

Universidad de Costa Rica
Facultad de Ciencias
Escuela de Biología

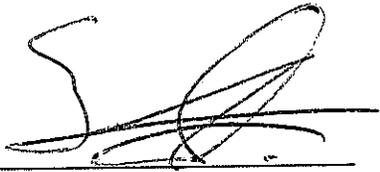
Caracterización de la biología reproductiva de *Hylocereus costaricensis* (F.A.C. Weber) Britton & Rose (Cactaceae) y las implicaciones en su producción comercial

Tesis para optar por el grado de Licenciatura en Biología con énfasis en Botánica

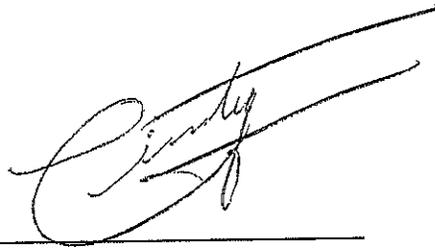
Jordán Villegas-Murillo
B27293

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio
2022

MIEMBROS DEL TRIBUNAL



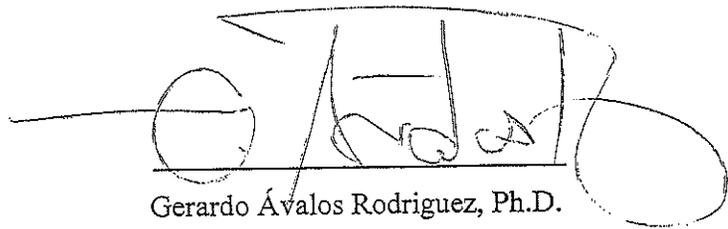
Mauricio Fernández Otárola, Ph.D.
Director de tesis



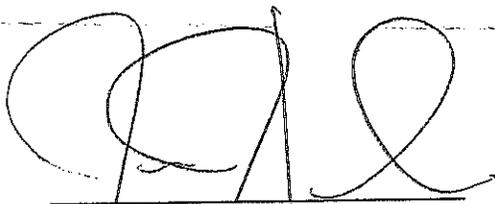
Cindy Fernández García, Ph.D.
Presidenta del Tribunal Examinador



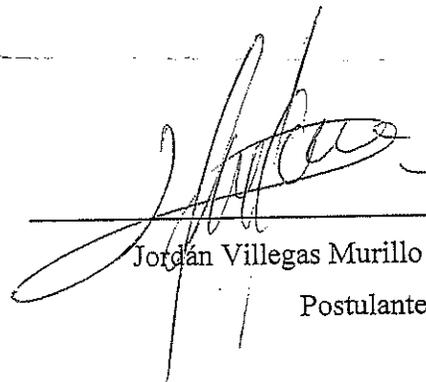
Paul Hanson, Ph.D.
Lector de tesis



Gerardo Ávalos Rodríguez, Ph.D.
Miembro del Tribunal Examinador



Jorge Lobo Segura, Ph.D.
Lector de tesis



Jordán Villegas Murillo
Postulante

“In the end the road is long, but only because it makes you strong.”

— Marina Diamandis

AGRADECIMIENTOS

A las primeras personas a las que quiero agradecerle por su apoyo incondicional durante toda mi formación académica es a mi familia. A mi mamá Sonia, y Sergio que me dieron apoyo económico y logístico, además de toda su paciencia desde el día 1 de este proyecto. Además, a mi abuela ‘Tita Mari’ quien fue esencial en esta tesis, no solo por usar sus habilidades de costura para confeccionar las bolsas de exclusión de los experimentos de polinización, sino que también me puso en contacto con los productores de pitahaya en Liberia. A Tita Mari también quiero agradecerle por ayudarme a entender muchas dimensiones de este proyecto, al contarme muchas cosas sobre la historia natural de las pitahayas mientras tomábamos mucho café viendo la novela. Además, extendo el agradecimiento a mis familiares en Guanacaste: don Beto García y Lerna, quienes me recibieron en su casa con mucha hospitalidad durante el tiempo de muestreo y mi tío Oscar quien fue un apoyo enorme durante mis días en Liberia. Finalmente, agradezco a mi hermano Sebastián por ayudarme a tomar fotos de los frutos y a gestionar los videos y otros datos.

A mi tutor Mau Fernández, por toda su ayuda y principalmente su paciencia conmigo durante cada paso de este proyecto: desde ayudarme a elaborar el diseño experimental, hasta revisar el escrito minuciosamente, por llevarme hasta Liberia y Atenas en varias ocasiones (y no matarme por llevar cuatro horas de un popurrí non-stop de Shakira y Ariana Grande en el camino de ida... y de regreso), por el apoyo logístico, económico, por el préstamo del equipo y por coleccionar e identificar los insectos que yo claramente no era capaz de atrapar. También quiero agradecerle a Mauricio por ser el mejor tutor, y por darme el honor y dicha de ser su estudiante. Por ser el primero que me dio una oportunidad desde que me escuchó buscando un proyecto para mi tesis por allá del 2018. Por confiar en mí, incluso cuando yo no lo hacía y empujarme siempre hacia ser la mejor versión de mí durante la realización de este trabajo. Por inspirarme su pasión por esta disciplina y recordarme en varias (muchas) ocasiones el por qué siempre quise ser científico.

