

Efecto de la regeneración del bosque nuboso sobre la morfología floral y polinización del arbusto heterostílico *Palicourea padifolia* (Rubiaceae)

J. Antonio Guzmán Q.^{1,2} & Adrián Rodríguez-Corrales.²

1. Programa Regional de Posgrado en Biología, Sistema de Estudios de Posgrado, Universidad de Costa Rica; antguz06@gmail.com
2. Laboratorio de Ecología Funcional y Ecosistemas Tropicales. Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional; adroco0288@hotmail.com

Recibido 14-I-2014 • Corregido 18-V-2014 • Aceptado 9-VI-2014

Abstract: Effect of cloud forest regeneration on floral morphology and pollination of the heterostylous shrub *Palicourea padifolia* (Rubiaceae). Studies of the implications of floral heterostyly on the species are linked to specific populations, but none take into account the heterostylic trait variations in populations that are found in environments with contrasting regeneration levels. The purpose of this study was to determine whether differences exist in floral morphology, pollen stigmatic load and pollen production on heterostylic morphs of *Palicourea padifolia* in two contrasting areas (old secondary forest vs. early regenerating forest). We found differences in the length and width of the perianth between the two morphs and between the two forest areas which can respond to heterostylic floral traits and environmental characteristics. Stigmatic pollen load differed between areas but not between morphs, suggesting ecological effects that can be described by the number of neighbors and the degree of exposure of plants. This work highlights the importance of taking into account the ecological peculiarities of each region to explain possible patterns of variation in floral traits and pollination in other heterostylic species as well.

Key words: Floral structure, heterostyly, light environments, pollen, forest succession, forest restoration.

RESUMEN: Los estudios de las implicaciones de la heterostilia floral en las especies se encuentran ligados a poblaciones puntuales, sin tomar en cuenta las variaciones de los rasgos heterostílicos en poblaciones que se encuentran en ambientes con contrastante estado de regeneración natural. El objetivo de este estudio fue determinar si existen diferencias en la morfología floral, la carga polínica estigmática y la producción de polen en morfos heterostílicos de *Palicourea padifolia* en dos áreas contrastantes de regeneración natural (bosque secundario viejo vs. bosque en regeneración temprana). Existen diferencias en la longitud y ancho del perianto entre ambos morfos y entre ambas áreas boscosas, lo cual pueden responder a los rasgos de la heterostilia floral y a características ambientales. La carga polínica estigmática no mostró diferencias entre morfos, pero sí entre las áreas boscosas, lo que sugiere que existe un efecto de las condiciones ecológicas, lo cual es mayormente explicado por el número de vecinos y el grado de exposición de las plantas. La producción de polen no varió entre los morfos ni se entendió cómo el área boscosa afecta la producción. Es importante tomar en cuenta las particularidades ecológicas de cada región para poder explicar posibles patrones de variación de los rasgos florales y la polinización de especies heterostílicas.

Palabras clave: Estructura floral, heterostilia, ambientes lumínicos, polen, sucesión de bosque, restauración boscosa.

La heterostilia es un polimorfismo floral controlado genéticamente en el cual poblaciones de plantas están compuestas por morfotipos florales que difieren en la posición recíproca del estigma y las anteras (Barrett, 1990). Las poblaciones heterostílicas que presentan dos morfos florales (distilia) se caracterizan por exhibir plantas con flores de estilos largos y estambres cortos (*pin*), y plantas con flores de estilos cortos y estambres largos (*thrum*) (Barrett, 1990). La función de dicha condición se ha ligado a las hipótesis de la transferencia eficiente de polen entre morfotipos facilitada por la hercogamia recíproca, los cuales permiten maximizar los roles masculinos y femeninos de las flores (Barrett, 2002).

La heterostilia se ha documentado en 28 familias (Barrett, 2002) donde la familia Rubiaceae presenta la mayor diversidad de especies heterostílicas (416 especies), específicamente distílicas (Hernández, 2006). En *Palicourea* (Rubiaceae) la distilia floral ha sido ampliamente estudiada y particularmente *Palicourea padifolia* es la especie con mayor número de estudios (Hernández, 2006); la mayoría de estos resaltan las diferencias de la morfología floral, el flujo de polen, la producción de néctar, las visitas de los polinizadores y la producción de frutos y semillas de sus morfotipos. A pesar de esto, actualmente no existen estudios sobre el posible efecto del hábitat boscoso y su regeneración sobre las

características heterostílicas de la especie. El objetivo de este estudio fue identificar patrones de variación de la heterostilia floral de *P. padifolia* relacionados con la longitud y ancho del perianto floral y su polinización en dos comunidades boscosas en contrastante estado de regeneración natural.

