005).

La especie *P. discolor* se distribuye desde México hasta el norte de Argentina, y en Costa Rica es una especie de poco común a común en las partes bajas de todo el país (LaVal y Rodríguez-H 2002). Esta especie es omnívora y se sabe que come polen, frutos e insectos, entre otros (Reid 1997, LaVal y Rodríguez-H 2002). El comportamiento observado en las visitas de *P. discolor* a las flores de *P. septenatum* en la Península de Osa, es semejante al observado en *P. hastatus* visitando flores de *P. munguba* en Brasil (Gribel y Gibbs 2002). En ambos casos las visitas se reportaron al inicio del anochecer, duran pocos segundos, el murciélago cuelga de la flor y se desprende una nube de polen (Gribel y Gibbs 2002). Sin embargo, como se mencionó, la baja tasa de visitación de *P. discolor* a *P. septenatum* no permite determinar la importancia de esta especie como polinizador, como si fue determinada por Gribel y Gibbs (2002) para *P. hastatus* visitando *P. tomentosum*.

Otros visitantes florales que han sido propuestos como polinizadores en especies del género *Pseudobombax*, son el marsupial *Caluromys lanatus* el cual visita flores de *P. tomentosum* en Brasil (Gribel 1988) y algunas especies

de calandrias (*Icterus wagleri*, *I. pustulatus*, *I. galbula bullocki*) que pueden ser polinizadores secundarios de *P. ellipticum* en México (Eguiarte *et al.* 1987).

Durante este estudio no se observaron visitas al ceibo barrigón de ningún marsupial, esto tal vez, debido a que estas especies tienden a buscar el néctar más que el polen como recurso alimenticio (Mora 2000). Algunas especies del género *Pseudobombax* producen una cantidad importante de néctar (Eguiarte *et al.* 1987, Gribel 1988). Sin embargo, *P. septenatum* en la Península de Osa, produce poco néctar, al igual que *P. munguba* en Brasil (Gribel y Gibbs 2002), por lo que animales como algunos marsupiales y aves como calandrias o colibríes son menos atraídos por estas flores.

El recurso principal que *P. septenatum* ofrece es polen, el cual atrae a insectos. Es común observar una gran cantidad de abejas de la familia Meliponidae visitando las flores en las primeras horas del día. Además estas abejas roban polen de los botones florales abriendo un agujero en los pétalos. No se cuantificó cual puede ser el efecto de este robo de polen, sin embargo se considera que no es importante debido a la gran cantidad que estas flores producen. Sin embargo esto dependería de la especie de abeja que efectúa el robo, pues algunas especies de Melipónidas presentan reclutamiento, por lo que un gran número de abejas podrían llegar a robar una cantidad importante del polen de *P. septenatum*.

En Panamá se han reportado abejas del género *Megalopta* cargando polen de *P. septenatum*, siendo esta especie de Bombacaceae la mejor representada (>80%) en las celdas del nido (Wcislo *et al.* 2004). Aunque en este caso no se sabe si estas abejas nocturnas son polinizadores o ladrones de polen, sí se ha propuesto al género *Megalopta* como polinizador de *Parkia velutina* (Fabaceae) en Brasil (Hopkins *et al.* 2000). Esta especie presenta algunas características diferentes a otras especies del género *Parkia* que son polinizadas por murciélagos, por lo que los autores proponen que este es el paso intermedio entre la entomofilia y la quiropterofilia en el género *Parkia*. Una de estas características es la falta de producción de néctar (Hopkins *et al.* 2000), lo que concuerda con la poca producción de néctar en las poblaciones de *P. septenatum* estudiadas. Esto podría estar indicando que estas flores son polinizadas por algún insecto nocturno (por ejemplo, *Megalopta*) y no por murciélagos, como se pensaba inicialmente. Este género de abejas nocturnas

está presente en Costa Rica. Sin embargo, durante este trabajo no fue posible determinar si estas abejas son visitantes importantes, pues los métodos estaban enfocados en la observación de murciélagos.

Durante el primer periodo reproductivo estudiado se observó en forma abundante a *Cyclocephala discolor* abejón nocturno de la subfamilia Dynastinae (Scarabaidea) comiendo polen de las flores de *P. septenatum* en la población de Tamales. Este abejón fue poco abundante durante el año 2003. Por su comportamiento es poco probable que este fuera un polinizador importante, ya que siempre se encontraba sobre los estambres y en muy pocas ocasiones se observó que subiera al pistilo, el cual se encuentra separado de los estambres por 1.2 cm en promedio.

Se sabe que otras especies del género *Cyclocephala* son polinizadores efectivos de varias especies de *Philodendron* y *Xanthosoma* (Araceae) (Gibernau y Barabe 2000, Gibernau *et al.* 2000), así como de *Magnolia tamaulipana* (Dieringer *et al.* 1998, Dieringer *et al.* 1999), *M. schiedeana* (Magnoliaceae) (Dieringer y Espinosa 1994), *Annona* (Annonaceae) (Gottsberger 1999) y *Acrocomia aculeata* (Arecaceae) (Scariot *et al.* 1991). Sin embargo, todas estas plantas poseen características florales apropiadas para la polinización por insectos y en especial por abejones nocturnos, mientras que las flores del ceibo barrigón no parecen tener las condiciones adecuadas para ser polinizadas por estos abejones.

Se encontraron diferencias significativas en el tamaño de las flores de las tres poblaciones estudiadas, siendo las flores de la población de Tamales las más grandes y las de la población de Salsipuedes las más pequeñas. Lendvai y Levin (2003) demostraron experimentalmente, que *Phlox drummondii* tiene una gran capacidad para responder rápidamente a selección sobre el tamaño de la corola. Los autores, mencionan que la capacidad de esta especie de modificar el tamaño de sus flores sugiere que hay una gran variabilidad genética en estas características y que el grado de respuesta de la especie depende de la intensidad de selección (Lendvai y Levin 2003). El hecho de que las flores de *P. septenatum* varíen de tamaño de acuerdo a la población, sugiere que deben existir fuerzas selectivas importantes que difieren entre las tres poblaciones. El cambio en características florales importantes en la atracción de polinizadores puede llevar a aislamiento reproductivo y así a la

formación de una nueva especie (Grant 1994). El efecto que pueda tener la diferencia de tamaños en las flores de *P. septenatum* en la Península de Osa, dependería de su efecto en la atracción de polinizadores, la variación genética que la especie tenga para estos caracteres y el éxito reproductivo de cada población.

En conclusión, las escasas y puntualizadas visitas de *P. discolor* a las flores de *P. septenatum* en la Península de Osa, no permitieron determinar cual es su importancia como polinizador y sugieren que debe existir otro agente involucrado. La diferencia en el tamaño de las flores entre las tres poblaciones estudiadas sugiere que cada una de estas se encuentra bajo diferentes fuerzas de selección. Sin embargo, la metodología de este estudio no estaba diseñada para identificar las fuerzas de selección involucradas en este proceso.

REFERENCIAS

- Achard, F.; H.D. Eva; H.-J. Stibig; P. Mayaux; J. Gallego; T. Richards & J.-P. Malingreau. 2002. Determination of deforestation rates of the world's humid tropics forests. *Science*. 297:999-1002.
- Aizen, M.A. & P. Feinsinger. 1994. Forest fragmentation, pollination, and plant reproduction in Chaco dry forest, Argentina. *Ecology* 75: 330–351.
- Aldrich, P.R. & J.L. Hamrick. 1998. Reproductive dominance of pasture trees in a fragmented tropical forest mosaic. *Science*. 281:103-105.
- Bullock, S.H. 1995. Plant Reproduction in Neotropical Dry Forest. En: *Seasonally Dry Tropical Forest*. Bullock, S.H; Mooney, H.A y Median E.(eds.). Forest University Press, Cambridge, Gran Bretaña. Pp: 277-303.
- Cascante, A., M. Quesada, J. Lobo, & E.A. Fuchs. 2002. Effects of dry forest fragmentation on the reproductive success and genetic structure of the tree *Samanea saman*. *Conserv. Biol.* 16: 137–147.
- Cascante-Marín, A. 1997. La Familia Bombacaceae (Malvales) en Costa Rica. *Brenesia* 47-48: 17-36.
- Derr, J.A. 1980. Coevolution of the life history of a tropical seed-feeding insect and its food plants. *Ecology* 61: 881-892.
- Dieringer, G. & E. Espinosa. 1994. Reproductive ecology of *Magnolia schiedeana* (Magnoliaceae), a threatened cloud forest tree species in Veracruz, Mexico. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*. 121: 154-159.
- Dieringer, G; L. Cabrera; M. Lara; L. Loya & P. Reyes. 1999. Beetle pollination and floral thermogenicity in *Magnolia tamaulipana* (Magnoliaceae). *Inter. J.. Plant Sci.*. 160: 64-71

- Dieringer, G.; P. Reyes; M. Lara; L. Cabrera & L. Loya. 1998. Endothermy and floral utilization of *Cyclocephala caelestis* (Coleoptera: Scarabaeoidea; Melolonthidae): A cloud forest endemic beetle. *Acta Zoológica Mexicana Nueva Serie*. 0: 145-153.
- Eguiarte, L.; C. Martínez del Río & H. Arita. 1987. El néctar y el polen como recursos: el papel ecológico de los visitantes a las flores de *Pseudobombax ellipticum* (H.B.K.) Dugand. *Biotropica* 19: 74-82.
- Elle, E & R. Carney. 2003. Reproductive assurance varies with flower size in *Collinsia parviflora* (Scrophulariaceae). *Am. J. Bot.* 90: 888-896.
- Fenton, M.B. & T.H. Kundz. 1977. Movements and behavior. En: R.J. Baker, J.K. Jones Jr y D.C. Carter (eds). *Biology of Bats of the New World family Phyllostomatidae*, parte 2. pp 351-364. Texas Tech University Press. Lubbock, Texas.
- Fischer, E.A., F.A. Jiménez & M. Sazima. 1962. Polinização por morcegos em duas espécies de Bombacaceae na Estação Ecológica de Juréia, São Paulo. *Revta. Brasil. Bot.* 15:67-72.
- Fuchs, E.J., J.A. Lobo & M. Quesada. 2003. Effects of forest fragmentation and flowering phenology on the reproductive success and mating patterns on the tropical dry forest tree, *Pachira quinata* (Bombacaceae). *Conserv. Biol.* 17: 149–157.
- Gibernau, M. & D. Barabe. 2000. Pollination ecology of *Phyllodendron squamiferum* (Araceae). *Canadian Journal of Botany*. 80: 316-320.
- Gibernau, M.; D. Barabe, & D. Labat. 2000. Flowering and pollination of *Philodendron melinonii* (Araceae) in French Guiana. *Plant Biology*. 2: 331-334.
- Gottsberger, G. 1999. Pollination and evolution in neotropical Annonaceae. *Plant Sp. Biol.* 14: 143–152

- Grant, V. 1994. Modes and origins of mechanical and ethiological isolation in angiosperms. *Proc. Natl. Acs. Sci. USA.* 91:3-10.
- Gribel, R. 1988. Visits of *Caluromys lanatus* (Didelphidae) to flowers of *Pseudobombax tomentosum* (Bombacaceae): a probable case of pollination by marsupials in Central Brasil. *Biotropica* 20: 344-347.
- Gribel, R; P.E. Gibss & A.L Queiróz. 1999. Flowering phenology and pollination biology of *Ceiba pentandra* (Bombacaceae) in Central Amazonia. *Journal of Tropical Ecology* 15: 247-263.
- Gribel, R. & P.E. Gibbs. 2002. High outbreeding as a consequence of selfed ovule mortality and single vector bat pollination in the amazonian tree *Pseudobombax munguba* (Bombacaceae). *Int. J. Plant Sci.* 163: 1035--1043.
- Heithaus, E.R; T.H. Fleming & P.A. Opler. 1975. Foraging patterns and resource utilization in seven species of bats in a seasonal tropical forest. *Ecology* 56: 841-854.
- Holdridge, L.R; L.J. Poveda & Q. Jiménez.1997. *Arboles de Costa Rica*. Vol I. 2^{da} ed. Centro Científico Tropical. San José, Costa Rica. 522 pp.
- Hopkins M.J.G., H.C.F. Hopkins & CA. Sothers. 2000. Nocturnal pollination of *Parkia velutina* by *Megalopta* bees in Amazonia and its possible significance in the evolution of chiropterophily. *J. Trop. Ecol.* 16: 733–746.
- Janzen, D. 1972. Escape in space by *Sterculia apetala* seeds from the bug *Dysdercus fasciatus* in a Costa Rican deciduous forest. *Ecology* 53: 350-361.
- Janzen, D. H. 1983. *Costa Rican Natural History*. The University of Chicago Press. Illinois. 816 p