A Paul Hanson por aceptar ser mi lector y mostrar interés en el proyecto. Quiero agradecerle por sus valiosos aportes durante la concepción del diseño experimental, y por identificar muchos de los insectos que evidentemente yo no era capaz de identificar. Además

quiero agradecerle por ser un gran ejemplo para mí durante mi formación en la UCR. A mi otro lector, Jorge Lobo quiero agradecerle de igual forma por aceptar estar en mi comité revisor y mostrar interés en el proyecto. Quiero agradecerle por sus fascinantes ideas durante el planteamiento del proyecto y por transmitirme su gusto por estudiar un fenómeno tan interesante como la polinización. Además, quiero agradecerle por prestarme su equipo de grabación, que fue crucial en este proyecto.

A la familia Rivas, que me abrieron las puertas de su plantación durante las primeras etapas del proyecto y sus comentarios fueron muy importantes en el moldeo del diseño experimental. A don Melvin Alpizar que me permitió acceder a su plantación para realizar el proyecto y siempre fue muy colaborador. A Marbelle Porras quien me permitió usar su casa como ‘base de operaciones’ en Atenas y siempre fue amable. Además, extendiendo un enorme agradecimiento a don Marvin Araya y su esposa Haydee, quienes creyeron en este proyecto desde el inicio, colaboraron enormemente con su conocimiento sobre la pitahaya y siempre fueron muy cooperadores conmigo.

También quiero agradecerle a Mario Blanco por aclararme algunos aspectos sobre la morfología conspicua de las flores de pitahaya en etapas tempranas del proyecto. Además agradezco a Jose Pablo Barrantes y Eduardo Chacón por ayudarme con sus ideas para el análisis de resultados. Además, quiero extender un agradecimiento gigante a Geovanna Rojas y cualquier otra persona involucrada en el montaje, procesamiento e identificación de los insectos colectados en este proyecto. No hubiera podido lograr nada sin ustedes.

Agradezco a mis asistentes de campo y de vida (en orden de aparición en la tesis, o como me gusta decirle: *el reality*): a Beatriz Antillón por ser la primera en acompañarme a tomar datos a Atenas, en lo que probablemente haya sido el día más lluvioso del 2019. Gracias por aceptar de improviso y capturar los insectos que ya dejé claro que yo no era capaz de atrapar. Seguidamente quiero agradecer a dos de mis más incondicionales amigos, por los que siempre voy a estar agradecido: Súa y Bronia. Quiero agradecerles por ser mi cable a tierra durante los últimos años. Por estar para mí y discutir cada movimiento, cada problema y cada posible resultado de esta tesis (y la vida en general). Gracias por no dejarme solo en ningún momento. Gracias por acompañarme a muestrear a Atenas en probablemente una de las noches

más *rock bottom ever*. Súa, gracias por coleccionar todos los insectos y ayudarme a polinizar todas esas flores; Bronia, gracias por ayudarme también a polinizar y tomarme fotos para sentirme *#iconic*. Gracias por aceptar ir conmigo a tomar datos en plena pandemia y por ser mis amigos en los altos, bajos y los terriblemente bajos también. También quiero agradecerle a Memén (y nuevamente a Bronia que fue la más victimizada por mi tesis ya que hizo reaparición en otra gira) por ser un excelente asistente de campo, coleccionando los insectos (ya saben...), cocinando *Mac and Cheese* sin sal y escuchando folklore de Taylor Swift a todo volumen mientras llorábamos en medio de Atenas. Gracias por ayudarme tanto en la tesis, en la carrera y la vida. Ah, y gracias a los dos por seguir siendo mis amigos después de hacerlos subir la cuesta para llegar a la cabaña.

Gracias a todos mis amigos que me acompañaron desde el inicio en el que no sabía ni pronunciar *Hylocereus*, hasta el final de este capítulo. A Grettel, a Sol, a Sara, a Valeria, y a Jeudy, que siempre me animaron y confiaron en mi capacidad. A Meli Mardones y Andrea Vincent que me mantuvieron mi confianza a flote, y me ayudaron mucho de una u otra forma. Quiero agradecerle a mis amigos autodenominados *Ferli Dream Team*, ya que cada uno aportó desde su área en la realización de esta tesis. Gracias por ayudarme a ser el biólogo que soy hoy. También quiero agradecer a mis amigos de *Prins* que fueron un gran soporte emocional durante este proyecto (especialmente en este nuevo mundo que comenzó con el virus). Gracias a todas las personas que me dieron ánimo cuando me vieron atravesar incontables *breakdowns* o que simplemente me acompañaron en la montaña rusa de emociones (en el mejor sentido) en todas las redes sociales a las 2:00 a.m.

Agradezco a la Universidad de Costa Rica (UCR) y a la Escuela de Biología por facilitar el equipo necesario para la realización de este proyecto, y por formarme como profesional.

Finalmente, quiero agradecer a Florence Welch y Marina Diamandis, quienes fueron las gurús no oficiales de este proyecto. Gracias por sus inspiradores puntos de vista sobre la vida y animarme a ser fiel a mí mismo y hacer lo que amo.