METODOLOGÍA

Sitio de estudio: El trabajo se realizó dentro de dos áreas boscosas de la Estación de Biología Tropical y Acuicultura de Río Macho (EBTARM), de la Universidad Nacional, Costa Rica. Esta zona presenta elevaciones próximas a los 1 560msnm y se puede clasificar como Bosques Tropicales Muy Húmedos Montanos Bajos según las zonas de vida de Holdridge (1967), lo que actualmente hace sinonimia a bosque nuboso tropical.

La primera área corresponde a una zona boscosa cerca del Embalse El Llano a 1700ms.n.m. (9°45'52.64"N y 83°51'44.13"O). Dicho sitio contiene un bosque natural de aproximadamente 21,26 ha en estado avanzado de restauración natural. Según fotografías aéreas y encuestas recientes el sitio podría contar con aproximadamente 53 años de regeneración natural, posterior a una actividad ganadera que se realizó en la década de los años 50. La segunda área boscosa seleccionada se encuentra al costado oeste de la EBTARM (9°45'24,42"N y 83°50'59,16"O) a 1 600 ms.n.m., la cual corresponde a un tacotal abandonado de 11,62ha. El sitio cuenta con aproximadamente 20 años de regeneración natural, el cual antiguamente fue una finca con potreros y una plantación de manzana rosa (*Syzygium jambos* L.). Dentro de cada una de las áreas se ha encontrado que existen variaciones contrastantes de las características lumínicas, de la cobertura vegetal, la composición de las comunidades arbóreas, así como de los patrones fenológicos y del uso de los recursos internos de las especies vegetales, específicamente en *Palicourea padifolia* y *Psychotria elata* (Salazar-Acuña, 2011; Rodríguez-Corrales, 2011).

Especie de estudio: *Palicourea padifolia* (Humb. & Bonpl. ex Schult.) se distribuye desde el sur de México hasta el oeste de Panamá en ámbitos altitudinales de bosques lluviosos entre 800 y 2 400m. Son arbustos de 4-8m de altura, con hojas que presentan ámbitos de 6-15 de longitud. x 2-5cm de largo y ancho respectivamente, las inflorescencias son piramidales púrpuras rojizas con flores amarillas que se abren solo un día (Taylor, 1989). Estudios por Salazar-Acuña (2011) en la zona demuestran que la especie presenta un período de floración entre noviembre y mayo, con un pico de floración en enero.

Diseño experimental: Entre los días del primero y seis de abril del 2012 en cada área boscosa se escogieron 10 plantas de cada morfotipo floral (total: 40 plantas). Con el fin de caracterizar los rasgos generales en relación con el tamaño de la planta, las inflorescencias, infrutescencias y el entorno en donde se encontraban, a cada planta se le midió el diámetro basal a una altura de 30cm y se le contabilizó el número de inflorescencias e infrutescencias. Finalmente, a cada planta se le caracterizó su ambiente lumínico por medio de fotografías hemisféricas y la cantidad de vecinos de la misma especie independientemente de su morfotipo en un radio de 10m.

A cada planta seleccionada se le quitó al azar independientemente de su morfotipo seis flores dehiscentes y un botón floral provenientes de diferentes inflorescencias con el fin de caracterizar la carga polínica estigmática (tres flores), la morfología floral (3 flores) y la producción de polen (1 botón). Previo a la caracterización, para estudiar la morfología y la producción de polen, las flores recolectadas fueron colocadas en tubos de microcentrifuga con alcohol al 75% para preservar la estructura, con el fin de poder realizar las descripciones en el laboratorio semanas después.

Caracterización de la cobertura y el ambiente lumínico: Se utilizó fotografías hemisféricas para caracterizar el ambiente lumínico y la cobertura vegetal alrededor de cada planta seleccionada. Para esto se obtuvieron fotografías hemisféricas por medio de una cámara digital (Sigma EX SD14) con un lente tipo ojo de pez de 35mm con 180° de ángulo de visión. La toma de la fotografías se realizó sobre cada planta a una altura de 1,30m en la cual la cámara fue colocada horizontalmente sobre un trípode y la parte superior de la foto en dirección al norte magnético. Sobre cada planta se tomaron tres fotografías variando el grado de exposición y apertura del lente. Las fotografías se analizaron posteriormente por medio del programa HemiView 2.1 (Delta-T Dervices, LtdInc, EEUU) con la creación de 160 sectores en el cielo. Para el análisis se consideró los supuestos del programa en relación a la ubicación respecto al polo magnético, la declinación magnética, la ubicación geográfica y la elevación del sitio. Para caracterizar el ambiente lumínico se usaron las siguientes variables: i) el factor de radiación directa (DSF), ii) el factor de radiación difusa (ISF), iii) el factor de radiación global (GSF) y iv) para la cobertura vegetal se utilizó el índice de área foliar (LAI).

Morfología floral: Con el fin de caracterizar la morfología floral de los diferentes morfotipos, a cada flor recolectada se le midió la longitud y el ancho superior e inferior de la corola, la longitud del estilo desde la base del ovario hasta la base del estigma, la longitud

del estigma, la longitud de un estambre escogido al azar desde la base del tubo de la corola a lo alto de la antera y la longitud de su correspondiente antera (Fig. 1). Todo lo anterior se midió con un vernier digital ($\pm 0,005\text{mm}$) con la ayuda de un estereoscopio.