- Janzen, D.H. 1988. Tropical Dry Forest: the most endangered major tropical ecosystem. En: Biodiversity. E.O. Wilson (ed). National Academy of Science 148: 1-60.
- Jiménez, Q; A. Estrada; A. Rodríguez & P. Arroyo. 1996. Manual Dendrológico de Costa Rica. Taller de Publicaciones, Instituto Tecnológico de Costa Rica. Cartago, Costa Rica. 165 pp.
- LaVal, R.K. & B. Rodríguez-H. 2002. Murciélagos de Costa Rica. Santo Domingo de Heredia, Costa Rica; Instituto Nacional de Biodiversidad, INBio. 320 p.
- Lendvai G. & D.A. Levin. 2003. Rapid response to artificial selection on flower size in *Phlox*. *Heredity* 90: 336–342
- Lobo, J.A, M. Quesada & K.E. Stoner. 2005. Effects of pollination by bats on the mating system of *Ceiba pentandra* (Bombacaceae) populations in two tropical life zones in Costa Rica. *Am. J. Bot.* 92: 370–376.
- Maass, M.J. 1995. Conversion of tropical dry forest to pasture and agriculture. En: Seasonally Dry Tropical Forest. Bullock, S.H; Mooney, H.A y Median E.(eds.). Forest University Press, Cambridge, Gran Bretaña. Pp: 399-422.
- Mora. J.M. 2000. Los Mamíferos Silvestres de Costa Rica. San José, Costa Rica. EUNED. 240 p.
- Pereira da Silva, S.S. & A.L. Peracchi. 1995. Observação da visita de morcegos (Chiroptera) às flores de *Pseudobombx grandiflorum* (Cav.) A. Robyns. *Revta. Bras. Zool.* 12:859-865.
- Proctor, M., P. Yeo & A. Lack. 1996. The Natural History of Pollination. Timbres Press, Portland Oregon. 479 pp.
- Quesada, M., · K.E. Stoner, ·V. Rosas-Guerrero, C. Palacios-Guevara & J.A. Lobo. 2003. Effects of habitat disruption on the activity of nectarivorous bats (Chiroptera: Phyllostomidae) in a dry tropical forest: implications for

the reproductive success of the neotropical tree *Ceiba grandiflora*.
Oecologia 135: 400–406

- Quesada, M., K.E. Stoner, J.A. Lobo, Y. Herrerias-Diego, C. Palacios-Guevara, M.A. Murguía-Rosas, K.A.O.-Salazar & V. Rosas-Guerrero. 2004. Effects of the forest Fragmentation on pollinator activity and consequences for plant reproductive success and mating patterns in bat-pollinated bombacaceous trees. *Biotropica* 36: 131-138.
- Reid, F. 1997. A Field Guide to the Mammals of Central America and Southeast Mexico. Oxford University Press, New York, USA. Pp: 100.
- Robyns, A. 1964. Flora de Panamá. Parte VI. Family 116. Bombacaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden*. LI (1-4): 39.
- Sader, S.A. y A.T. Joyce. 1988. Deforestation rates and trends in Costa Rica, 1940 to 1983. *Biotropica* 20: 11-19.
- Saunders, D.A.; R.J. Hobbs & C.R. Margules. 1991. Biological consequences of ecosystem fragmentation: a review. *Conserv. Biol.* 5: 18-31
- Scariot A.; E. Lleras y D. Hay. 1991. Reproductive biology of the palm *Acrocomia aculeata* in central Brazil. *Biotropica*. 23 (1): 12-22.
- Wcislo W. T., L. Arneson, K. Roesch, V. Gonzalez, A. Smith & H. Fernández. 2004. The evolution of nocturnal behaviour in sweat bees, *Megalopta genalis* and *M. ecuadoria* (Hymenoptera: Halictidae): an escape from competitors and enemies? *Biol. J. Linn. Soc.* 83: 377–387.

**ANEXO 1.
CUADROS.**

Cuadro 1. Valores estimados para la comparación del largo del pétalo de las flores de *P. septenatum* en la Península de Osa, Costa Rica.

Parámetros		Estimado	Error estándar	Z	P > Z
Intercepto		11.7197	0.423	27.71	<.0001
Sitio	Platanares	-0.881	0.2611	-3.37	0.0007
Sitio	Salsipuedes	-1.9832	0.243	-8.16	<.0001
Sitio	Tamales	0	0		
DAP		-0.0096	0.0039	-2.46	0.014

Cuadro 2. Valores estimados para la comparación del largo del estambre de las flores de *P. septenatum* en la Península de Osa, Costa Rica.

Parámetros		Estimado	Error estándar	Z	P > Z
Intercepto		3.8094	0.2321	16.41	<.0001
Sitio	Platanares	-0.4368	0.1465	-2.98	0.0029
Sitio	Salsipuedes	-0.9158	0.1309	-7	<.0001
Sitio	Tamales	0	0		
DAP		-0.0039	0.0019	-2.03	0.0422

Cuadro 3. Valores estimados para la comparación del ancho de la base de la columna estaminal de las flores de *P. septenatum* en la Península de Osa, Costa Rica.

Parámetros		Estimado	Error estándar	Z	P > Z
Intercepto		1.3426	0.1112	12.07	<.0001
Sitio	Platanares	-0.0256	0.0789	-0.32	0.7459
Sitio	Salsipuedes	-0.1543	0.0703	-2.2	0.0281
Sitio	Tamales	0	0		
DAP		0.0011	0.0007	1.46	0.1441

ANEXO 2.
FIGURAS



Figura 1. Ubicación de las poblaciones de *P. septenatum* estudiadas en la Península de Osa, Costa Rica. a) Playa Preciosa, b) Tamales y c) Salsipuedes.



Figura 2. Flores de *P. septenatum* en recipientes con agua, para el análisis de la cantidad y calidad del néctar producido.



Figura 3. Flor de *Pseudobombax septenatum* y las medidas morfológicas analizadas. a) largo del pétalo, b) ancho de la columna estaminal y c) largo de los estambres.

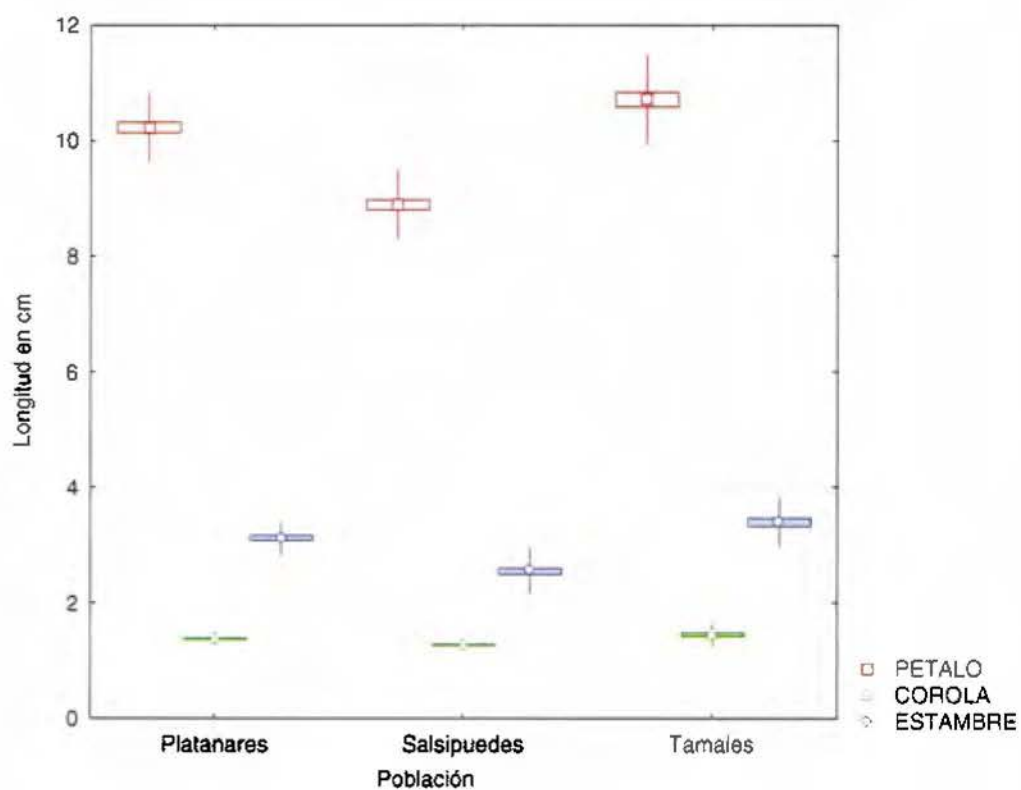


Figura 4. Promedio, error estándar y desviación estándar de la longitud de los pétalos, los estambres, y el ancho de la corola de las flores de *P. septenatum* según la población, Península de Osa.

CAPITULO 2.

Efecto de la fragmentación del bosque sobre los patrones fenológicos y algunos componentes del éxito reproductivo de *Pseudobombax septenatum* Dugand (Bombacaceae), en la vertiente pacífica de Costa Rica.

Guido Saborío-R.

Escuela de Biología, Universidad de Costa Rica.

La alta tasa de deforestación del bosque tropical a nivel mundial en los últimos años ha provocado que parte de la vegetación remanente se mantenga en fragmentos o como individuos solitarios. El bosque tropical húmedo en Latinoamérica es destruido a una tasa de 2.5 +/- 1.4 millones de hectáreas/año, mientras que la regeneración del bosque secundario es de 0.28 +/- 0.22 millones de hectáreas/año (Achard *et al.* 2002).

Los árboles tropicales presentan diferentes patrones fenológicos, los cuales están determinados por factores próximos y factores últimos (Van Schaik *et al.* 1993, Lobo *et al.* 2003, Marques *et al.* 2004). Los factores próximos son pequeños cambios ambientales que disparan los patrones fenológicos, como disponibilidad de agua (Frankie *et al.* 1974), cambios en temperatura (Ashton *et al.* 1988), fotoperíodo (Wright y Van Schaik. 1994, Rivera *et al.* 2002, Borchert *et al.* 2005) y radiación (Wright y van Schaik 1994). Los factores últimos son aquellos factores, como competencia por polinizadores (Sakai *et al.* 1999), dispersores (Snow 1965) y herbívoros (Marquis 1988, Coley y Barone 1996) que funcionan como causas últimas del patrón fenológico, es decir, factores que determinan el valor adaptativo.

Una comparación en la fenología de varias especies entre el bosque seco y húmedo en Costa Rica, mostró que la caída de hojas estaba relacionada con los periodos más secos en ambos sitios (Frankie *et al.* 1974). Además, Frankie *et al.* (1974) sugieren que el poco traslape en la época de floración de las especies congéneres en este estudio, podría ser una forma de evitar la competencia por polinizadores. En los bosques de dipterocarpaceas

en Malasia, Sakai *et al.* (1999) relacionan un evento de floración masiva con una caída de 3 °C en la temperatura mínima en dos meses, pero también sugieren que existe una relación con la disponibilidad de polinizadores y la abundancia de depredadores.

La deforestación provoca un cambio en la densidad de árboles de cada especie y en las condiciones bióticas y abióticas en que estos se encuentran. El número de plantas que están reproduciéndose y su sincronía puede ser importante en la reproducción de las poblaciones de árboles (Murawski y Hamrick 1992, Chase *et al.* 1996 y Dolíguez y Jolly 1997). Kenta *et al.* (2002) encontraron que *Dipterocarpus temphenes* sufre de limitación en la llegada de polen en Borneo. Los autores proponen que esta limitación en la llegada de polen depende de la eficiencia del polinizador, pero que el grado en que esta varía depende de la sincronía entre la producción de flores dentro de la población.

La fragmentación del bosque provoca un cambio en algunas condiciones ambientales. En el bosque la energía solar es absorbida por las capas de hojas y solo entre el 1 y el 2% llega al suelo del bosque, por lo que este es relativamente frío, húmedo, sombreado, con poco movimiento de aire y mantiene el calor durante la noche. Al eliminarse la cobertura boscosa, el suelo recibe la luz solar directamente, siendo este más caliente durante el día, más frío durante la noche y menos húmedo (Primack 2002)

Además, la fragmentación podría provocar cambios en las condiciones bióticas, como disminución de las poblaciones animales o un cambio en su comportamiento (Quesada *et al.* 2004). Si bien los patrones fenológicos pueden ser afectados por estos cambios, también el éxito reproductivo de aquellas plantas que tienen asociaciones obligatorias con animales para su polinización y dispersión podría ser afectado (Aizen y Feinsinger 1994, Bullock 1995, Aldrich y Hamrick 1998). Por lo tanto, los árboles que quedan aislados, podrían tener limitada la llegada del polen de otros individuos, dependiendo del agente polinizador. Esto favorece la endogamia, la cual podría ser una de las causas de extinción de especies con exocruzamiento, ya que produce individuos menos exitosos y poblaciones genéticamente homogéneas (Amos y Balmford 2001).

El efecto de la fragmentación del bosque en la actividad de los polinizadores varía según el grupo taxonómico al que estos pertenezcan y según la especie de planta que polinizan. Quesada *et al.* (2004) encontraron que las especies de murciélagos que visitan tres especies de *Ceiba* (Bombacaceae) en Costa Rica y México, responden de diferentes formas a la fragmentación del bosque según la especie de *Ceiba* que visiten.

El sistema de apareamiento de algunas especies de árboles tropicales puede variar según las condiciones en las que se encuentren. Por ejemplo, se ha encontrado que en *Cavanillesia platanifolia* (Bombacaceae) el porcentaje de la progenie producida por autofecundación, depende de la densidad de individuos reproductivos y el grado de aislamiento que exista entre ellos (Murawski *et al.* 1990, Murawski y Hamrick 1992). En *Ceiba pentandra* se han reportado poblaciones donde predomina un sistema de apareamiento mixto, es decir, existe progenie producida tanto por polen donado de otros individuos, como por polen propio (Murawski y Hamrick 1992). Además, existen poblaciones donde la progenie es producida principalmente por polen donado por otros individuos (Gribel *et al.* 1999).

Por lo tanto, la respuesta de cada especie a la fragmentación del bosque depende de una compleja relación entre los factores que determinan sus patrones fenológicos, la respuesta de sus polinizadores y su sistema de apareamiento (Ghazoul y Shaanker 2004). En el bosque seco de Costa Rica, *Pachira quinata* (Bombacaceae) no muestra un cambio significativo en el periodo reproductivo como respuesta a la fragmentación del bosque, pero si muestra una disminución de las flores que se convierten en frutos en los árboles aislados, los cuales presentan una mayor tasa de endogamia (Fuchs *et al.* 2003). En Chamela, México, los individuos de *Ceiba aesculifolia* que se encuentran aislados presenta una mayor producción de flores con respecto a los que se encuentran en el bosque, aunque no existe una diferencia en cuanto a la probabilidad de que una flor se convierta en fruto entre ambas condiciones. Lo contrario sucede con *Ceiba grandiflora* en el mismo sitio, donde no hay diferencia en cuanto a la producción de flores entre árboles aislados y en el bosque, pero la probabilidad de que una flor se convierta en fruto es mayor para los árboles que se encuentran en el bosque (Quesada *et al.* 2004).