ÍNDICE GENERAL

| | |
|--|----|
| RESUMEN..... | 11 |
| INTRODUCCIÓN..... | 12 |
| MATERIALES Y MÉTODOS..... | 16 |
| <i>Sitio de estudio</i> | 16 |
| <i>Especie de estudio</i> | 20 |
| <i>Biología floral</i> | 22 |
| <i>Polinización y fructificación</i> | 23 |
| <i>Visitantes florales</i> | 25 |
| RESULTADOS..... | 28 |
| <i>Biología floral</i> | 28 |
| <i>Polinización y fructificación</i> | 31 |
| <i>Visitantes florales</i> | 35 |
| DISCUSIÓN..... | 43 |
| <i>Biología floral</i> | 43 |
| <i>Polinización y fructificación</i> | 45 |
| <i>Visitantes florales</i> | 48 |
| <i>Conclusiones</i> | 52 |
| REFERENCIAS..... | 53 |
| ANEXOS..... | 59 |

ÍNDICE DE CUADROS

| | |
|--|----|
| I. Contexto espacio-temporal de los muestreos realizados durante el proyecto..... | 19 |
| II. Clasificación y precio promedio de los frutos de <i>H. costaricensis</i> según la ficha técnica de la pitahaya de la Municipalidad de Abangares, del Gobierno de Costa Rica..... | 21 |
| III. Información espacio-temporal de los experimentos realizados para el proyecto..... | 27 |
| IV. Total y porcentaje de producción de frutos de las flores sometidas a los diferentes tratamientos de polinización..... | 32 |
| V. Información general del análisis de videos para cada sitio de muestreo..... | 36 |
| VI. Individuos colectados identificados como visitantes florales de <i>H. costaricensis</i> | 37 |
| VII. Cantidad de visitas registradas a las flores según el grupo de insectos en cada sitio..... | 39 |

ÍNDICE DE ANEXOS

| | |
|--|----|
| ANEXO 1. Hora de inicio de las diferentes etapas del proceso de antesis floral en los diferentes sitios..... | 59 |
| ANEXO 2. Duración de cada etapa de la antesis para los diferentes sitios de muestreo..... | 60 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Fig.1. Plantación comercial de pitahaya en Curubandé, Liberia, Guanacaste..... | 17 |
| Fig.2. Plantación comercial de pitahaya en El Salto, Liberia, Guanacaste..... | 18 |
| Fig.3. Plantación comercial de pitahaya en Plancillo, Atenas, Alajuela..... | 19 |
| Fig.4. Corte longitudinal de una flor de <i>Hylocereus costaricensis</i> con sus diferentes partes..... | 21 |
| Fig.5. Fruto de <i>H. costaricensis</i> cortado longitudinalmente por la mitad..... | 25 |
| Fig.6. Porcentaje de flores en cada etapa de la antesis según el momento de la noche durante los eventos de floración masiva..... | 29 |
| Fig.7. Receptividad estigmática expresada en el porcentaje de flores receptivas al polen según el momento de la noche durante los eventos de floración masiva..... | 30 |
| Fig.8. Peso promedio de los frutos producidos según el tratamiento de polinización a la que se sometieron las flores..... | 33 |
| Fig.9. Promedio del largo y ancho de los frutos producidos según el tratamiento de polinización a la que se sometieron las flores..... | 34 |
| Fig.10. Relación morfométrica entre el largo (cm) y el ancho (cm) de los frutos de pitahaya según el tratamiento de polinización aplicado..... | 34 |
| Fig.11. Promedio de la densidad de semillas por centímetro cúbico de los frutos según el tratamiento de polinización a la que se sometieron las flores..... | 35 |
| Fig.12. Duración de las visitas florales según el grupo taxonómico del visitante..... | 40 |
| Fig.13. Cantidad de abejas promedio registradas durante los eventos de visitación masiva de acuerdo con el sitio de muestreo..... | 41 |
| Fig.14. Duración de las visitas de abejas registradas durante los eventos de visitación masiva con respecto al sitio de muestreo..... | 42 |

RESUMEN

Los cactus hemiepífitos de *Hylocereus costaricensis* son plantas de interés comercial ya que producen frutos que se comercian como pitahayas. Recientemente, esta fruta ha alcanzado gran popularidad y su comercialización ha ido incrementando en Costa Rica y Latinoamérica en los últimos años. En el 2018, Costa Rica produjo un poco más de una tonelada de fruta para consumo local y exportación, lo que representa alrededor de 3 millones de dólares, posicionando la pitahaya como un cultivo rentable para el sector agrícola. A pesar esta creciente popularidad, la información sobre los requerimientos para la producción comercial de este cultivo es muy básica y no existe información específica sobre sus aspectos reproductivos. Este proyecto presenta una caracterización completa de la biología reproductiva de *H. costaricensis*, enfatizando en aspectos sobre su fenología floral. Además provee una evaluación del efecto de diferentes tipos de polinización sobre la producción de frutos y sus características morfológicas. Por ultimo, presenta un reporte sobre visitantes florales, describe las interacciones de polinización y su importancia relativa para la producción de los cultivos. El estudio se realizó en tres plantaciones comerciales de *H. costaricensis* en Guanacaste y Alajuela, Costa Rica entre el 2019 y el 2020. Se registró el periodo de antesis, receptividad estigmática y dehiscencia de anteras de las flores. Además se evaluó su producción de néctar y la capacidad cleistogámica. Se realizaron experimentos de polinización para comprobar la autocompatibilidad de la especie, comparar el rendimiento de la fructificación entre autopolinización vs. polinización cruzada, y entre polinización nocturna vs. matutina. Se colocaron cámaras para grabar visitantes florales y determinar su papel en la polinización. La fenología floral de *H. costaricensis* presentó características positivas para la producción de pitahaya, ya que los eventos de floración y antesis así como receptividad estigmática y dehiscencia de anteras poseen una sincronía que maximiza las oportunidades de polinización. No se encontró evidencia de producción de néctar o cleistogamia. Se reporta por primera vez la autocompatibilidad para la especie y, se determinó que la polinización cruzada y expuesta a polinización nocturna y matutina producen frutos de mayor calidad comercial. Se descarta la participación de murciélagos en el proceso de polinización, mientras que mariposas nocturnas de la familia Sphingidae, y enjambres matutinos de abejas (principalmente *Apis mellifera*) figuran como los principales polinizadores de esta especie de pitahaya y su presencia debe ser promovida en cultivos.