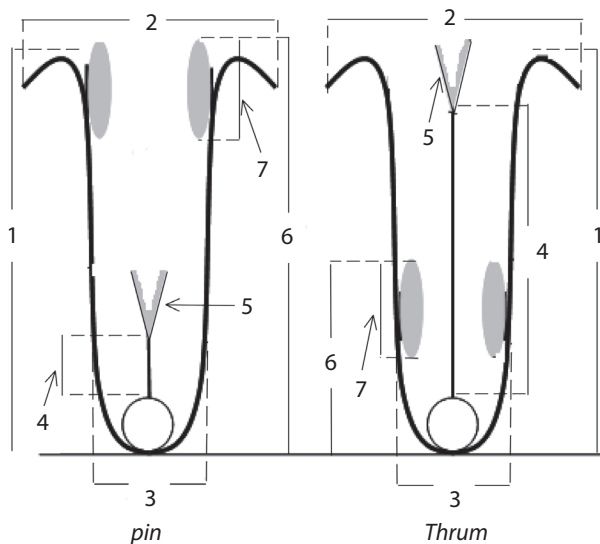


Fig. 1. Atributos florales medidos en los morfos de *Palicourea padifolia*. 1- Largo de la corola, 2- ancho de la corola superior, 3- ancho de la corola inferior, 4- Largo del estilo, 5- Largo del estigma, 6- Largo del estambre, 7- Largo de la antera.

Carga polínica estigmática: Asumiendo que la cantidad de polen sobre el estigma es un reflejo del comportamiento de forrajeo de los polinizadores y de las características florales de cada morfotipo, a las tres flores recolectadas en el campo se les extrajo el estigma desde la base con el fin de cuantificar la carga polínica estigmática. El estigma extraído fue colocado sobre un porta objetos con glicerogelatina para fijar la estructura a la lámina y con la ayuda de un cubre objetos y esmalte para uñas se cubrieron y se sellaron los estigmas a las lámina para evitar la pérdida de material. Listas ya las láminas, en el laboratorio se contabilizó el número total de granos de polen adheridos al estigma (carga polínica estigmática) con la ayuda de un microscopio de luz, no se contempló el factor de procedencia del grano según el morfo dentro del estigma, ya que a simple vista estas diferencias no se pueden evidenciar.

Producción de polen: A los botones florales recolectados para cuantificar la producción de polen se les extrajeron en el laboratorio todos los granos de polen de las anteras por medio de lavados y macerados de las mismas en 1 mL de alcohol al 75% dentro de tubos

microcentrífuga. La muestra obtenida se centrifugó por 10min a 10 000rpm con el fin de extraer posteriormente 0,5mL del supernatante de la solución sin los granos. Los 0,5mL resultantes de la solución con los granos se agito, se les extrajó y colocó posteriormente tres muestras de 0,5 μL en portaobjetos con el fin de cuantificar el número de granos disueltos con la ayuda de un microscopio de luz. Del número de granos cuantificados en los 15 μL se extrapoló el número de granos potenciales que pudiese haber en los 0,5mL de la solución.

Análisis de datos: Los rasgos generales de las plantas de cada morfotipo escogido por cada área boscosa fueron comparados mediante: 1) modelos lineales generalizados provenientes de una distribución de Poisson y una función de enlace logarítmica para determinar si existe dependencia de los valores del número de inflorescencias, infrutescencias y vecinos, así como 2) un análisis de varianza para determinar si existe diferencias del diámetro basal, en ambos análisis se utilizó como variable categórica los morfotipos. Asimismo, dependencias o diferencias de estos rasgos generales sobre los morfotipo, las áreas boscosas y la interacción de ambos fueron evidenciadas mediante modelos lineales generalizados provenientes de una distribución de Poisson con una función de enlace logarítmica, así como un análisis de varianza de múltiples factores (para el diámetro basal).

Para comparar las características lumínicas y la cobertura vegetal sobre las plantas seleccionadas en cada área boscosa, se realizaron análisis de *t-student* de los valores lumínicos y el LAI.

Las estructuras florales según el morfotipo floral por cada área boscosa fueron comparadas mediante análisis de varianza anidados utilizando como factor anidado la planta donde se recogieron las flores y el otro factor categórico la comunidad boscosa. Se realizó un modelo anidado para extraer toda la varianza intrínseca que puede proporcionar la planta donde se recogió cada morfotipo. Así mismo, para evidenciar si existe un efecto del morfotipo, área boscosa y la interacción de ambos sobre las estructuras florales medidas se realizaron análisis de varianza múltiples anidados utilizando como factor anidado la planta donde se recogieron las flores. Para determinar cuál variable de la estructura floral es la que tiene mayor peso en la variación morfológica, se realizó un análisis de componentes principales de las mediciones de las estructuras florales sobre una matriz de covarianza. Para evidenciar si la variación resumida de la estructura floral responde ante el morfotipo floral, la comunidad boscosa y la interacción de ambas, se realizaron de los valores resumidos de los dos primeros componentes un

análisis de varianza de dos vías anidados utilizando como el factor anidado la planta de donde proviene cada valor.