Se han realizado pocos estudios sobre el sistema de apareamiento y la polinización en el género *Pseudobombax* (Bombacaceae) (Eguiarte 1987, Gribel 1988, Gribel y Gibbs 2002), y no se han realizado estudios sobre el efecto de la fragmentación del bosque en este género de Bombacaceae. *Pseudobombax septenatum*, es una especie común en zonas bajas y climas de húmedos a muy húmedos, nativa desde Nicaragua hasta Brasil y Perú (Robyns 1964, Holdridge *et al.* 1997). En Costa Rica, esta especie es común en toda la vertiente pacífica, desde el bosque tropical seco en Guanacaste hasta el bosque tropical lluvioso en la Península de Osa.

Tanto el bosque tropical seco como el bosque tropical lluvioso en Costa Rica han sufrido una alta tasa de deforestación, lo que ha provocado la fragmentación de las poblaciones originales. Esto unido a que son ambientes con condiciones climáticas y biológicas muy contrastantes, proveen las condiciones apropiadas para determinar el efecto de la fragmentación del bosque sobre *P. septenatum* en condiciones climáticas distintas. Este tipo de estudios son la base teórica para la elaboración de programas de conservación, los cuales son urgentes en sistemas tan amenazados como el bosque tropical seco y el bosque tropical lluvioso. Además la sobrevivencia y la evolución de las poblaciones fragmentadas depende de su historia y de los impactos futuros, por lo que es importante entender como la fragmentación del bosque afecta la genética y demografía de las especies para maximizar la viabilidad y crecimiento de las poblaciones remanentes (Wallace 2003)

El objetivo de este trabajo es comparar la duración e intensidad de los patrones fenológicos y la producción de flores y frutos de *Pseudobombax septenatum* (Bombacaceae), entre poblaciones con diferente grado de fragmentación, en el bosque Tropical Seco y el bosque Tropical Lluvioso del Pacífico Costarricense.

MATERIALES Y MÉTODOS

a. Sitios de estudio y poblaciones.

Este estudio se realizó en dos zonas de vida (Holdridge 1967) en la vertiente pacífica de Costa Rica, entre diciembre del 2001 y febrero del 2003. La parte noroeste de la vertiente pacífica costarricense se clasifica como Bosque Tropical Seco (Holdridge (1967) con una precipitación anual de 1440 mm. (Maldonado *et al.* 1995). Este tipo de bosque es uno de los ecosistemas que ha sufrido mayor deforestación en los últimos años (Maass 1995) conservándose menos del 0.1 % del área original en el Pacífico Mesoamericano, provocando una reducción de hasta un 95% de su biodiversidad (Janzen 1986).

La Península de Osa, ubicada en la parte sur de Costa Rica, se clasifica como Bosque Tropical Húmedo (Holdridge 1969), con 3000-4000 m.m. de precipitación anual (Hartshorn 1983). Esta zona y algunos sectores adyacentes constituyen el último remanente de bosque tropical lluvioso en toda la vertiente pacífica de América Central (Maldonado 1997). Entre 1980 y 1995 se deforestaron alrededor de 17.650 ha, un promedio de 1.176 ha/año. Esta alta tasa de deforestación ha provocado que un alto porcentaje de los bosques remanentes se encuentren aislados. Maldonado (1997), mediante fotografías aéreas de la zona, reporta que el 46.5 % de los fragmentos existentes son de menos de 10 hectáreas, mientras que solo el 1.4 % de estos fragmentos son de más de 1000 hectáreas.

Para determinar el efecto de la fragmentación del bosque en los patrones fenológicos y el éxito reproductivo de *P. septenatum* se marcaron 15 árboles a orillas de la carretera interamericana norte, desde Miramar de Puntarenas, hasta Cañas Guanacaste, ubicados en el Bosque Tropical Seco. Estos árboles se encuentran rodeados por una matriz de pastizales, zonas agrícolas y en algunos casos zonas habitadas, este grupo de árboles será nombrado de aquí en adelante como Guanacaste. En la Península de Osa, se marcaron 25 árboles a orillas de la carretera que de Puerto Jiménez a Carate. Estos se encuentran rodeados por una matriz de pastizales y zonas agrícolas. En el sector de Playa Preciosa, a 1.5 km NE de Puerto Jiménez, se marcaron

28 árboles, que se encuentran rodeados por una matriz de pastizales. Por último, se marcaron 36 árboles en Punta Salsipuedes en el Parque Nacional Corcovado, los cuales se encuentran rodeados de bosque primario.

b. Patrones Fenológicos y éxito reproductivo.

Los árboles marcados fueron visitados cada 15 días durante un periodo reproductivo en Guanacaste (diciembre 2001-febrero 2002) y dos periodos reproductivos (diciembre 2001-febrero 2002 y diciembre 2002-febrero 2003) en la Península de Osa. En adelante los periodos reproductivos estudiados **serán** nombrados como 2001 y 2002 por simplicidad. Se estudiaron cuatro eventos fenológicos: a) pérdida de hojas, b) producción de botones florales, c) producción de flores y d) producción de frutos. Debido a que es imposible contar cuantas hojas se pierden y muy difícil el contar la cantidad de botones florales, se utilizó el sistema descrito por Fournier (1974) para cuantificar estos dos eventos fenológicos. Este sistema permite determinar la magnitud en que el evento ocurre como un porcentaje con respecto a la máxima expresión posible del evento. En este caso en particular se asigna un número de 0 a 4 a cada individuo, según el porcentaje de la copa en el que se presente el evento fenológico (0= ausencia total del evento; 1= el evento se presenta de un 1 al 25%; 2= el evento se presenta de un 26 a 50%; 3= el evento se presenta de un 51 a 75%; 4= el evento se presenta de un 76 a un 100%). A pesar de que *P. septenatum* produce una gran cantidad de botones florales, el número de flores que abren por noche y la cantidad de frutos sí son cantidades cuantificables. Por lo tanto, en cada visita se contó el número de flores producidas la noche anterior y el número de frutos por árbol. El número total de flores producidas por árbol se estimó como el área bajo la curva, formada por los conteos quincenales en el tiempo (Fuchs *et al.* 2003). Se consideró el mayor número de frutos observados por árbol, como el total de frutos producidos por el mismo.

Se consideró que un árbol había iniciado su reproducción cuando tenía al menos 25% de su copa cubierta con botones florales y que un árbol termina su reproducción cuando tiene menos del 25% de su copa cubierta de botones. Se utilizó el porcentaje de botones florales, en lugar del número de flores por

árboles, debido a que esta medida minimiza el efecto del tamaño del árbol. Además, el número de flores producidas en una noche es una medida puntual, mientras que el porcentaje de la copa cubierta con botones, representa botones próximos a abrir, así como los que están iniciando su desarrollo.

Para estimar el grado de sincronía en la defoliación y la producción de botones florales a nivel poblacional, se utilizó el índice de Augspurger (1983). Este índice mide el traslape entre el tiempo que un individuo estuvo en determinada fase fenológica con respecto al resto de la población. El índice de Augspurger se define como:

$$S_i = \left(\frac{1}{n-1} \right) \left(\frac{1}{f_i} \right) \sum_{j=1}^n e_{i \neq j}$$

Donde n es el número de individuos de la muestra; f_i es el número de semanas en las que el individuo j estuvo en evento fenológico y e_i es el número de muestreos en las que el evento fenológico del individuo i traslapa con el evento fenológico del individuo j . El índice de sincronía de Augspurger (1983) va de 0 a 1, alcanzando el valor máximo cuando el traslape es máximo. Se obtuvo una distribución de valores de S_A para cada población, en cada período reproductivo estudiado.

c. Análisis de los datos.

Para determinar si el número de árboles que iniciaron y terminaron su reproducción, en determinada fecha, es diferente entre las poblaciones de *P. septenatum* estudiadas, para cada año, se utilizó la prueba G. El período reproductivo de *P. septenatum* dura aproximadamente 3 meses, concentrándose en el mes de enero (obs. per.), por lo que se escogió el 30 de diciembre como fecha para comparar la proporción de árboles que habían iniciado su reproducción y el 30 de enero para comparar la proporción de árboles que habían finalizado su período reproductivo en cada población estudiada, para ambos periodos reproductivos estudiados.

Se utilizó el módulo de modelos lineales generalizados mixtos del programa GenStat (VSN International Limited, Inglaterra) para comparar la producción de flores, frutos y la relación frutos/flores entre las poblaciones de

estudio y entre los años. Debido a que la población de árboles aislados de Guanacaste se muestreó solo en el primer periodo reproductivo, el análisis estadístico se realizó en dos partes. Primero se determinó el efecto de las poblaciones en la producción de flores, frutos y la relación frutos/flores para el primer periodo reproductivo y luego se determinó el efecto de la población y el periodo reproductivo para las poblaciones de la Zona Sur, las cuales fueron muestreadas durante dos periodos reproductivos consecutivos.

El modelo para comparar las cuatro poblaciones en el primer periodo reproductivo, fue:

$$X_{ij} = \mu + p_i + b \cdot c_{ij} + e_{ij}$$

$$\text{Logit}(X_{ij}/Y_{ij}) = \mu + p_i + rb \cdot c_{ij} + e_{ij}$$

donde X_{ij} es la variable respuesta (número de flores o número de frutos por árbol) para un árbol j de una población i , μ es el promedio, p_i es el efecto de la población i , b es el coeficiente de regresión que mide el efecto de la circunferencia del árbol (c_{ij}) sobre la variable respuesta y e_{ij} es el efecto residual, con distribución de Poisson o distribución binomial, dependiendo de la variable respuesta. Cuando la variable es la relación frutos/flores, se adopta la transformación logit (X_{ij}/Y_{ij}), donde X_{ij} es el número de frutos y Y_{ij} el número de flores del árbol j en la población i .

El segundo modelo para comparar las poblaciones de la Zona Sur en ambos periodos reproductivos fue:

$$X_{ikj} = \mu + p_i + b \cdot c_{ij} + a_{i(j)} + r_k + e_{ikj}$$

$$\text{Logit}(X_{ikj}/Y_{ikj}) = \mu + p_i + b \cdot c_{ikj} + a_{i(j)} + r_k + e_{ikj}$$

donde X_{ikj} es la variable respuesta (número de flores o número de frutos por árbol) para un árbol j de una población i en el año k , μ es el promedio, p_i es el efecto fijo de la población i , b es el coeficiente de regresión que mide el efecto de la circunferencia (c_{ij}) sobre la variable respuesta, $a_{i(j)}$ es el efecto aleatorio del árbol j anidado dentro de la población i , r_k es el efecto fijo del año y e_{ikj} es el efecto residual, con distribución de Poisson o distribución binomial, dependiendo de la variable respuesta. Cuando la variable es la relación frutos/flores, se adopta la transformación logit(X_{ikj}/Y_{ikj}), donde X_{ikj} es el número

de frutos y Y_{ikj} el número de flores del árbol j en el año k de la población i . Para los modelos con distribución de Poisson del efecto residual, se utilizó la función link log (x) para el promedio de la variable respuesta.

Para determinar si la fragmentación del bosque tiene un efecto en la sincronía poblacional en la defoliación y la producción de botones florales, se compararon los índices de Augspurger (S_A) mediante la prueba no paramétrica Kruskal- Wallis. Se utilizó una correlación de Spearman para determinar si la sincronía en la producción de los botones florales tiene un efecto en la relación frutos/flores para cada población y cada periodo reproductivo.

RESULTADOS

Para el período reproductivo 2001 las poblaciones de *P. septenatum* de Carate-Jiménez y Platanares mostraron una mayor proporción de árboles que habían iniciado la producción de botones florales, para finales de diciembre, con respecto a las poblaciones de Guanacaste y Salsipuedes ($G = 10.3$, g.l.= 3, $P = 0.017$) (Fig. 1). En el segundo período reproductivo (2002-2003), la población de Platanares mostró un adelanto en la producción de botones florales, con respecto a las poblaciones de Carate-Jiménez y Salsipuedes ($G = 19.07$, g.l = 2, $P < 0.001$) (Fig. 2).

No se observaron diferencias entre poblaciones en la proporción de árboles que habían finalizado la producción de botones florales a finales de enero, tanto en el primer periodo reproductivo ($G = 7.02$, g.l = 3, $P = 0.071$), como en el segundo período reproductivo ($G = 3.63$ g.l = 3, $P = 0.163$).

La población de Guanacaste produjo en promedio más flores por árbol que las poblaciones de la Península de Osa en el primer periodo reproductivo (Fig. 5), pero la producción de frutos (Fig. 5) y la relación frutos/flores promedio (Fig. 6) no fue significativamente diferente entre las poblaciones (Cuadro 1).

Al comparar solo las poblaciones de la Península de Osa, se encontraron diferencias significativas en cuanto a la producción de flores y la relación frutos/flores entre las poblaciones y entre los periodos reproductivos (Cuadro 2). En el primer periodo reproductivo la población de Platanares produjo en promedio más frutos por árbol que las otras dos poblaciones (Fig. 5), mientras que en el segundo periodo reproductivo la población de Carate-

Jiménez produjo en promedio más flores por árbol que las otras dos poblaciones estudiadas (Fig. 7). La relación flores/frutos fue menor para la población de Salsipuedes para ambos periodos reproductivos estudiados, mientras que las tres poblaciones presentaron una menor relación frutos/flores para el segundo periodo reproductivo (Figs. 6 y 8). En cuanto a la producción de frutos se encontraron diferencias entre las poblaciones, pero no entre los periodos reproductivos. La población de Salsipuedes presentó la menor producción de frutos en ambos periodos reproductivos comparada con la producción de frutos de las poblaciones de Carate-Jiménez y Platanares (Cuadro 2) (Figs. 5 y 7).