INTRODUCCIÓN

Las pitahayas, cactus del género *Hylocereus* (A. Berger) Britton & Rose, son plantas de cultivo comercial (de las cuales se aprovechan los frutos para consumo) que se distribuyeron inicialmente a lo largo de Mesoamérica y las islas del Caribe (Britton & Rose 1963). *Hylocereus costaricensis* (Web.) Britton & Rose es una de las especies más comunes en Costa Rica y se han identificado tanto poblaciones silvestres como cultivadas. A pesar que producen frutos que han alcanzado una gran popularidad en los últimos años y se ha extendido alrededor del mundo (Calix de Dios et al., 2014), se conoce poco sobre la biología y requerimientos para su producción comercial (Muniz et al., 2019). Cabe destacar que la especie más popular a nivel mundial es *H. undatus*, por lo que el vacío de información sobre *H. costaricensis* es más pronunciado.

Como se mencionó, en los últimos diez años la popularidad de este cultivo ha crecido alrededor del mundo. Según SIECA, en Centroamérica destacan Nicaragua y Guatemala como grandes productores para exportación desde el 2012 (Municipalidad de Abangares, Gobierno de Costa Rica, 2019). También destaca que recientemente Colombia y Ecuador han incursionado en el mercado de pitahaya, posicionándose como exportadores desde el año 2016 (Municipalidad de Abangares, Gobierno de Costa Rica, 2019). En el caso de Costa Rica, han surgido esfuerzos institucionales para la creación de programas de apoyo por parte de diversas instituciones gubernamentales y del sector privado. Por ejemplo, Coopepitahaya destaca la Comisión de la Pitahaya, conformada por varias instituciones como la Universidad de Costa Rica, el Ministerio de Agricultura y Ganadería, y la Promotora del Comercio Exterior de Costa Rica, busca fortalecer la agro cadena del fruto para su comercialización nacional e internacional, además de brindar apoyo y asistencia técnica al sector productivo (Municipalidad de Abangares, Gobierno de Costa Rica, 2019).

Para el año 2018, se tenían identificados 71 productores de pitahaya en Costa Rica, principalmente de las regiones Caribe, Central, Chorotega, y Pacífico Central (Municipalidad de Abangares, Gobierno de Costa Rica, 2019). Para este año, el Ministerio de Agricultura y Ganadería, en conjunto con Coopepitahay reportaron que había poco más de 50 hectáreas de cultivo dedicadas a la producción de pitahayas en el territorio nacional, principalmente en la

zona de Guanacaste (Municipalidad de Abangares, Gobierno de Costa Rica, 2019). Además, destacan que una hectárea de cultivo, con plantas en edad productiva (aprox. 5 años) se pueden producir entre 20000 y 25000 kg de fruta al año, lo que representa al menos 60000 USD por hectárea (Municipalidad de Abangares, Gobierno de Costa Rica, 2019).

La comprensión de la biología reproductiva de *H. costaricensis* es fundamental para maximizar la producción con fines comerciales, además que puede contribuir al conocimiento de la ecología de las poblaciones silvestres de este cactus. Históricamente, la mayoría de los estudios de biología reproductiva del género *Hylocereus* han sido ejecutados en condiciones controladas de invernadero (Weiss et al., 1994; Nerd & Mizrahi, 1997; Mizrahi et al., 1997). No obstante, recientemente, se han publicado estudios realizados en plantaciones de diferentes partes del mundo (Calix de Dios et al., 2014; Osuna-Enciso et al., 2016; Muniz et al., 2020). A pesar de lo anterior, es necesario confirmar si la información producida aplica para los ecosistemas y biotopos específicos de Costa Rica donde se producen estos frutos, así como aumentar la información disponible sobre la biología de *H. costaricensis*, que como se menciona anteriormente, carece de estudios específicos.

Los estudios mencionados anteriormente indican que las flores de pitahaya, exhiben características relacionadas con síndromes de polinización nocturna: flores grandes, blancas, fuertemente aromáticas, y con antesis durante la noche (Rech et al., 2014). Estas características se asocian a polinizadores relativamente grandes como polillas nocturnas o murciélagos (Fleming et al., 2009; Rocha et al., 2019). Sin embargo, la contribución de otro grupo de polinizadores tanto nocturnos como diurnos ha sido poco explorada para las pitahayas. Es importante resaltar que diferentes grupos de polinizadores han sido reportados ampliamente en otros géneros de Cactaceae con flores que presentan características similares (Mandujano et al. 2010; Schlumpberger, 2010; Rosas-Guerrero et al. 2014).