Para determinar si existe dependencia de la carga polínica estigmática y la producción de polen según el morfotipo floral, por cada área boscosa se realizaron modelos lineales generalizados provenientes de una distribución de Poisson y una función de enlace logarítmica. Así mismo, para evidenciar si existe un efecto del morfotipo, el área boscosa y la interacción de ambos se realizaron de igual manera modelos lineales generalizados. En los dos análisis de la carga polínica estigmática se anidaron los valores según la procedencia de las flores en las plantas. Con el objetivo de evidenciar un efecto de vecindario y exposición de la planta sobre la deposición de polen en los estigmas se realizaron regresiones lineales simples del número de vecinos y el LAI sobre la carga polínica estigmática promedio de cada planta. En los análisis donde se requería la normalidad de los datos y estos no lo presentaban, se realizaron transformaciones de Box y Cox para alcanzar la normalidad. Todos los análisis anteriores se realizaron en JMP 7 (SAS Inc. EEUU).

RESULTADOS

Las características generales de las plantas reflejó que ambos morfotipos en ambas áreas boscosas presentaban

similitudes en el diámetro basal de tallo (Fig. 2a). En promedio los diámetros basales de las plantas del bosque fueron mayores que los del tacotal, sin embargo estas diferencias no fueron significativas ($F_{1,39}=1,53; P=0,22$). En relación con el número de inflorescencias se encontró que los morfos del tacotal presentaban diferencias en la cantidad de inflorescencias ($\chi^2_1=10,75; P<0,001$) mas no los morfos del bosque ($\chi^2_1=0,56; P=0,46$). Las plantas del morfo *pin* del tacotal presentaban menos inflorescencias que los *thrum* (Fig. 2b). El modelo realizado reflejó que existe dependencia del número de inflorescencias sobre el tipo de morfotipo ($\chi^2_1=8,14; P<0,001$), sin embargo dicha dependencia no se reflejó según el sitio ($\chi^2_1=0,46; P=0,46$) y su interacción con el morfotipo ($\chi^2_1=3,24; P=0,07$). El número de infrutescencias contabilizadas evidenció que en el bosque el morfo *pin* presenta menor cantidad que el morfo *thrum*, mientras que en el tacotal el morfo *pin* presenta mayor cantidad que el *thrum* (Fig. 2c), en ambos casos las diferencias encontradas fueron significativas (Bosque: $\chi^2_1=27,08; P<0,001$, Tacotal: $\chi^2_1=9,17; P<0,001$). El modelo realizado sobre el número de infrutescencias reflejó que existe dependencia de los valores tanto por el sitio ($\chi^2_1=10,52; P<0,001$), el morfotipo ($\chi^2_1=4,64; P=0,03$) y la interacción ($\chi^2_1=35,38; P<0,001$).

En relación con el número de vecinos se encontró que en promedio los plantas del bosque presentan menor cantidad de vecinos ($2,86\pm 2,33$ vecinos) que los plantas