En el primer periodo reproductivo la población de Carate-Jiménez presentó la mayor sincronía en la pérdida de hojas o defoliación y en la producción de botones florales, mientras que la población de Salsipuedes presentó los índices mas bajos (Fig. 3) (Defoliación: $H = 46.8$, $P < 0.001$; botones florales: $H = 45.0$, $P < 0.001$). En el segundo periodo reproductivo se observó la misma tendencia: la población de Salsipuedes muestra la menor sincronía en la defoliación y la producción de botones florales (Fig. 4), con respecto a las otras poblaciones estudiadas (Defoliación: $H = 39.5$, $P < 0.001$, botones florales: $H = 37.3$, $P < 0.001$). Por ultimo, la sincronía en la producción de botones florales no está correlacionada con la relación frutos/flores (Cuadro 3)

DISCUSIÓN

Los individuos de *P. septenatum* de la población de Platanares presentaron un adelanto en la producción de botones florales, en ambos periodos reproductivos, con respecto a las otras poblaciones estudiadas (Figs. 1 y 2). Como se mencionó, los patrones fenológicos en las plantas están influenciados por factores próximos (Frankie *et al.* 1974, Ashton *et al.* 1988, Rivera *et al.* 2002 y Borchert *et al.* 2005), factores últimos (Snow 1965, Marquis 1988, Coley y Barone 1996, Sakai *et al.* 1999) y relaciones filogenéticas (Lobo *et al.* 2003). En cuanto a los factores próximos, la principal diferencia se da entre la población de Guanacaste y las poblaciones de la Península de Osa (Cuadro 4). La disponibilidad de agua es uno de los factores ambientales que

se han sugerido en la literatura como responsables de los patrones fenológicos en algunas especies de árboles tropicales (Frankie *et al.* 1974, Wright y Cornejo 1991). Por ejemplo, Wright y Cornejo (1991) encontraron que al aumentar la disponibilidad de agua mediante riego controlado, dos de nueve especies de árboles tropicales mostraron un retraso en su defoliación, la cual se asocia con el inicio de la producción de flores de la mayoría de las especies tropicales deciduas. Según los resultados anteriores, si *P. septenatum* es una de las especies afectadas por la disponibilidad de agua, la población de Guanacaste, que es la que se encuentra en el ambiente más seco (Cuadro 4), debería adelantar la producción de botones florales, con respecto a las poblaciones de la Península de Osa. Sin embargo Platanares y Carate-Jiménez iniciaron la producción de botones florales primero que la población de Guanacaste y solo la población de Salsipuedes inició la producción de botones florales después que la población de Guanacaste. Estos resultados sugieren que la disponibilidad de agua no es un factor determinante en el inicio de la producción de botones florales en las poblaciones de *P. septenatum* estudiadas.

Como ya se mencionó la población de Platanares inició la producción de botones florales antes que las otras poblaciones del Pacífico sur en ambos periodos reproductivos. No existen datos climáticos sobre las condiciones particulares de cada una de las poblaciones de *P. septenatum* estudiadas en la Península de Osa, sin embargo, estas se encuentran en condiciones físicas diferentes que podrían traer como consecuencia un cambio en sus condiciones micro climáticas. Las poblaciones de Platanares y Salsipuedes poseen características similares en cuanto a la densidad de individuos y que se ubica a orillas del mar. Sin embargo, Platanares se encuentra en playa Preciosa, la cual queda dentro del Golfo Dulce mientras que Salsipuedes se encuentra a orillas del mar abierto. La diferencia en mareas y corrientes de aire son diferentes entre estos dos tipos de playas, por lo que podrían esperarse diferencias en el tipo de suelo (Gómez 1986) y en las corrientes de aire.

Con respecto a los factores últimos que determinan los patrones fenológicos, Lobo y colaboradores (2003) sugieren que la competencia por polinizadores es uno de los factores determinantes en los patrones fenológicos de varias especies de bombacáceas. El ceibo barrigón tiene flores con

características típicas del síndrome de quiropterofilia, al igual que otras especies en esta familia. En Guanacaste se sabe que el murciélago *Phyllostomus discolor* visita las flores de *P. septenatum* (Heithaus *et al.* 1975), y que esta misma especie de murciélago visita las flores de *Ceiba pentandra* (Lobo *et al.* 2005), también de la familia Bombacaceae, por lo que la competencia intra específica por polinizadores podría ser un factor que influye en los patrones fenológicos de *P. septenatum* en el bosque seco de Costa Rica, como lo proponen Lobo y colaboradores (2003). Sin embargo, en la Península de Osa, los murciélagos no parecen ser un visitante regular de las flores de todos los árboles de *P. septenatum*, si no que las visitas parecen ser un evento particular de algunos individuos (Capítulo 1). La poca información sobre los polinizadores de *P. septenatum* en la Península de Osa no permite determinar cual podría ser la influencia de estos en las diferencias observadas en el inicio en la producción de botones florales entre las poblaciones estudiadas.

La población de Salsipuedes mostró los índices de sincronía de Augspurger más bajos, tanto en la defoliación, como en la producción de botones florales, para ambos periodos reproductivos. La sincronía en la reproducción de los árboles tropicales es un factor determinante en el comportamiento de los polinizadores y por lo tanto en la llegada de polen a las flores (Murawski y Hamrick 1992, Kenta *et al.* 2002). Murawski y Hamrick (1992) encontraron que en *Ceiba pentandra* (Bombacaceae) las diferencias en el sistema de apareamiento de estos árboles en la Isla Barro Colorado podría deberse a la asincronía en el momento de floración de los individuos y a la conducta de los polinizadores. Por otra parte, Kenta y colaboradores (2002) encontraron que *Diptherocarpus temphenes* sufre de limitación en la llegada de polen la cual varía dependiendo de la sincronía entre la producción de flores dentro de la población.

Contrario a lo esperado, la población de Salsipuedes, que está rodeada de bosque primario, presentó la menor producción de flores, frutos y la menor relación frutos/flores por individuo, en comparación con las poblaciones de Guanacaste, Carate-Jiménez y Platanares, en hábitats fragmentados. Los tres componentes más importantes del valor adaptativo de una planta son el mantenimiento de la parte no reproductiva y la co-existencia con competidores;

el escape de depredadores y la inversión en reproducción, la cual podría considerarse como reflejo del éxito en los otros dos componentes (Obeso 2002). El principio de distribución de Levins (1968) propone que si los recursos son limitados estos componentes compiten directamente, por lo que un aumento en la inversión de energía en uno de los componentes implica la disminución de energía disponible para los otros componentes (Levins 1968, en Obeso 2002).

La cantidad de recursos que la planta tiene para destinar a su reproducción podría variar en cada periodo reproductivo según condiciones ambientales, herbivoría, competencia inter e intraespecífica y enfermedades, entre otras (Stephenson 1981). Los árboles de *P. septenatum* en Salsipuedes se encuentran en una mayor densidad y rodeados por otras especies de plantas, lo cual podría aumentar la competencia inter e intra específica por espacio, luz y nutrientes. La competencia por nutrientes a nivel del suelo es considerada una de los factores determinantes en la coexistencia de las especies (Palmer 1992). Esta competencia por nutrientes, depende de la distribución de los recursos en el suelo y del sistema radical de cada planta (Biondini 2001). Es posible, además, que los árboles en Salsipuedes estén expuestos a un mayor número de herbívoros y enfermedades. Es bien conocido que la herbivoría puede disminuir la reproducción y la sobrevivencia de los individuos (Marquis 1984, Coley *et al.* 1996). Por lo tanto, es probable que los individuos de Salsipuedes no puedan destinar tantos recursos para la producción de flores y frutos, en comparación con las poblaciones aisladas.

Aunque el número de flores producidas limita el número de frutos que la planta puede producir, se ha demostrado que siempre se producen menos frutos que flores producidas y flores polinizadas, por lo que la cantidad de frutos producidos, asumiendo una polinización eficiente, está determinada por la disponibilidad de recursos de la planta (Stephenson 1981). Si asumimos que no hay limitación por polinización en la cantidad de frutos producidos por las poblaciones de *P. septenatum* estudiadas, la posible diferencia en la cantidad de recursos disponibles entre las poblaciones aisladas y Salsipuedes, podría explicar la menor cantidad de frutos producidos por esta última.

Sin embargo, la sincronía en la producción de flores puede determinar la llegada de polen en los árboles tropicales. Por lo tanto, el que los individuos de

Salsipuedes produjeran una menor cantidad de frutos y el que la relación frutos/flores sea menor a las de las poblaciones aisladas, puede deberse a que la menor sincronía en la producción de botones florales en la población de Salsipuedes esta provocando una disminución en la llegada de polen.

Es importante tener presente que la mayor producción de frutos de las poblaciones de Carate-Jiménez y Platanares, con respecto a la población de Salsipuedes en el segundo periodo reproductivo, no necesariamente representa un aumento en la sobrevivencia de la especie. Puede ser que la mayoría de los frutos producidos en estas poblaciones sean producto de auto polinización favoreciendo la endogamia, la cual es una de las principales causas de extinción de especies con exocruzamiento ya que produce individuos menos exitosos y poblaciones genéticamente homogéneas (Frankham 1995, Amos y Balmford 2001). Además, las plántulas que puedan producirse por los árboles aislados tienen la desventaja de tener que crecer en los potreros, donde su supervivencia es casi nula, ya sea por depredación por ganado vacuno o por la acción del hombre.

El que los árboles aislados de *P. septenatum* produzcan más flores y frutos que los árboles creciendo en el bosque, concuerda con lo encontrado en *Ceiba pentandra* en Costa Rica (Lobo *et al.* 2005) y *C. aesculifolia* en México (Quesada *et al.* 2004).

En conclusión, las diferencias en el inicio de la defoliación y la producción de botones florales entre las poblaciones de *P. septenatum* estudiadas no parecen estar determinadas por un solo factor, como la disponibilidad de agua, si no que probablemente sea la combinación de varios factores próximos. La poca información sobre factores últimos, como polinizadores y herbívoros, de *P. septenatum* no permiten determinar cual es su influencia en los diferentes patrones observados. En las poblaciones de Guanacaste, Carate-Jiménez y Platanares, que se encuentran en habitats fragmentados, se favorece la producción de flores, frutos y la relación frutos/flores, en comparación con la población de bosque continuo en Salsipuedes. Esta diferencia podría deberse a la cantidad de recursos que cada población puede destinar en su reproducción y a la mayor sincronía en la producción de botones florales que estas poblaciones presentaron, la cual probablemente tenga un efecto directo en la actividad de los polinizadores.

REFERENCIAS

- Achard, F.; H.D. Eva; H-J. Stibig; P. Mayaux; J. Gallego; T. Richards & J-P. Malingreau. 2002. Determination of deforestation rates of the world's humid tropics forests. *Science*. 297:999-1002.
- Aizen, M.A. & P. Feisinger. 1994. Forest fragmentation, pollination and plant reproduction in a Chaco Dry Forest, Argentina. *Ecology*. 75: 330-351.
- Aldrich, P.R. & J.L. Hamrick. 1998. Reproductive dominance of pasture trees in a fragmented tropical forest mosaic. *Science* 281:103-105.
- Amos, W. & A. Balmford. 2001. When does conservation genetics matters? *Heredity* 87: 257-265
- Ashton, P.S., T.J. Givnish, & S. Appanah. 1988. Staggered flowering in the Dipterocarpaceae: new insights into floral induction and the evolution of mast fruiting in the aseasonal tropics. *Amer. Natural*. 231: 44-66.
- Augspurger, C.K. 1983. Phenology, flowering synchrony, and fruit set of six Neotropical shrubs. *Biotropica*. 15: 257- 267.
- Barrantes, G., Q. Jiménez, J. Lobo, T. Maldonado, M. Quesada & R. Quesada. 1999. Evaluación de los planes de manejo forestal autorizados en el período 1997-1999 en la Península de Osa. Cumplimiento de normas técnicas, ambientales e impacto sobre el bosque natural. Fundación Cecropia, San José. 94 p.
- Biondini, M. 2001. A three-dimensional model for plant competition in an heterogeneous soil environment. *Ecol. Model.* 142, 189-225.
- Borchert, R., S.S. Renner, Z. Calle, D. Navarrete, A. Tye, L. Gautier, R. Spichiger & P. von Hildebrand. 2005. Photoperiodic induction of synchronous flowering near the Equator. *Nature* 3259:1-3.

- Bullock, S.H. 1995. Plant Reproduction in Neotropical Dry Forest. En: Seasonally Dry Tropical Forest. Bullock, S.H; Mooney, H.A y Median E. (eds.). Forest University Press, Cambridge, Gran Bretaña. Pp: 277-303.
- Chase, M.R; C. Moller; R. Kesseli & K.S. Bawa. 1996. Distant gene flow in tropical trees. *Science* 383:398-399.
- Coley, P. D., & J. A. Barone. 1996. Herbivory and plant defenses in tropical forests. *Ann. Rev. Ecol.Syst.* 27: 305–335.
- Dolíquez, A. & H. Joly. 1997. 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.
- Eguiarte, L; C. Martínez del Río & H. Arita. 1987. El néctar y el polen como recursos: el papel ecológico de los visitantes a las flores de *Pseudobombax ellipticum* (H.B.K.) Dugand. *Biotropica*. 19. 74-82.
- Fournier, L. A. 1974. Método cuantitativo para la medición de características fenológicas en árboles. *Turrialba* 24: 422–423.
- Frankie, G.W., H.G. Baker, & P.A. Opler. 1974. Comparative phenological studies of trees in tropical wet and dry forests in the lowlands of Costa Rica. *Journal of Ecology*. 62: 881–899.
- Fuchs, E.J., J.A. Lobo & M. Quesada. 2003. Effects of forest fragmentation and flowering phenology on the reproductive success and mating patterns on the tropical dry forest tree, *Pachira quinata* (Bombacaceae). *Conserv. Biol.* 17: 149–157.
- Gómez, L. D. 1986. Vegetación de Costa Rica. San José, Costa Rica, Editorial Universidad Estatal a Distancia. 327 pp.