Hablando de el proceso de polinización en sí, es importante entender que es un proceso que ocurre en diferentes etapas. Hanson y colaboradores (2021) indican que primero se tiene que dar una movilización del polen desde estructuras masculinas y ser depositado en los pistilos de la flor. Posteriormente, mencionan que empieza una etapa diferente dónde el polen germina a través del estigma y el estilo hasta alcanzar los óvulos, los fecunda y con

ello se producen semillas. La intervención de los polinizadores animales se da principalmente en la primera etapa del proceso, y su efectividad depende de las características de ambos (planta y animal). Es decir, un polinizador eficiente es aquel que durante su visita a las flores, exhibe un comportamiento donde contacta las estructuras masculinas, carga y transporta el polen, y lo deposita en los pistilos, dando paso a la siguiente etapa de la polinización.

Los sistemas de apareamiento descritos para *Hylocereus* (ampliamente para *H. undatus*) y otros géneros relacionados presentan una gran variedad de sistemas de compatibilidad (Valiente-Banuet et al., 2007). Por ejemplo, Weiss y colaboradores (1994) indican que *H. undatus* no es capaz de producir frutos por autopolinización (posiblemente por hercogamia que es la imposibilidad de autopolinización debido a barreras morfológicas o de posición de estructuras). No obstante, esta especie es capaz de fructificar por medio de autopolinización manual. Estos autores también indican que representantes de otros géneros relacionados como *Selenicereus megalanthus* (K. Schum. ex Vaupel) Moran (conocida como pitahaya amarilla) es autocompatible y tiene capacidad de autopolinizarse.

Por su parte, y de manera similar a *Hylocereus polyrhizus*, *H. costaricensis* se ha reportado como auto-incompatible en individuos cultivados, requiriendo estrictamente polinización cruzada para producir frutos (Weiss et al., 1994). Aparentemente, esta condición se suma con la morfología de la flor, donde la hercogamia de aproximación dificulta la autopolinización. Sin embargo, no hay información reciente disponible sobre experimentos que corroboren esta condición de autocompatibilidad o autopolinización para *H. costaricensis* en cultivos. Desafortunadamente, los estudios de biología reproductiva no brindan mayor información y muchos detalles son aún desconocidos.

Hay pocos reportes sobre el rendimiento de las distintas vías de polinización de las flores de *Hylocereus* en la formación de frutos de calidad comercial, y esa información podría constituir un aporte valioso al sector agro productivo que se dedica a la producción de esta fruta. Se ha observado que los cultivos de interés comercial pueden optimizarse en gran medida cuando se apoyan en la polinización asistida por animales, resultando en una mayor producción de frutos y/o generando frutos de mayor valor comercial (Klein et al., 2006). Estos beneficios que ofrece la polinización se traducen en el aumento de la variabilidad

genética de los cultivos, dado el entrecruzamiento de individuos (Klein et al., 2006). También, se ha observado que algunos frutos comestibles obtenidos de flores polinizadas por animales pueden tener un mayor valor nutricional para los humanos (Sundriyal & Sundriyal, 2004). Además, se ha establecido que los polinizadores aumentan en algunos casos la cantidad y calidad de la cosecha ya que tienden a aumentar la tasa de polinización cruzada, resultando generalmente en frutos más grandes (Klein et al., 2003; Ricketts et al., 2004). Este fenómeno se ha observado en otras especies de pitahaya como *H. undatus* y *H. polyrhizus* (Muniz et al., 2020). Una vez más, este efecto no ha sido estudiado en *H. costaricensis* todavía.

Este proyecto tuvo como objetivo caracterizar los aspectos de la biología reproductiva de *H. costaricensis* en plantaciones de cultivo comercial de Costa Rica, enfocándose en los cambios que experimentan las flores durante la antesis en cuanto a la apertura de la corola, la dehiscencia de las anteras, la receptividad estigmática y la producción de néctar. Lo anterior con el fin de actualizar la información disponible sobre la floración de esta especie. Además, a través de experimentos de campo, este estudio buscó responder preguntas sobre el sistema reproductivo y la polinización de esta especie: 1) ¿Es una especie autocompatible? 2) ¿Existe un efecto de la procedencia del polen y el horario de polinización en las características morfométricas de los frutos? Dada la información disponible, se hipotetizó que *H. costaricensis* es una especie auto incompatible (Weiss et al., 1994). También se espera que por las características morfológicas exhibidas por las flores de esta especie, la polinización cruzada en horario nocturno produzca mayor cantidad de frutos, así como de mejor calidad comercial. Finalmente este estudio buscó identificar los visitantes florales de tres plantaciones de cultivo comercial de pitahaya y describir sus interacciones con las flores, con el fin de determinar su papel como polinizadores potenciales que ayuden a mejorar la producción de frutos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de estudio – El estudio fue llevado a cabo en tres plantaciones comerciales de pitahaya de Costa Rica. Dos de estas están ubicadas en los alrededores de Liberia, Guanacaste: la primera se encuentra en Curubandé, cerca del Parque Nacional Rincón de la Vieja (10°43'46,14"N 85°25'31,002"O, datum: WGS84, Fig. 1), y tiene una extensión de 0.5 ha donde se tomaron datos en junio de 2019. La segunda plantación está ubicada en el sector de El Salto (10°35'01,518"N 85°22'53,46"O, datum: WGS84, Fig. 2), y tiene una extensión de 0.75 ha donde se colectaron datos durante agosto del 2020. Ambas plantaciones consisten en postes de madera o cemento distribuidos uniformemente a una distancia de 2.8 m entre cada uno, donde se establecen las plantas a aproximadamente 1.5 m del suelo. Las plantas utilizadas están en edad productiva (entre 5 y 15 años). La plantación ubicada en Curubandé está compuesta mayoritariamente de plantas genéticamente distintas y una pequeña porción de clones; caso contrario a la plantación de El Salto que está constituida en su mayoría por clones propagados por estacas.