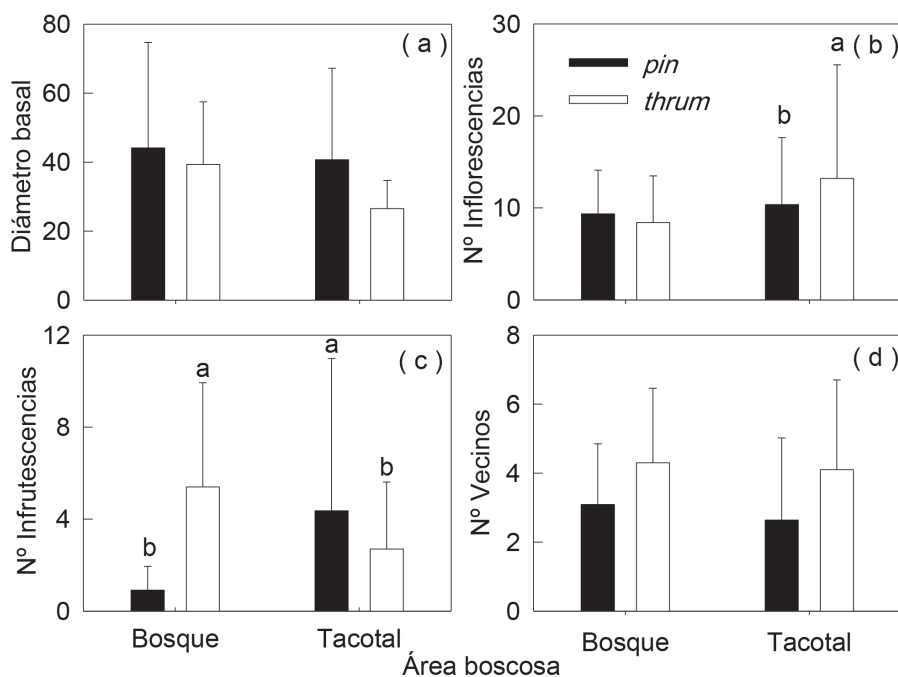


Fig. 2. Características generales de las plantas de *Palicourea padifolia* seleccionados dentro de dos áreas boscosas en Río Macho, Costa Rica. Diámetro basal (a), número de inflorescencias (b), número de infrutescencias (c), número de vecinos (d). Los valores representan el promedio y las barras la desviación estándar.

del tacotal (4,2±2,33 vecinos) (Fig. 2d). En cada sitio no se evidenció diferencias en el número de vecinos entre cada morfo (Bosque: $\chi^2_1=0,39$; $P=0,52$), Tacotal: $\chi^2_1=0,04$; $P=0,82$). El modelo efectuado reveló que solamente existe dependencia del número de vecinos por el sitio ($\chi^2_1=5,41$; $P<0,01$). En relación con los rasgos lumínicos ambientales y la cobertura vegetal se encontró que las plantas del tacotal presentan significativamente menores LAI y mayores ISF, DSF y GSF que las plantas del bosque (Cuadro 1).

CUADRO 1

Comparación de las características lumínicas ambientales y cobertura vegetal de las dos áreas boscosas en Río Macho, Costa Rica. Factor de radiación difusa (ISF), factor de radiación directo (DSF), factor de radiación global (GSF) y el índice de área foliar (LAI).

Área boscosa	Rasgo ambiental			
	ISF (mol m ⁻² yr ⁻¹)	DSF (mol m ⁻² yr ⁻¹)	GSF (mol m ⁻² yr ⁻¹)	LAI (m ² m ⁻²)
Bosque	0,094±0,03	0,120±0,05	0,118±0,05	3,615±1,60
Tacotal	0,154±0,03	0,178±0,05	0,176±0,05	2,387±0,43
t-test _(gl=39)	-6,56***	-3,86***	-4,07***	5,24***

*** $P<0,001$

Las mediciones de las estructuras florales evidenciaron que todos rasgos morfológicos estudiados menos los anchos de las corolas eran diferentes entre los morfos de cada sitio (Cuadro 2). En general, los largos del estambre, del estigma y de las corolas eran mayores en los morfos *thurm* que los *pin* (Cuadro 3). Las comparaciones

realizadas entre los sitios independientemente de los morfotipos revelaron que el largo y el ancho superior de la corola, el largo del estilo y el largo de las anteras son significativamente diferentes. En promedio el largo de la corola y de la antera de las flores del tacotal fueron mayores (14,28±1,51mm, 3,91±0,43mm respectivamente) que las del bosque (14,61±0,88mm, 3,88±0,32mm respectivamente). El modelo estadístico realizado para las variables de la morfología floral reflejó que en todos los rasgos florales menos los anchos de las corolas exhiben diferencias en la interacción del sitio y del morfotipo (Cuadro 3).

El análisis de componentes principales de las mediciones morfológicas florales (Fig. 3) mostró que entre dos componentes se explica aproximadamente 67% de la variación de los datos. Dentro del primer componente las variables que presentaron mayor peso fueron los largos del estilo, estigma y estambre (*eigenvectors*: -0,42, 0,46, 0,49 respectivamente), mientras que en el segundo componente las variables que presentaron mayor peso fueron el ancho superior e inferior de la corola y el largo del estilo (*eigenvectors*: 0,60, 0,49, 0,42 respectivamente). El análisis de varianza para los *eigenvalues* extraídos de ambos componentes según su morfotipo floral, el área boscosa y su interacción reveló que dentro de los valores del primer componente solamente existen diferencias según el morfotipo floral y la interacción con el sitio ($P<0,001$), mientras que el segundo componente todos los factores puestos a prueba presentan diferencias ($P<0,001$).

La deposición de polen sobre los estigmas dentro de los dos sitios no mostraron diferencias entre ambos morfos (Bosque: $\chi^2_1=0,01$; $P=0,91$), Tacotal: $\chi^2_1=2,34$; $P=0,12$) (Fig. 4a). El modelo lineal generalizado para todos los

CUADRO 2

Comparación de los rasgos florales de los morfos de *Palicourea padifolia* dentro de dos áreas boscosas en Río Macho, Costa Rica. Los valores representan el promedio y la desviación estándar (±) en milímetros. El modelo de F representa el análisis de varianza para todos los valores.