- Gribel, R. 1988. Visits of *Caluromys lanatus* (Didelphidae) to flowers of *Pseudobombax tomentosum* (Bombacaceae): a probable case of pollination by marsupials in Central Brasil. *Biotropica*. 20:344-347.
- Gribel, P. & P.E. Gibbs. 2002. High outbreeding as a consequence of selfed ovule mortality and single vector bat pollination in the amazonian tree *Pseudobombax munguba* (Bombacaceae). *Int. J. Plant Sci.* 163:1035–1043.
- Gribel, R; P.E. Gibss & A.L. Queiróz. 1999. Flowering phenology and pollination biology of *Ceiba pentandra* (Bombacaceae) in Central Amazonia. *J. Trop. Ecol.* 15:247-263.
- Ghazoul, J. & R.U. Shaanker. 2004. Sex in Space: A Synthesis. *Biotropica* 36: 180-183.
- Heithaus, E.R; T.H. Fleming & P.A. Opler. 1975. Foraging patterns and resource utilization in seven species of bats in a seasonal tropical forest. *Ecology*. 56: 841-854.
- Holdridge, L.R. 1967. Life zone ecology. Rev. Ed. San José, Costa Rica. Centro Científico Tropical.
- Holdridge, L.R; L.J. Poveda & Q. Jiménez. 1997. Arboles de Costa Rica. Vol I. 2^{da} ed. Centro Científico Tropical. San José, Costa Rica. 522 pp.
- Janzen, D.H. 1986. The external threat. En: *Conservation Biology: the science of scarcity and diversity*. M. Soulé (ed). Sinauer Associates, Inc. Massachusetts. Pp : 286-303.
- Janzen, D.H. 1988. Tropical Dry Forest: the most endangered major tropical ecosystem. En: *Biodiversity*. E.O. Wilson (ed). National Academy of Science. 538 pp.

- Kenta, T., K. K. Shimizu, M. Nakagawa, K. Okada, A. A. Hamid & T. Nakashizuka. 2002. Multiple factors contribute to outcrossing in a tropical emergent *Dipterocarpus tempehes*, including a new pollen-tube guidance mechanism for self-incompatibility. *Am. J. Bot.* 89:60-66.
- Lobo, J.A; M. Quesada, K.E. Stoner, E. J. Fuchs, I. Herrerías-Diego, J. Rojas, y G. Saborío. 2003. Factors affecting phenological patterns of bombacaceous trees in seasonal forests in Costa Rica and Mexico. *Am. J. Bot.* 90: 1054–1063.
- Lobo, J.A., M. Quesada & K. E. Stoner. 2005. Effects of pollination by bats on the mating system of *Ceiba pentandra* (Bombacaceae) populations in two tropical life zones in Costa Rica. *Am. J. Bot.* 92: 370–376.
- Maass, M.J. 1995. Conversion of tropical dry forest to pasture and agriculture. En: *Seasonally Dry Tropical Forest*. Bullock, S.H; Mooney, H.A y Median E.(eds.). Forest University Press, Cambridge, Gran Bretaña. Pp: 399-422.
- Maldonado, U, T. 1997. Uso de la tierra y fragmentación de bosques. Algunas áreas críticas en el Área de conservación Osa. Centro de Estudios Ambientales y Políticas, Fundación Neotrópica. San José. Costa Rica.
- Marques, M. C.M., J.J. Roper & A.P. Baggio Salvalaggio. 2004. Phenological patterns among plant life-forms in a subtropical forest in southern Brazil. *Plant Ecol.* 173: 203–213.
- Marquis, R.J. 1984. Leaf herbivores decrease fitness of a tropical plant. *Science* 226:537–39
- Marquis, R.J. 1988. Phenological variation in the neotropical understory shrub *Piper arieianum*: causes and consequences. *Ecology* 69: 1552–1565.
- Murawski, D.A & J.L Hamrick. 1992. The mating system of *Cavanillesia platanifolia* under extremes of flowering-tree density: a test of predictions. *Biotropica*. 24:99-101.

- Murawski, D.A., J.L. Hamrick, S.P. Hubbell, & R.B. Foster. 1990. Mating systems of two Bombacaceous trees of neotropical moist forest. *Oecology*. 82: 501-506.
- Obeso, J.R. 2002. The costs of reproduction in plants. *New Phytol.* 155: 321–348
- Palmer, M.W. 1992. The coexistence of species in a fractal landscape. *Am. Nat.* 139, 375–397.
- Primack, R.B. 2002. *Essential of Conservation Biology*. 3^{era} Ed. Sinauer Associates, Inc Publishers, U.S.A. 698 pp.
- Quesada, M., K.E. Stoner, J.A. Lobo, I. Herrerías-Diego, C. Palacios-Guevara, M.A. Munguía-Rosas, K.A. O.-Salazar, & V. Rosas-Guerrero. 2004. Effects of Forest Fragmentation on Pollinator Activity and Consequences for Plant Reproductive Success and Mating Patterns in Bat-pollinated Bombacaceous Trees. *Biotropica* 36: 131–138.
- Rivera, G., S. Elliott, L.S. Caldas, G. Nicolossi, V.T.R. Coradin & R. Borchert. 2002. Increasing day-length induces spring flushing of tropical dry forest trees in the absence of rain. *Trees* 16: 445–456.
- Robyns, A. 1964. Flora de Panamá. Parte VI. Family 116. Bombacaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden*. LI (1-4): 39.
- Sader, S.A. & A.T. Joyce. 1988. Deforestation rates and trends in Costa Rica, 1940 to 1983. *Biotropica* 20:11-19.
- Sakai, S., K. Momose, T. Yumoto, T. Nagamitsu, H. Nagamasu, A.A. Hamid & T. Nakasiiizuka. 1999. Plant reproductive phenology over four years including an episode of general flowering in a lowland dipterocarp forest, Sarwak, Malaysia. *Am. J. Bot.* 86: 1414–1436.

- Snow, D. W. 1965. A possible selective factor in the evolution of fruiting seasons in tropical forest. *Oikos* 15: 274–281.
- Stephenson, A.G. 1981. Flower and fruit abortion: proximate causes and ultimate functions. *Ann.Rev. Ecol. Syst.* 12:253-279.
- Van Schaik C.P., J.W. Terborgh & J.S. Wright. 1993. The phenology of tropical forests: adaptive significance and consequences for primary consumers. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 24: 353–377.
- Wright, S. J. & F.H. Cornejo. 1990. Seasonal drought and leaf fall in a tropical forest. *Ecology* 71: 1165-1175.
- Wright, S. J. & C. P. van Schaik. 1994. Light and the phenology of tropical trees. *Am. Natur.* 143: 192–199.

ANEXO 1.
CUADROS

Cuadro 1. Resultados del modelo lineal mixto ($X_{ij} = \mu + p_i + b \cdot c_{ij} + e_{ij}$, Logit ($X_{ij}/Y_{ij}) = \mu + p_i + rb \cdot c_{ij} + e_{ij}$) en el primer periodo reproductivo para todas las poblaciones de *P. septenatum* estudiadas.

	Efecto	Wald test	Wald/gl	P	gl
Flores	Población	32.82	10.94	<0.001	3
Frutos	Población	9.03	3.01	0.029	3
Frutos/flores	Población	5.51	1.84	0.138	3

Cuadro 2. Resultados del modelo lineal mixto ($X_{ikj} = \mu + p_i + b^*c_{ij} + a_{i(j)} + r_k + e_{ikj}$, $\text{Logit}(X_{ikj}/Y_{ikj}) = \mu + p_i + b^*c_{ikj} + a_{i(j)} + r_k + e_{ikj}$), en el segundo periodo reproductivo para todas poblaciones de *P. septenatum* del Pacifico Sur.

	Modelo	Wald test	Wald/gl	P	gl
Flores	Año	7.53	7.53	0.006	1
	Población	15.45	7.72	<0.001	2
	Circunferencia	20.69	20.69	<0.001	1
Frutos	Año	1.74	1.74	0.187	1
	Población	17.8	8.9	<0.001	2
	Circunferencia	8.44	8.44	0.004	1
frutos/flores	Flores	14.33	14.33	<0.001	1
	Año	7.66	7.66	0.006	1
	Población	9.16	4.58	0.01	2

Cuadro 3. Índices de correlación de Spearman entre el índice de sincronía de Augspurger de la producción de botones florales y la relación frutos/flores para cada población en ambos periodos reproductivos.

	Carate-Jiménez	Guanacaste	Platanares	Salsipuedes
2001-2002	-0.472	-0.426	-0.089	0.492
2002-2003	-0.467		0.431	0.065

Todos los Índices con una probabilidad mayor a 0.05.

Cuadro 4. Datos climáticos para la Provincia de Guanacaste y la Península de Osa, para los años 2000-2002. Ver detalles en Lobo *et al.* 2003.

Sitio	Temperatura	Fotoperiodo	Época lluviosa		Época seca	
			Duración	Precipitación (mm)	Duración	Precipitación (mm)
Guanacaste	32.8 ^o -21.8 ^o C	11.4-12.6	Mayo-Nov.	175	Dic.-Abril	0.3
Península de Osa	31.9 ^o -21.8 ^o C	11.4-12.6	Abril-Nov.	383	Dic.-Marzo	118.3

ANEXO 2
FIGURAS

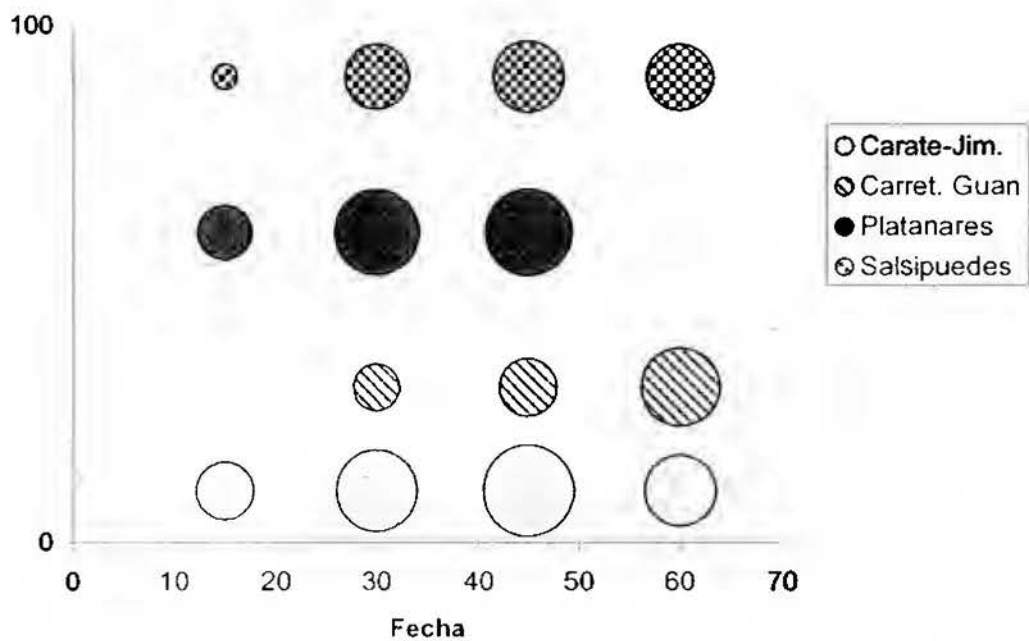


Figura 1. Proporción de árboles de *P. septenatum* con más del 25% de la copa cubierta por botones florales según la fecha, para cada población estudiada en el primer período reproductivo (2001-2002). El diámetro de los círculos es proporcional al porcentaje de árboles con más del 25% de la copa con botones florales.

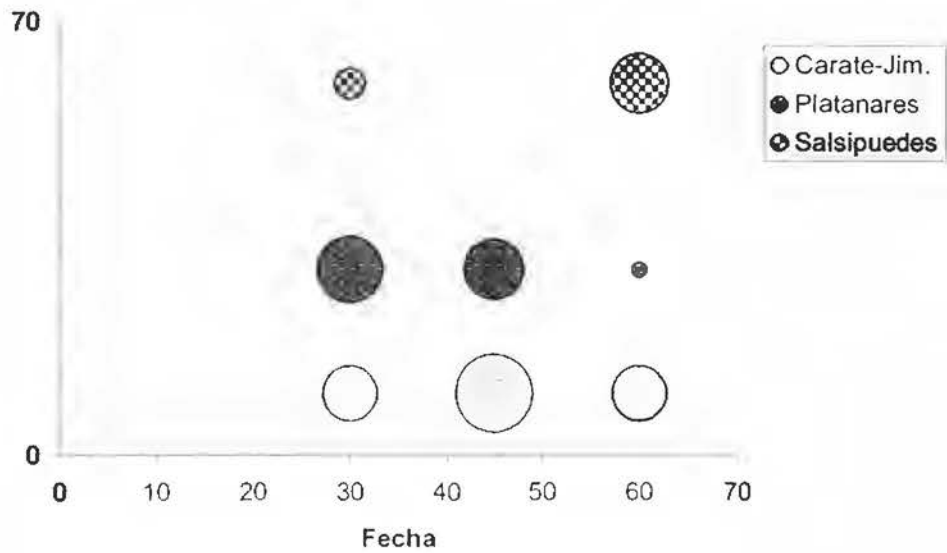


Figura 2. Proporción de árboles de *P. septenatum* con más del 25% de la copa cubierta por botones florales según la fecha, para cada población estudiada en el segundo período reproductivo (2002-2003).