La precipitación anual del sector de Liberia oscila entre 800 y 2600 mm por año (media= 1740 mm). Una marcada época seca se extiende desde fines de noviembre hasta mediados de mayo (precipitación media en época seca= 150 mm; IMN, 2018). La temporada lluviosa generalmente comienza entre mediados de abril y mediados de mayo. La temperatura media anual es de 28 °C y la humedad relativa media es del 81% (Brenes-Prendas et al., 2006). La zona de vida en esta área se clasifica como bosque premontano bajo transicional a bosque seco según Holdridge (1967).

La tercera plantación de pitahayas visitada se ubica en el sector de Plancillo, en Atenas, Alajuela (9°58'54,96"N 84°25'4,848"O, datum: WGS84, Fig. 3). En este sitio tiene una extensión de 0.5 ha donde se tomaron datos durante setiembre del 2019, y entre mayo y julio del 2020. Esta plantación consiste en cúmulos de plantas agrupados a lo largo de varios senderos lineales. Las plantas van desde el nivel del suelo hasta aproximadamente 2m de altura. Las plantas utilizadas están en edad productiva (entre 5 y 15 años) Esta plantación posee una proporción similar de plantas genéticamente distintas y clones de propagación vegetativa, y están debidamente identificadas.

La precipitación anual del sector de Atenas varía entre 1700 y 2500 mm por año (media=2000 mm). Una temporada seca definida ocurre entre noviembre y abril. La temporada de lluvias generalmente comienza entre mediados de abril y mediados de mayo. La temperatura oscila entre 18 °C y 25 °C, con una media de 22 °C. El sector de Plancillo se clasifica como bosque premontano húmedo transicional a bosque seco según Holdridge (1967). El listado de muestreos por fecha y sitio se muestra en el Cuadro I.

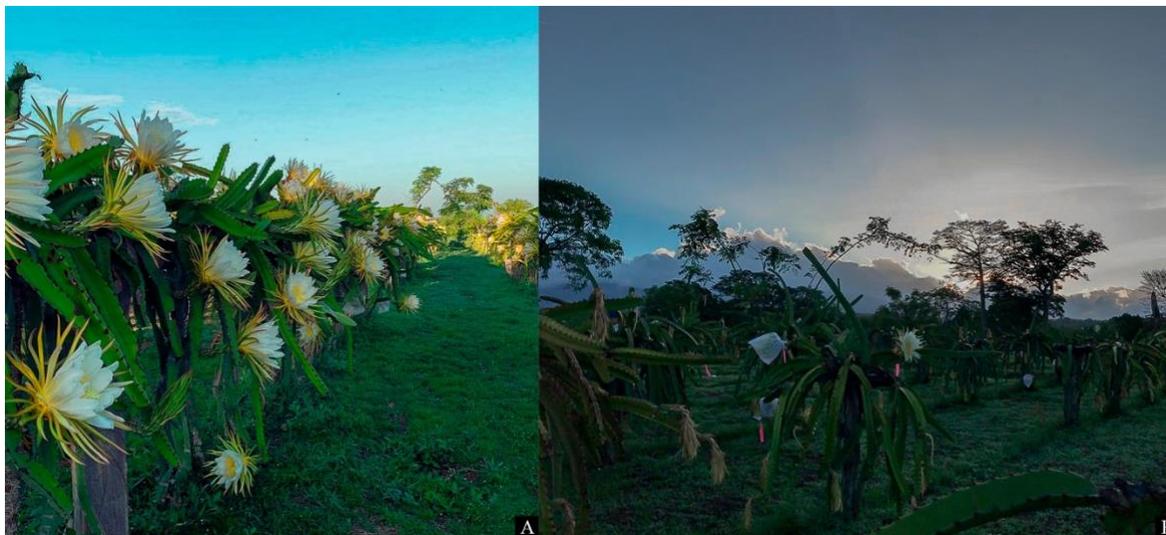


Figura 1. Plantación comercial de pitahaya en Curubandé, Liberia, Guanacaste. Plantas de *H. costaricensis* sobre postes de madera (A) donde se desarrollan en su hábito hemiepífita. Esta plantación tiene los postes espaciados uniformemente en toda su extensión (B)



Figura 2. Plantación comercial de pitahaya en El Salto, Liberia, Guanacaste. En la figura A se observan las bolsas de exclusión utilizadas en los experimentos de polinización. En la figura B se observan individuos de *H. costaricensis* sobre postes de madera a 1.5 m del suelo aproximadamente. En la figura C se observa el espaciado uniforme entre postes e individuos de esta plantación.