Rasgo floral	Sitio						Modelo de F		
	Bosque		F	Tacotal		F	Sitio	Morfotipo	Sitio*Morfotipo
	Pin	Thrum		Pin	Thrum				
Largo de corola	13,44±0,85	14,92±1,01	5,72***	13,99±1,02	15,24±1,16	4,22**	4,78***	8,23***	7,45***
Ancho superior de la corola	7,43±1,06	7,55±0,73	1,59	7,76±0,71	7,99±0,86	1,31	2,10*	2,64**	2,34*
Ancho inferior de la corola	4,88±0,58	4,85±0,37	1,86	5,13±0,53	5,28±0,72	1,49	1,17	1,30	1,52
Largo del estilo	11,48±1,21	4,57±1,17	28,96***	12,37±2,09	6,12±2,33	6,64***	2,52*	28,85***	0,84
Largo del estigma	1,53±0,35	4,97±1,17	24,44***	1,72±0,35	5,20±1,25	15,92***	0,14	40,65***	2,19*
Largo del estambre	10,83±0,66	13,18±0,93	11,12***	10,80±0,88	13,35±1,51	6,49***	1,27	12,18***	2,06*
Largo de la antera	3,53±0,44	3,62±0,28	1,52	3,65±0,25	4,11±0,36	6,72***	3,31**	2,25*	3,46**

* $P<0,05$, ** $P<0,01$, *** $P<0,001$.

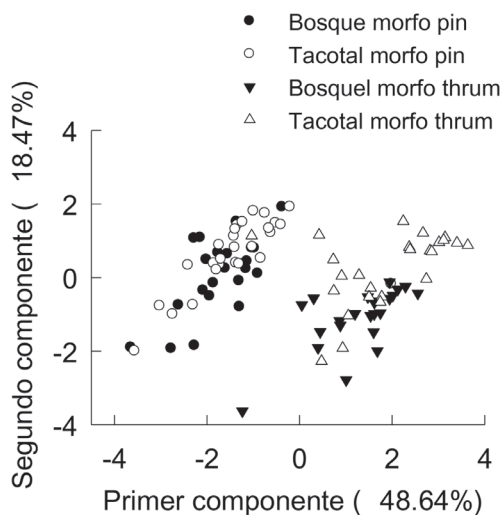


Fig. 3. Análisis de componentes principales para los rasgos florales de los morfos de *Palicourea padifolia* recolectados dentro de dos áreas boscosas en Río Macho, Costa Rica. Cada punto representa los *eigenvalues*. El porcentaje representa la variación explicada por cada componente.

valores de carga polínica evidenció que no existe dependencia de las mismas por los morfotipo ($\chi^2_1=0,67$; $P=0,41$) y la interacción de cada morfo con el sitio ($\chi^2_1=0,98$; $P=0,32$), pero si un efecto del sitio como tal ($\chi^2_1=436,09$; $P<0,001$). En general, el efecto del sitio sobre la carga polínica independientemente del morfotipo se pudo evidenciar debido a que el bosque en promedio se presenta menor carga ($24,29\pm 19,57$ granos) que en el tacotal ($46,62\pm 35,18$ granos) (Fig. 4a). Por otra parte, las regresiones realizadas evidenciaron que existe un efecto causal del número de vecinos y el grado de exposición de las plantas sobre la carga polínica estigmática (Fig. 5)

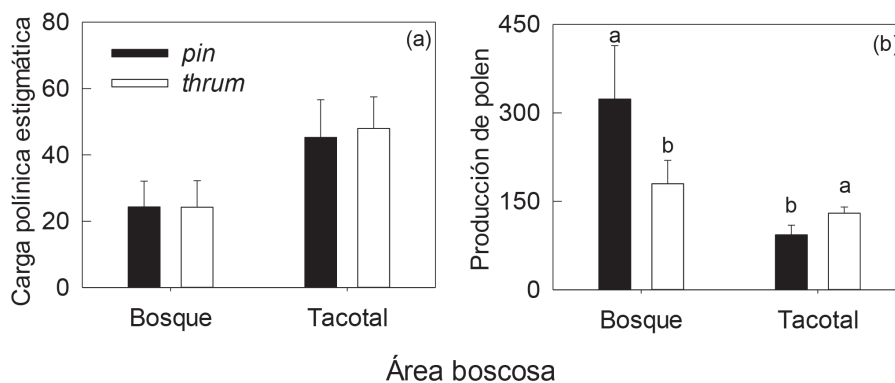


Fig. 4. Carga polínica estigmática (a) y producción de polen (b) de los morfos florales de *Palicourea padifolia* dentro de dos áreas boscosas en Río Macho, Costa Rica.