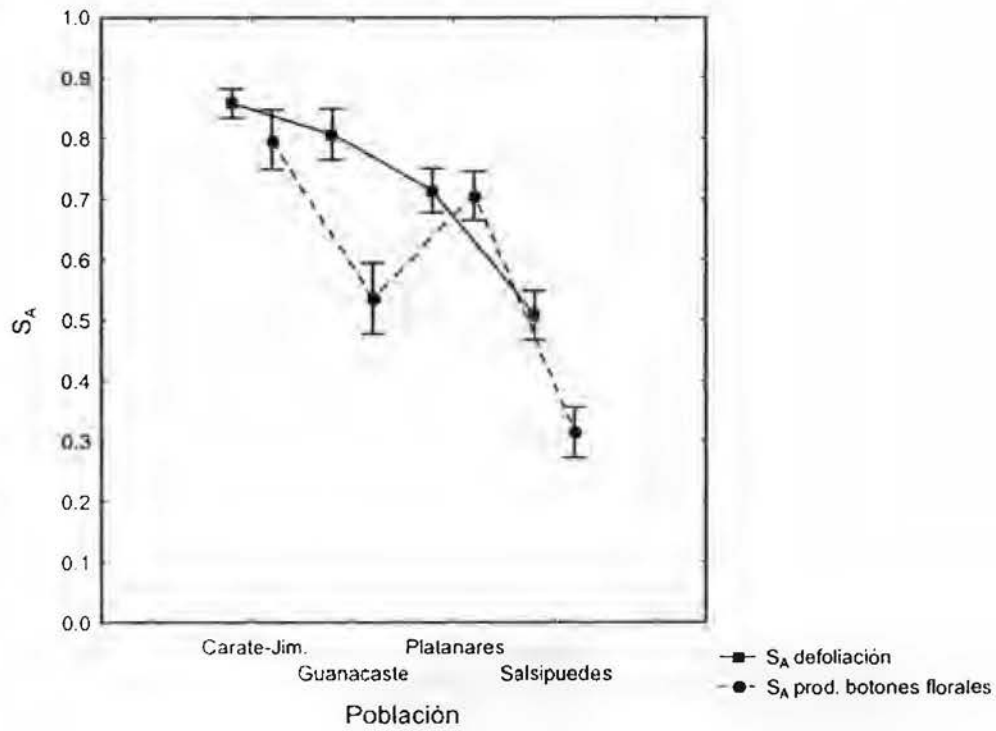


Figura 3. Índices de sincronía de Augspurger (S_A) para la pérdida de hojas y la producción de botones florales de los individuos de *P. septenatum*, según la población, en el primer período reproductivo estudiado (2001-2002).

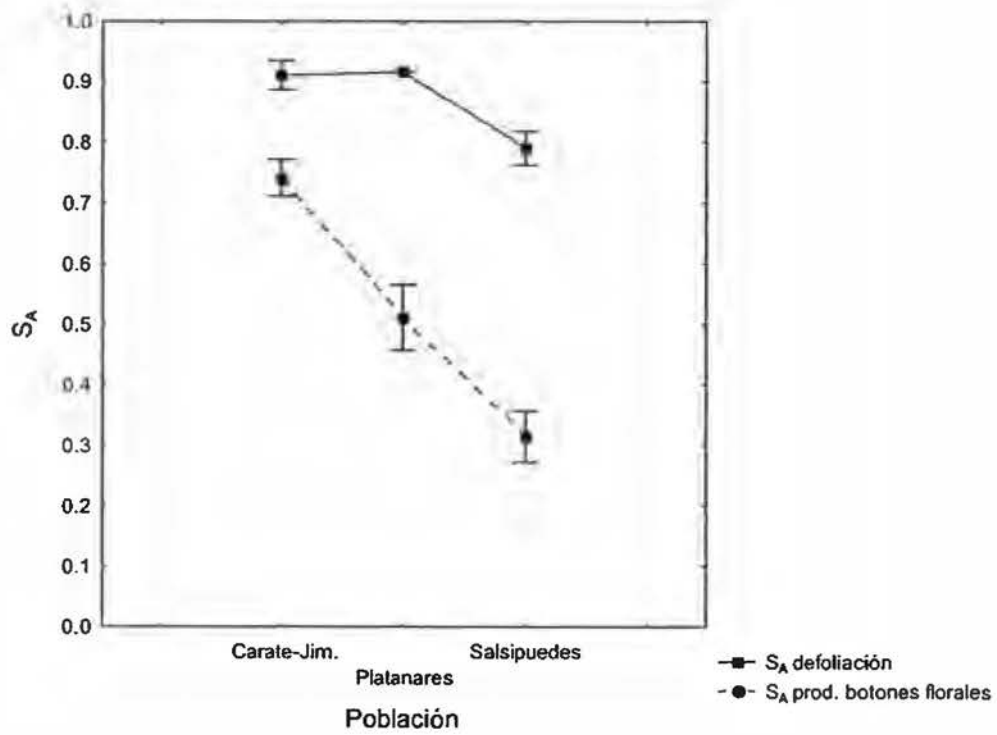


Figura 4. Índices de sincronía de Augspurger (S_A) para la pérdida de hojas de los individuos de *P. septenatum*, según la población, en el segundo período reproductivo estudiado (2002-2003).

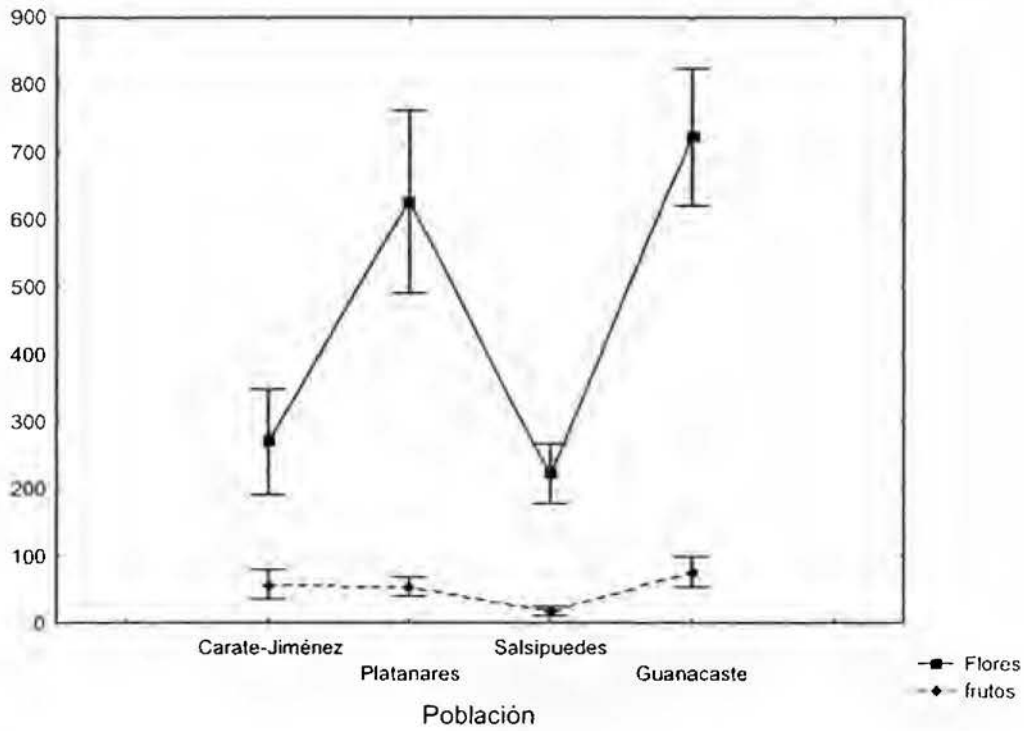


Figura 5. Promedio y desviación estándar de la producción de flores y frutos para cada población en el primer periodo reproductivo estudiado (2001-2002).

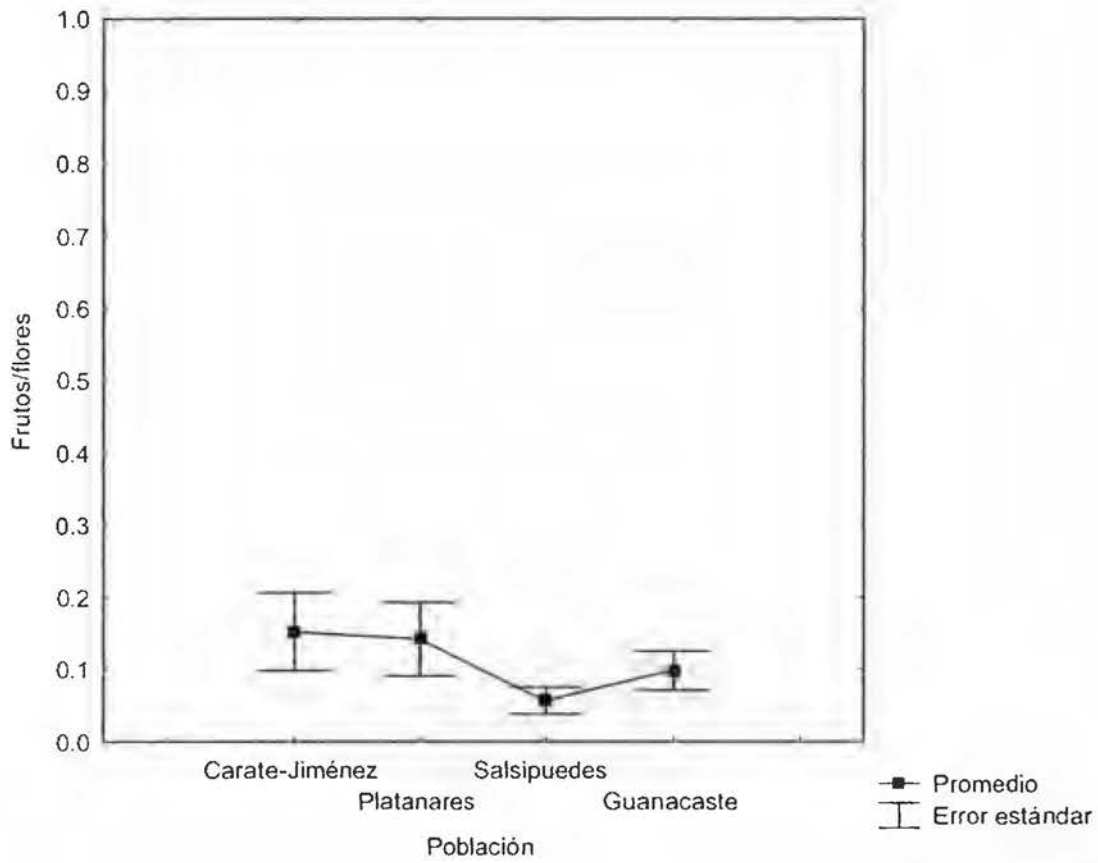


Figura 6. Promedio y error estándar de la relación frutos/flores para cada población de *P. septenatum* en el primer período reproductivo estudiado (2001-2002).

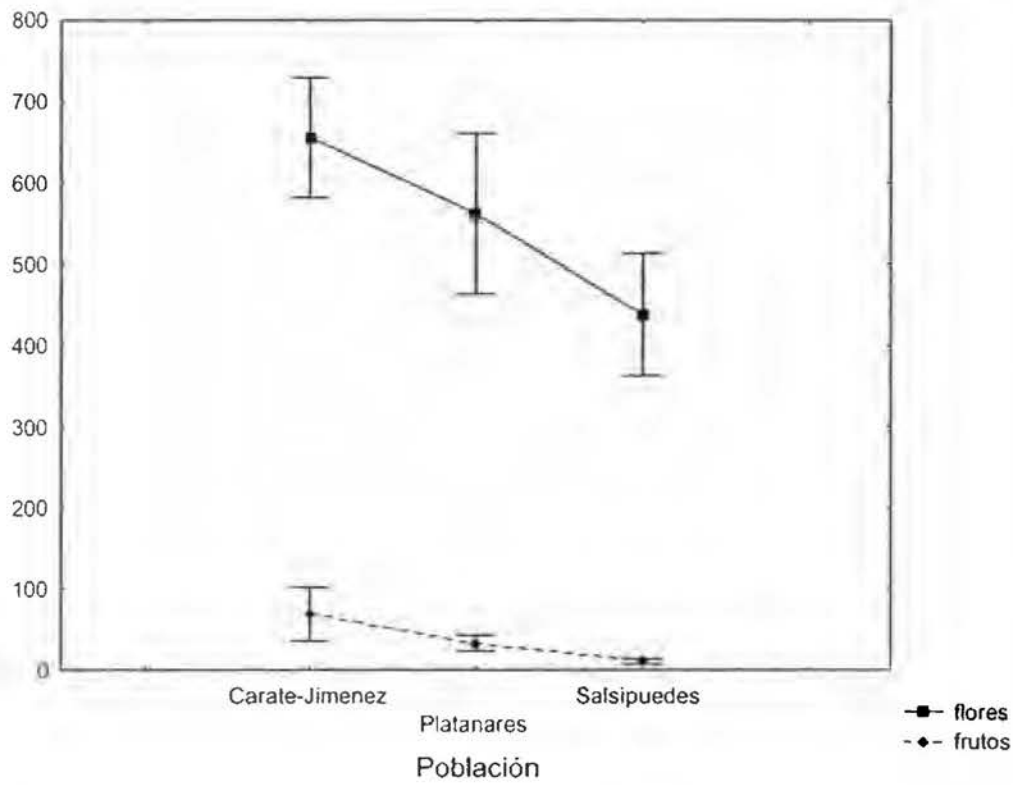


Figura 7. Promedio y error estándar de la producción de flores y frutos de *P. septenatum* para cada población en el segundo período reproductivo estudiado (2002-2003).