Figura 3. Plantación comercial de pitahaya en Plancillo, Atenas, Alajuela, durante la mañana siguiente a un evento de floración masiva. En las figuras A y B se observan los cúmulos de plantas de pitahayas poco espaciadas entre sí a lo largo de senderos lineales. Las plantas de esta plantación son más tupidas en comparación con las de los otros sitios y los cladodios van desde el nivel del suelo hasta los dos metros, creciendo tanto sobre troncos como árboles vivos.

Cuadro I. Contexto espacio-temporal de los muestreos realizados durante el proyecto. Cada X corresponde a una noche de muestreo.

| Sitio | Fecha | | | | |
|----------------------------|---------|-----------|---------|---------|---------|
| | 2019 | | Mayo | 2020 | |
| | Junio | Setiembre | | Julio | Agosto |
| Curubandé | XX | - | - | - | - |
| Atenas | - | X | X | XX | - |
| El Salto | - | - | - | - | XX |
| Hora puesta del sol | 6:18 pm | 6:23 pm | 6:11 pm | 6:16 pm | 6:16 pm |

Especie de estudio – La pitahaya, *Hylocereus costaricensis* (F.A.C. Weber) Britton & Rose es una especie de cactus epífita o hemiepífita que se caracteriza por tener flores hermafroditas, con antesis nocturna y fuertemente aromáticas. Miden aproximadamente 30 cm de longitud y diámetro, y poseen un tubo floral largo que acaba con una corola completamente extendida de delgados pétalos blancos. Además poseen una alta densidad de estambres que rodean el tubo floral (Fig. 4). Estas plantas exhiben características para la polinización por animales nocturnos (Haber, 1983).

El desarrollo óptimo de estas plantas se da en climas cálidos y sub húmedos (Calix de Dios et al., 2001). Florecen durante la época lluviosa y pueden ocurrir entre tres y siete eventos de floración masiva de aproximadamente tres noches de duración, en un periodo de cinco meses entre mayo y setiembre (Castillo-Martinez et al., 2005; Pushpakumara et al., 2005). Producen bayas falsas elipsoidales u ovaladas de un color rojo con brácteas carnosas, pulpa rojiza-purpúrea, y numerosas semillas pequeñas (Mizrahi et al., 2002; Centurión-Yah et al., 2008). Estas bayas son de interés comercial, ya que se comercian para consumo y elaboración de productos (Municipalidad de Abangares, Gobierno de Costa Rica, 2019) (Cuadro II). Los muestreos fueron realizados durante los picos de floración masiva para maximizar la disponibilidad de flores para la colecta de datos.

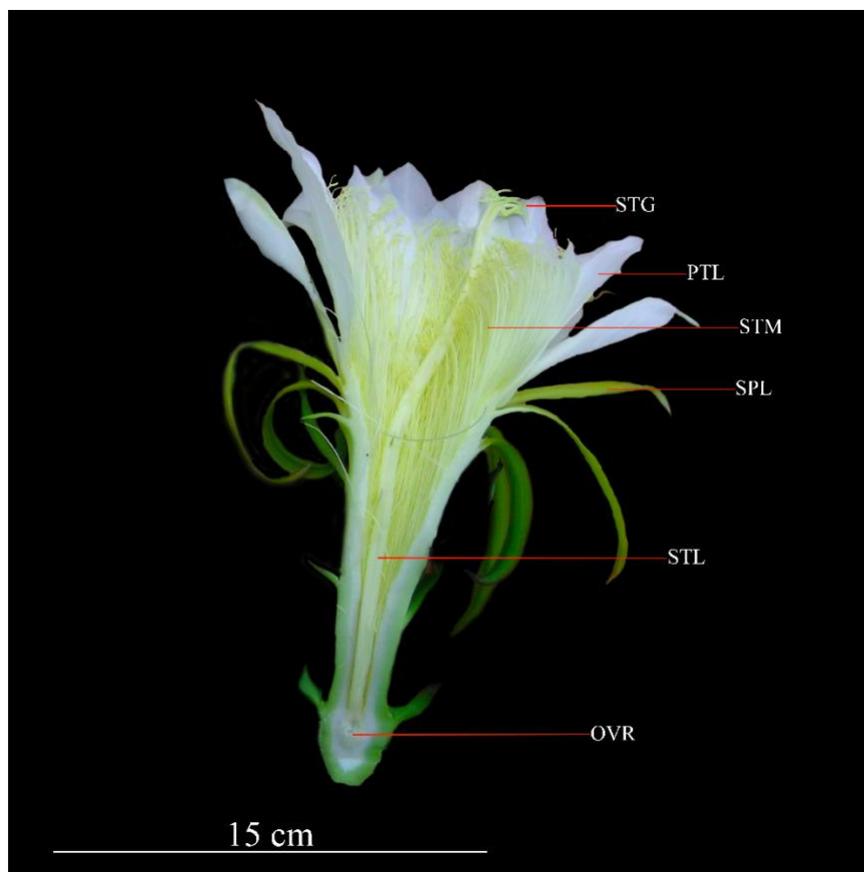


Figura 4. Corte longitudinal de una flor de *Hylocereus costaricensis* con sus diferentes partes. STG= estigma, PTL= pétalos, STM= estambres, STL= estilo, OVR= ovario.