El número de granos producidos en las anteras según el sitio de colecta evidenció que existe un efecto del morfotipo sobre la producción de polen (Bosque: $\chi^2_1=413,87$; $P<0,001$), Tacotal: $\chi^2_1=60,47$; $P<0,001$). En general dentro del bosque el morfo *pin* presentaba mayor producción de polen que el morfo *thrum*, mientras en el tacotal el morfo *thrum* presentaba mayor producción que el *pin* (Fig. 4b). Independientemente del morfotipo la producción de polen promedio contabilizada en el bosque fue mayor ($251,66\pm 227,48$ granos) que en el tacotal ($111,66\pm 46,23$ granos). El modelo para todos los valores de las producción de polen reflejó que existe dependencia tanto del morfotipo ($\chi^2_1=23,79$; $p<0,001$), el sitio ($\chi^2_1=973,97$; $p<0,001$) y la interacción de ambos ($\chi^2_1=317,20$; $p<0,001$) sobre el número de granos de polen contabilizados.

DISCUSIÓN

Las mediciones de los rasgos de la estructura floral demuestran que existen diferencias contrastantes de la mayoría de estos según los morfos y los sitios de recolecta. En general, las diferencias en las estructuras florales entre los morfos de la especie han sido documentadas también por estos estudios. En relación con el tamaño floral, Hernández (2006) sugiere que las diferencias en el largo de la corola, el estigma y en las anteras corresponden principalmente a rasgos accesorios del dimorfismo floral. Lo anterior se basa en que dichas estructuras no están relacionadas directamente con la longitud del estilo, pero pueden contribuir o bien potencializar la expresión heterostilica de la especie, los cuales a su vez pueden promover diferencias en las visitas, donación y la recepción de polen y con esto ser indirectamente un indicador de la expresión reproductiva de cada morfotipo.

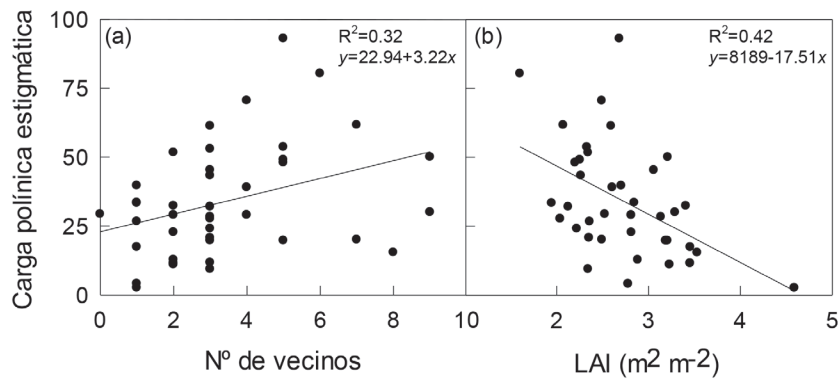


Fig. 5. Efecto del número de vecinos (a) y el índice de área foliar (LAI) (b) sobre la carga polínica estigmática de *Palicourea padifolia* en Río Macho, Costa Rica.

Así mismo, las diferencias en las características ecológicas de cada sitio documentadas por Salazar-Acuña (2011) y las diferencias encontradas en la morfología floral dentro de las regiones estudiadas apuntan a que puede existir un efecto de las condiciones ecológicas en cada sitio sobre la morfología floral de la especie, por ende, es probable que las características propias de cada región como la temperatura, la humedad, la herbívora y el espectro lumínico incidente sobre cada flor afecten el tamaño y la asignación de recursos de los órganos florales. A pesar de que las variables anteriores no se contemplaron dentro de este trabajo, diversos estudios han documentado el efecto de las mismas sobre las características de florales en diversas especies (Murcia, 1990; Brock & Weinig, 2006).

En relación con la mayor variación explicada por el largo del estilo, del estigma y del estambre descritas por el primer componente principal del PCA, sugiere dichas estructuras reflejan ser los ejes principales de la estratificación de los morfotipos florales. En ese sentido, diversos autores han descrito que la variación de las longitudes de las estructuras señaladas son los ejes centrales de la estratificación floral de la heterostilia, los cuales surgen para fomentar la hercogamia floral y con esto la expresión reproductiva (Dulberger, 1992). Por otra parte, dentro del morfo *thrum* las menores y mayores longitudes del estilo y del estigma respectivamente sugieren que el morfo aumenta el área estigmática receptiva para promover un mayor flujo de polen legítimo hacia sus estigmas menos accesibles (Hernández, 2006).

Aunque no se pudo demostrar un efecto del morfotipo sobre la deposición de polen en el estigma, es claro que la evidencia recolectada apunta a que existe un efecto de las áreas boscosas sobre la deposición. Dentro de otros estudios para la especie se han documentado

diferencias en la carga polínica entre morfos, sin embargo otras investigaciones muestran cierta discrepancia. Si bien es cierto que la heterostilia se ha considerado como un mecanismo para maximizar la deposición de granos de polen en el morfo *pin* (Barrett, 2002), los resultados anteriores y los documentados en la literatura sugieren puede existir una dependencia del tipo de la comunidad de polinizadores de cada sitio para que se den dichas diferencias.