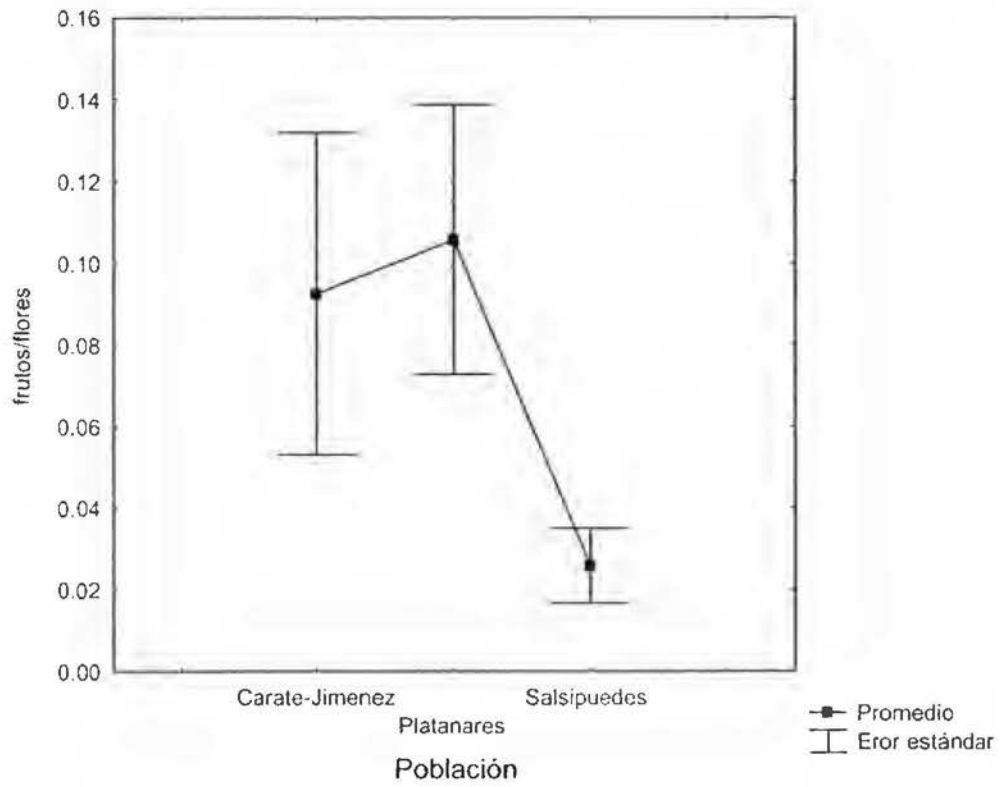


Figura 8. Promedio y error estándar de la relación frutos/flores para cada población en el segundo período reproductivo estudiado (2002-2003).

CAPITULO 3.

Patrones isoenzimáticos de poblaciones de *Pseudobombax septenatum* Dugand (Bombacaceae) de la costa Pacífica de Costa Rica.

Saborío-R, Guido.

Las isoenzimas fueron descubiertas por Hunter y Markert en 1957, convirtiéndose en uno de los primeros marcadores moleculares. Por lo tanto, han jugado un papel clave en muchas ramas de la biología como, genética de poblaciones y evolución (Soltis y Soltis 1989, Parker *et al.* 1998). Las isoenzimas, también conocidas como aloenzimas, son proteínas que reflejan directamente cambios en la secuencia de ADN mediante los cambios en los aminoácidos que las forman. Estos cambios alteran la carga eléctrica de las isoenzimas y algunas veces su estructura, provocando un cambio en su movilidad en la electroforesis (Weeden y Wendel 1989).

Algunas de las ventajas de las aloenzimas como marcadores moleculares son que presentan herencia Mendeliana simple, codominancia, penetrancia completa y ausencia de interacciones pleiotrópicas y epistáticas. Estas características se deben a las simples bases genéticas y bioquímicas de las isoenzimas. El locus de estas enzimas se define como el gen estructural capaz de catalizar una reacción química determinada, dándose la transcripción y traducción de ambos alelos. Además, existe evidencia de que las variaciones en la movilidad electroforética de las isoenzimas refleja directamente cambios en la secuencia de ADN del gen de interés y no polimorfismos en uno o varios de los genes que intervienen en la modificación que se sufren en los pasos de traducción y transcripción (Weeden y Wendel 1989).

El uso de las isoenzimas en estudios poblacionales tiene ventajas y desventajas. Las principales ventajas son el bajo costo por muestra, así como lo rápido y sencillo del análisis de la muestra. Las principales desventajas son que algunas especies son monomórficas para la mayoría de las isoenzimas o

que el nivel de variación detectado es bajo comparado con otros marcadores (Parker *et al.* 1998).

Aún cuando actualmente se han desarrollado otros marcadores moleculares como los microsatélites, polimorfismo del tamaño de los fragmentos de restricción, o los polimorfismos de fragmentos amplificados al azar, basados en el ADN, todavía es común encontrar estudios de genética de poblaciones que utilicen las isoenzimas (Cascante *et al.* 2002, Fuchs *et al.* 2003). Por ejemplo, en estudios con árboles tropicales, Cascante *et al.* (2002) utilizaron 6 loci isoenzimáticos, la mayoría con dos alelos por locus, para estudiar el efecto de la fragmentación del bosque en la estructura genética de *Samanea saman* (Fabaceae), en el bosque seco de Costa Rica.

Varios estudios poblacionales se han realizado utilizando isoenzimas en especies de la familia Bombacaceae, por ejemplo en pochote (*Pachira quinata*) (Fuchs *et al.* 2003) y ceiba (*Ceiba pentandra*) (Rojas 2004) en Costa Rica; y *Pseudobombax munguba* (Gribel y Abbott 1996), en Brasil. Fuchs *et al.* (2003) utilizaron seis sistemas de enzimas polimórficas en *Pachira quinata* en el bosque seco de Costa Rica. Estos autores encontraron cuatro alelos en los loci LAP y SKDH, tres alelos en los loci EST y AAT y dos alelos en los loci PGI-I, PGI-2 y ADH. En *C. pentandra*, Gribel y Abbott (1996) reporta en *P. munguba* en Brasil, que la variación de la GPI citosólica es controlada por dos loci dialélicos, con ciertas características que sugieren que son el producto de poliploidía. La poliploidía es la presencia de más de dos genomas por célula (Soltis y Soltis 2002), se estima que del 40 al 70% de las plantas con flor son descendientes de un ancestro poliploide (Ramsey y Schemske 2002)

A pesar de que las isoenzimas como marcadores moleculares han sido utilizadas desde hace décadas, la eficiencia de estas cambia dependiendo de la planta analizada, el tejido analizado y el sistema enzimático (Wendel y Weeden 1989). El objetivo de este estudio es determinar cuales sistemas enzimáticos presentan polimorfismos apropiados para ser utilizados en estudios de genética de poblaciones de *Pseudobombax septenatum* (Bombacaceae) en la costa Pacífica de Costa Rica.

MATERIALES Y MÉTODOS

a) Especie en estudio

Pseudobombax septenatum (Jacq.) Dugand puede alcanzar de 6 a 20 m de altura (Robyns 1964). Su fuste es cilíndrico o abultado y su corteza gris con estrias verdes anchas (Robyns 1964, Holdridge *et al.* 1997). Las flores de *P. septenatum* son grandes, de color blanco, con antésis nocturna, duran una sola noche y producen una gran cantidad de polen, todas características asociadas a flores visitadas por murciélagos (Proctor *et al.* 1996). Los frutos de *P. septenatum* son dehiscentes y las semillas están cubiertas por un algodón, el cual les permite ser dispersadas por el viento y por el agua.

Esta especie está presente desde Nicaragua hasta Venezuela, Brasil y Perú, en bosques de elevaciones bajas, con climas de húmedos a muy húmedos y en suelos arenosos (Robyns 1964, Holdridge *et al.* 1997). En Costa Rica se encuentra a lo largo de la costa pacífica y en la zona norte del país (Jiménez *et al.* 1996).

b) Muestreo:

Entre febrero y marzo del 2002 se recolectaron de uno a diez frutos de *P. septenatum*, de un total de treinta y seis árboles. Veintinueve árboles de tres sitios diferentes en la Península de Osa: a) Playa Preciosa, b) Tamales y c) Salsipuedes; y siete árboles de *P. septenatum* que se encuentran a orillas de la carretera Interamericana, de Miramar de Puntarenas a Cañas, Guanacaste. Los frutos de *P. septenatum* son dehiscentes, por lo tanto, los frutos recolectados se mantuvieron en el invernadero de la Escuela de Biología de la Universidad de Costa Rica, en San Pedro de Montes de Oca, San José, hasta que liberaran sus semillas naturalmente. La mitad de las semillas se almacenó a temperatura ambiente y la otra mitad a -4°C .

Las semillas se maceraron en 500 μl de buffer Dellaporta, luego se humedeció una tira de papel filtro (0.5 X 1.0 cm aproximadamente) con el extracto y se colocó en un gel de almidón al 11 % (Starch Art Corporation, TX, U.S.A.). Se utilizaron cinco diferentes soluciones tampón: Morfolina-citrato pH

6.1; Tris-HCl pH 8.6; Tris-citrato pH 7.0, Tris-citrato pH 7.2/7.6, Litio borato pH 8.3 y TEEM pH 7.4 (Soltis y Soltis 1989). Se utilizaron los siguientes sistemas enzimáticos: aspartato aminotransferasa (AAT, 2.6.1.1), alcohol deshidrogenasa (ADH, 1.1.1.1), esterasa (EST, 3.1.1.-), glucosa 6-fosfato deshidrogenasa (6-PGD, 1.1.1.49), glucosa 6-fosfato isomerasa (GPI, 5.3.1.9), malato deshidrogenasa (MDH, 1.1.1.37), enzima málica (ME, 1.1.1.40), isocitrato deshidrogenasa (ICD) y shikimato deshidrogenasa (SKDH, 1.1.1.25), La visualización de cada sistema enzimático se realizó según Soltis y Soltis (1989).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En total se analizaron 300 semillas de 24 árboles (Cuadro 1). Con las soluciones Tris-HCl pH 8.6, Tris-HCl pH 7.6/7.2 y TEEM pH 7.4 no se obtuvo una resolución que permitiera el análisis de los fenotipos electroforéticos para la mayoría de las enzimas utilizadas, con excepción de la ICD. La enzima AAT mostró la mejor resolución con la solución Litio Borato. Con la solución tampón Morfolina citrato se obtuvo una buena resolución para la ADH. Con la solución tampón Tris-HCl pH 7.0/7.0 se obtuvo una buena resolución para la mayoría de los sistemas enzimáticos analizados, incluyendo la ICD. Con esta solución tampón se analizaron la mayoría de las semillas (Cuadro 1).

La mayoría de las soluciones tampón utilizadas para la visualización de los sistemas enzimáticos se desarrollaron en la década de los años 60. Sin embargo, a pesar de ser una técnica con bastantes años de desarrollo, la eficiencia de cada solución tampón cambia dependiendo de la planta analizada, el tejido analizado y el sistema enzimático (Wendel y Weeden 1989). Esto explica porqué no todas las soluciones tampón utilizadas en este estudio permitieron una buena resolución para el análisis de los sistemas enzimáticos.

La enzima AAT presentó dos regiones activas, las cuales probablemente son el producto de dos genes ubicados en dos compartimentos celulares diferentes (Fig. 1). Huang y colaboradores (1976) reportan la presencia de la AAT en el citoplasma, plastidios, mitocondria y micro cuerpos en las hojas de espinaca. Una característica importante de las isoenzimas con funciones

bioquímicas bien definidas, es que presenta un número de locus bien definido y una compartimentalización muy estable (Gottlieb 1982), por lo tanto, es muy probable que las dos regiones activas observadas en *P. septenatum* se deban a genes ubicados en diferentes compartimentos celulares, sin asumir necesariamente que la AAT en *P. septenatum* se encuentre en todos los mismos compartimentos celulares que en la espinaca. En ninguna de las regiones se observó variación dentro de las familias de semillas ni entre los diferentes árboles analizados. Entre ambas regiones se observaron varias bandas más tenues, las cuales pueden ser producto de la combinación de proteínas de las dos regiones. La estructura cuaternaria es ampliamente conservada en la evolución bioquímica por lo que se puede predecir que enzimas como la AAT es dimérica (Weeden y Wendel 1989).

La ADH presentó solo una región activa, con 4 a 7 bandas (Fig. 2), lo normal para una enzima dimérica y con presencia de varios genes duplicados para el mismo producto proteico, como la ADH (Weeden y Wendel 1989). La Figura 2. muestra la variación en el patrón de bandas entre individuos, consistente en la presencia o ausencia de conjuntos de 2-4 bandas. Esta variación se presentó entre conjuntos enteros de familias de semillas y no dentro de las familias. Estas diferencias pueden deberse a variación alélica, la cual es difícil de interpretar si no se cuentan con cruces controlados. Los individuos de *P. septenatum* producen pocas flores por noche y son árboles de 6 a 20 metros de altura, por lo que la accesibilidad a las flores es un factor limitante para realizar cruces controlados. Por otra parte, la baja relación frutos/flores que presenta esta especie, algo normal en las especies de árboles tropicales, provoca que los pocos cruces controlados que se puedan realizar tengan una probabilidad muy baja de resultar en la producción de un fruto.

La EST presentó una sola región activa, la cual no varió entre familias de semillas ni dentro de las mismas (Fig. 3). La ICD presentó también solo una región activa (Fig. 4), la cual podría estar duplicada, pues se observó una región más tenue similar a la región principal. La región observada, al igual que en la EST, no presentó variación entre las familias de semillas ni dentro de las mismas.

La MDH presento una región enzimática activa con ocho bandas bien definidas (Fig. 5). La presencia de muchas bandas sugiere la existencia de

muchas formas enzimáticas para la misma enzima, lo cual puede deberse a genes duplicados. Esto es muy común en especies poliploides. Además esta enzima es reportada como dimérica, lo cual provoca que su patrón enzimático sea más complejo. No se observó variación entre las familias de semillas ni dentro de las mismas.

La SKDH presentó una región activa, la cual varió entre las familias de semillas y dentro de las mismas (Fig. 6). Sin embargo, la falta de cruces controlados y la baja resolución obtenida no permitieron interpretar esta variación.

La GPI parece presentar dos regiones activas y algunas bandas entre estas, probablemente como resultado de la combinación de proteínas de ambos genes (Fig. 7). Sin embargo, Gribel y Abbott (1996) resolvieron el sistema enzimático de la GPI para *P. munguba*, en Brasil y ellos proponen que hay tres genes de la GPI, GPI-1, GPI-2 y GPI-3. Los dos primeros se encuentran muy cerca por lo que es difícil distinguirlos. Es probable que en *P. septenatum* el sistema sea semejante, sin embargo la falta de cruces controlados no nos permite corroborarlo.

En conclusión, la mayoría de las enzimas (AAT, EST, ICD, MDH) no presentaron variación entre las familias de semillas, ni dentro de las mismas. En los únicos casos que se observó variación, esta se manifestó como la presencia o ausencia de conjuntos de bandas en todas las semillas de una familia, lo cual podría indicar que *P. septenatum* en Costa Rica presenta una alta tasa de auto polinización. El que la ADH y la GPI presentaran la mayor variación entre las familias de semillas y no dentro de estas, también sugiere que *P. septenatum* presenta altas tasas de endogamia. Aun cuando la falta de cruces controlados no permitió un mejor análisis de los patrones enzimáticos de la GPI y la SHDH, la falta de variación en el resto de las enzimas analizadas, nos sugieren que es necesario explorar otras técnicas moleculares para estudios de genética de poblaciones de *P. septenatum* en Costa Rica.

REFERENCIAS

- Cascante, A., M. Quesada, J.A. Lobo, & E.J. Fuchs. 2002. Effects of dry tropical forest fragmentation on the reproductive success and genetic structure of the tree, *Samanea saman*. *Conserv. Biol.* 16:137–147.
- Fuchs, E.J., J.A. Lobo, & M. Quesada. 2003. Effects of forest fragmentation and flowering phenology on the reproductive success and mating patterns on the tropical dry forest tree, *Pachira quinata* (Bombacaceae). *Conserv. Biol.* 17: 149–157.
- Gottlieb L.D. 1982. Conservation and duplication of isoenzymes in plants. *Science* 216:373-380.
- Gribel, R. & R.L. Abbott. 1996. Genetics of cytosolic phosphoglucose isomerase (PGI) variation in the Amazonian tree *Pseudobombax munguba* (Bombacaceae). *Heredity* 76:531-538.
- Holdridge, L.R; L.J. Poveda & Q. Jiménez. 1997. *Arboles de Costa Rica*. Vol I. 2^{da} ed. Centro Científico Tropical. San José, Costa Rica. 522 pp.
- Huang, A.H.C; K.D.F. Liu & R.J. Youle. 1976. Organelle-specific isoenzymes of aspartate- α -ketoglutarate transaminasa in spinach leaves. *Pl. Physiol.* 58: 110-113.
- Jiménez, Q; A. Estrada; A. Rodríguez & P. Arroyo. 1996. *Manual Dendrológico de Costa Rica*. Taller de Publicaciones, Instituto Tecnológico de Costa Rica. Cartago, Costa Rica. 165 pp.
- Parker, P.G., A.S. Snow, M.D. Schug, G.C. Booton & P.A. Fuerst. 1998. What molecules can tell us about populations: choosing and using a molecular marker. *Ecology* 79: 361-382.

- Proctor, M., P. Yeo & A. Lack. 1996. The Natural History of Pollination. Timbres Press, Portland Oregon. 479 pp.
- Ramsey, J. & D.W. Schemske. 2002. Neopolyploidy in flowering plants. *Ann. Rev.Ecol. Syst.* 33: 589-639.
- Robyns, A. 1964. Flora de Panamá. Parte VI. Family 116. Bombacaceae. *Ann. Miss. Bot. Gar.* LI (1-4): 39.
- Rojas S, J. 2004. Biología reproductiva y fenología de *Ceiba pentandra* (Bombacaceae) en dos zonas de vida de Costa Rica. Tesis de Maestría, Programa de Estudios de Posgrado en Biología, Universidad de Costa Rica.
- Soltis, D.E. & Soltis P.S. 1989. Isoenzymes in Plant Biology. Dioscorides Press, Portland, Oregon. USA.
- Weeden, N. F. & J. F. Wendel. 1989. Genetics of plant isozymes. Páginas 46–72. En D. E. Soltis y P. S. Soltis, editores. *Isozymes in Plant Biology*. Dioscorides Press, Portland, Oregon. USA.
- Wendel J. F & N. F Weeden. 1989. Visualization and interpretation of Plant Isoenzymes. Páginas 5-45. En D. E. Soltis y P. S. Soltis, editores. *Isozymes in Plant Biology*. Dioscorides Press, Portland, Oregon. USA.

ANEXO 1.
CUADROS

Cuadro 1. Número de semillas analizadas según el Lugar y la Solución Tampón.

Lugar	Árbol	Soluciones Tampón					Total
		Morfolina Citrato	Tris Citrato ph 7/7	Tris Citrato 7,6/7,2	Tris-HCl 8,6	TEEM 7,4	
Carate-Jiménez	913			2			2
	173			2	4	4	10
	494						
	501			2			2
	506	7	11		4	4	26
	913						
	914		4				4
	915	4	4				8
	918	8	12	6			26
	919	4					4
Guancaste	669	11	18		4	4	37
	671B						
	675		20	2			22
	677	15	4	2	4	4	29
	678	8	30	2			40
	679d	10	10				20
	679e	4	12	2			18
Platanares	10			2			2
	180			2			2
Salsipuedes	RC2		4	10			14
	RC3			2			2
	RC4			2			2
	173						
	182						
	187	4					4
	188						
	189						
	190						
	191						
192			2			2	
194		4		4	4	12	
198							
232	4	4				8	
58							
904		4				4	
Total		79	141	40	20	20	300

ANEXO 2
FIGURAS



Figura 1. Patrón observado para la enzima AAT utilizando la solución tampón Litio Borato.

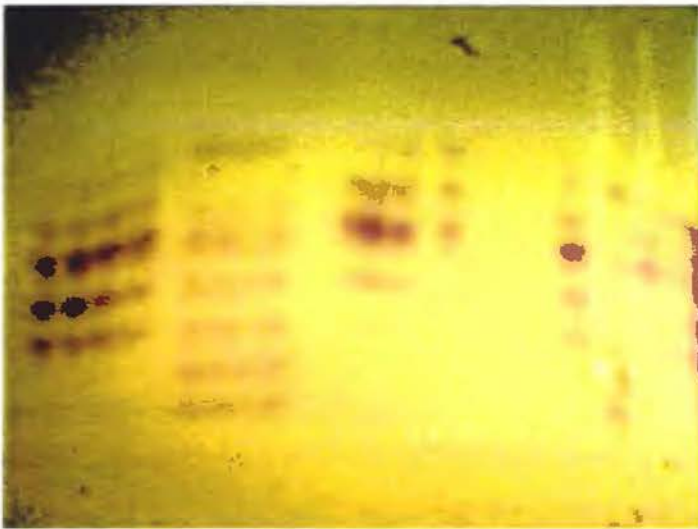


Figura 2. Patrón observado para la enzima ADH utilizando la solución tampón Morfolina Citrato.

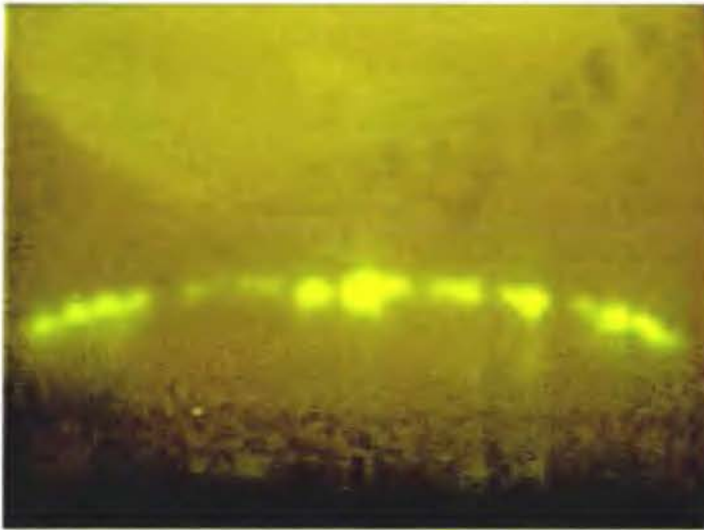


Figura 3. Patrón observado para la enzima EST utilizando la solución tampón Tris HCl 7.0/7.0.

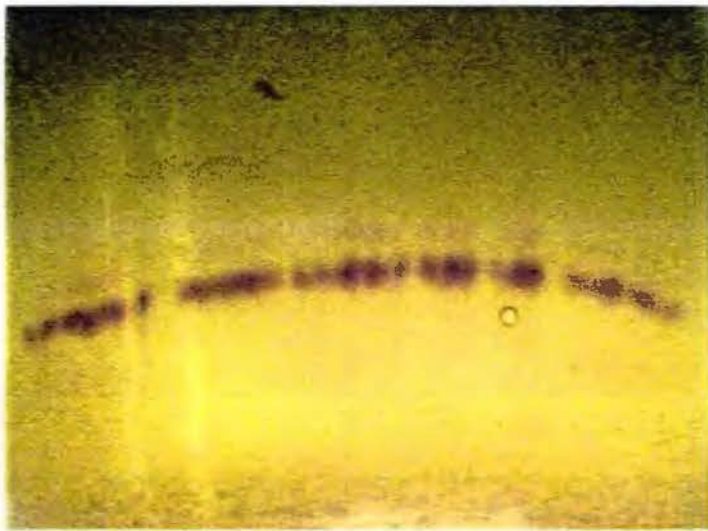


Figura 4. Patrón observado para la enzima ICD utilizando la solución tampón Tris HCl 7.0/7.0.

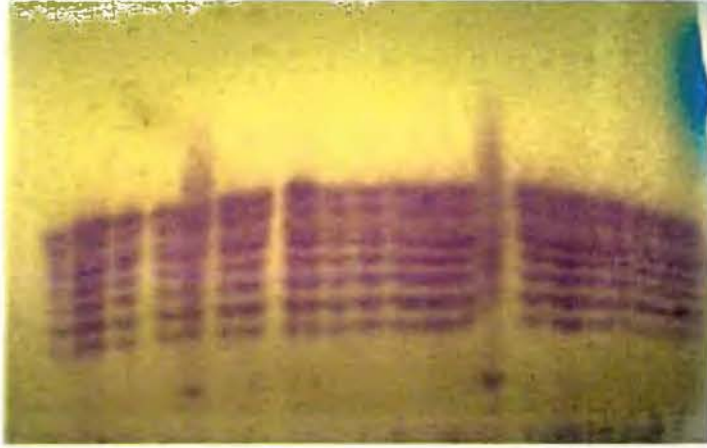


Figura 5. Patrón observado para la enzima MDH utilizando la solución tampón Tris HCl 7.0/7.0.

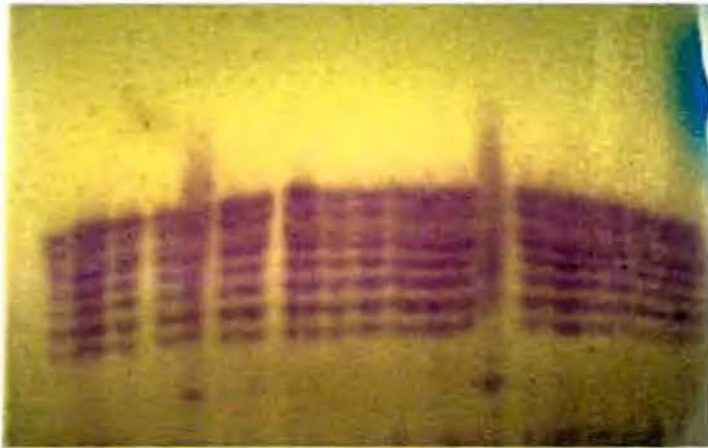


Figura 5. Patrón observado para la enzima MDH utilizando la solución tampón Tris HCl 7.0/7.0.

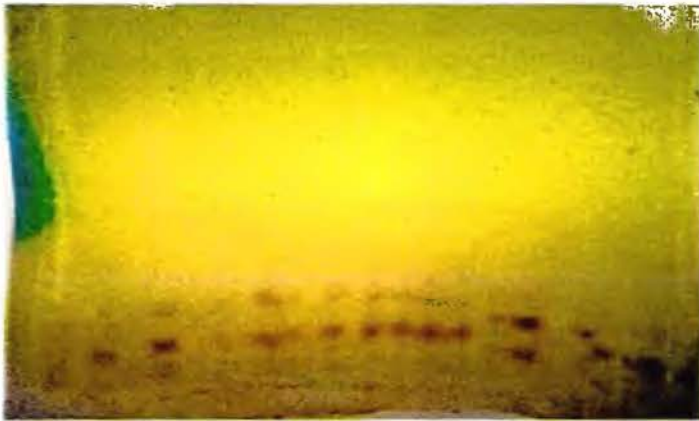


Figura 6. Patrón observado para la enzima SKDH utilizando la solución tampón Tris HCl 7.0/7.0.



Figura 7. Patrón observado para la enzima GPI utilizando la solución tampón Morfolina Citrato.