El efecto encontrado de las áreas boscosas sobre el número de granos de polen contabilizados puede estar influenciado por el grado de exposición de las plantas y el número de vecinos de las mismas. En general, para especies heterostílicas la probabilidad de que exista mayor deposición de polen en los estigmas aumenta cuando se tiene mayor cantidad de vecinos cerca (Ishihama, Ueno, Tsumura & Washitani, 2006), en ese sentido es de esperar que los plantas del tacotal al presentar mayor cantidad de vecinos presentaran una carga polínica mayor. El efecto anterior puede también estar influenciado por la cobertura boscosa, debido a que las flores al estar más expuestas pueden ser detectadas con mayor facilidad por los polinizadores, esto se basa en que los polinizadores de la especie son colibríes, los cuales se les consideran que requieren de estímulos visuales claros para que se dé una atracción floral.

En relación con la producción de polen, las diferencias encontradas entre los morfotipos del bosque estarían de acuerdo con lo que se estipula en la literatura, sin embargo las diferencias encontradas dentro de los morfos del tacotal no. Para la especie se ha estipulado que el morfo *pin* produce mayor cantidad de polen que el morfo *thrum*, sin embargo el tamaño de este último es mayor (Hernández, 2006). En general, con los resultados encontrados es difícil de esclarecer puntualmente si existe un

efecto de las áreas boscosas, sin embargo si estas afectan el uso de los recursos internos dentro de la especie (Salazar-Acuña, 2011) es probable que también afecten la producción de polen.

En conclusión existe diferencias de la morfología floral, la carga polínica estigmática y diferencias aunque no significativas en producción de polen dentro de las dos comunidades boscosas, las cuales están explicadas por: 1) las características de la heterostilia floral *per se*, 2) las condiciones ecológicas de cada sitio y 3) las comunidades de polinizadores que albergan ambas áreas boscosas. Dado lo anterior, se incentiva a futuras investigaciones que se encuentren ligadas con hipótesis de la heterostilia floral a tomar en cuenta las particulares ecológicas de cada región en donde se está trabajando, debido a que estas pueden influir potencialmente sobre los resultados.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Elizabeth Martínez Victoria y Julio Guzmán Quesada por la asistencia en el campo. Al personal de los laboratorios de Botánica y Genética de la Universidad de Costa Rica por brindarnos espacio y equipo para realizar la toma de datos, así como al Laboratorio de Ecología Funcional y Ecosistemas Tropicales por brindarnos equipo de campo. Finalmente agradecemos a Alfredo Cascante por la guía y las recomendaciones al manuscrito.

REFERENCIAS

- Barrett, S. C. H. (1990). The evolution and adaptative significance of heterostyly. *Trends of Ecology and Evolution*, 5(5), 144-148. doi: 10.1016/0169-5347(90)90220-8
- Barrett, S. C. H. (2002). The evolution of plant sexual diversity. *Nature Review Genetic*, 3(4), 274-284.
- Brock, M. T., & Weinig, C. (2006). Plasticity and environment-specific covariances: an investigation of floral-vegetative and within flower correlations. *Evolution*, 61(12), 2913-2924.
- Dulberger, R. (1992). Floral polymorphisms and their functional significance in the heterostylous syndrome (pp. 41-77). En Barrett, S.C.H. (Ed), *Evolution and Function of Heterostyly*. Springer: New York, EEUU.
- Hernández, A. (2006). *Asimetrías entre morfos florales en Palicourea padifolia (Rubiaceae)*. (Tesis inédita doctoral). Instituto de Ecología. A.C. Xalapa, Veracruz, México.
- Holdridge, L. R. (1967). *Life zone ecology*. Tropical Science Center: San José, Costa Rica.
- Ishihama, F., Ueno, S., Tsumura, Y., & Washitani, I. (2006). Effects of density and floral morph on pollen flow and seed reproduction of an endangered heterostylous herb, *Primula sieboldii*. *Journal of Ecology*, 94(4), 846-855. doi: 10.1111/j.1365-2745.2006.01122.x
- Murcia, C. (1990). Effect of floral morphology and temperature on pollen receipt and removal in *Ipomoea trichocarpa*. *Ecology*, 71(3), 1098-1109.
- Rodríguez-Corrales, A. (2011). *Análisis de la dinámica del dosel y su relación con la disponibilidad lumínica en el sotobosque a través de fotografías hemisféricas*. (Tesis inédita de bachillerato). Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica.
- Salazar-Acuña, E. (2011). *Respuesta ecofisiológica, fenológica y alométrica de dos arbustos de sotobosque en dos coberturas con diferentes estado de regeneración en Río Macho, Costa Rica*. (Tesis inédita de licenciatura). Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica.
- Taylor, C. M. (1989). Revision of *Palicourea* (Rubiaceae) in Mexico and Central America. *Systematic Botany Monographs*, 26, 1-102.