Cuadro II. Clasificación y precio promedio de los frutos de *H. costaricensis* según la ficha técnica de la pitahaya de la Municipalidad de Abangares, del Gobierno de Costa Rica.

| Código de calibre | Rango de peso por unidad (g) | Precio promedio por |
|-------------------|------------------------------|---------------------|
| | | unidad (USD) |
| A | 110-150 | 0.45 |
| B | 151-200 | 0.6 |
| C | 201-250 | 0.75 |
| D | 251-300 | 0.9 |
| E | 301-400 | 1.2 |
| F | 401-500 | 1.6 |
| G | 501-600 | 1.8 |
| H | 601-700 | 2.4 |
| I | ≥701 | ~3 |

Biología floral

Periodo de antesis – Para determinar el periodo de antesis se dividió este proceso en tres etapas: la primera que comprende desde la apertura del botón cuando se comienzan a desenvolver los pétalos y se descubre el estigma (etapa 1), la segunda que comprende todo el tiempo que la flor se encuentra con los pétalos completamente extendidos y el androceo y gineceo completamente expuestos (etapa 2), y la última que se alcanza cuando los pétalos decaen y e inicia el marchitamiento (etapa 3). Se marcaron flores y se realizaron observaciones recurrentes cada 10 minutos desde las 6:00 p.m. hasta las 9:00 p.m. para registrar la hora de inicio y la duración de las etapas 1 y 2. Para registrar la etapa 3, se reanudaron las observaciones a las 6:00 a.m. y se extendieron hasta las 8:00 a.m. Con la información recolectada se calculó el porcentaje de las flores en cada etapa durante cada momento de la noche y la mañana que fue registrado.

Receptividad estigmática y dehiscencia de anteras – Para delimitar el inicio del periodo de receptividad estigmática, así como el momento de dehiscencia de las anteras (momento en que se libera el polen), se marcaron flores y se realizaron observaciones cada hora desde las 6:00 p.m. hasta la media noche, y una más a las 4:00 a.m. Para determinar la receptividad, se colocaron dos gotas de peróxido de hidrógeno sobre el estigma y con ayuda de una lupa KINGMAS con aumento 30X se observó si había burbujeo como evidencia de actividad enzimática. De ser así, se tomaba como una flor receptiva. Con la información recolectada se calculó el porcentaje de las flores receptivas y con polen disponible durante cada momento de la noche y la mañana que fue registrado.

Producción de néctar – Durante todas las noches de muestreo, se cubrieron 10 flores de plantas diferentes con bolsas de exclusión de tela voile para evitar la extracción de néctar por parte de animales visitantes. Se utilizaron jeringas de 2 cc con agujas y capilares de vidrio para la extracción en tres momentos específicos de la antesis: 8:00 p.m., 12 m.n. y 4:00 a.m. Se decidió lo anterior con el fin de identificar cambios en el volumen del néctar a lo largo de la noche. Los instrumentos se introdujeron tanto por el interior como por el exterior de la corola.

Polinización y fructificación

Experimentos de polinización – Durante cuatro noches en los últimos dos muestreos, en las plantaciones de Atenas y el Salto, se seleccionaron grupos de entre ocho y diez botones por tratamiento (según la disponibilidad de flores), distribuidos a través de la totalidad de la extensión de las plantaciones y se sometieron a cuatro tratamientos distintos para evaluar distintas vías de polinización:

Polinización manual-autopolinización: este tratamiento tuvo como objetivo verificar si *H. costaricensis* es una especie autocompatible, y de ser así, si los frutos producidos tenían valor comercial. Los botones se marcaron y se cubrieron con bolsas de tela voile a las 5 p.m. Las bolsas tenían un cordón para cerrarlas y evitar que cualquier visitante contactara la flor. Cuando hubo receptividad estigmática, se realizaron polinizaciones manuales de aproximadamente 15 segundos, donde se frotaron delicadamente anteras con polen de la misma flor con los estigmas. Al día siguiente, cuando las flores ya estaban completamente marchitas y sin posibilidad de polinización, se retiraron las bolsas y se marcaron las flores en el punto de contacto con el tallo del cactus para su seguimiento.

Polinización manual-cruzada: se realizó este tratamiento para contrastar sus resultados con el de autopolinización. Los botones se emascularon, se marcaron, y se cubrieron con una bolsa a las 5 p.m. de manera similar al tratamiento anterior para evitar que cualquier visitante contactara la flor. Cuando hubo receptividad estigmática, se realizaron polinizaciones manuales de aproximadamente 15 segundos, donde se frotaron delicadamente los estigmas con anteras y polen de flores provenientes de otras plantas genéticamente diferentes (no clones, basado en información provista por cada productor). Al día siguiente, con las flores completamente marchitas y sin posibilidad de polinización, se retiraron las bolsas y se marcaron las flores en el punto de contacto con el tallo del cactus para su seguimiento.

Polinización nocturna: este tratamiento fue para caracterizar la contribución de visitantes nocturnos en la polinización y producción de frutos de calidad comercial. Se marcaron flores y se mantuvieron expuestas durante toda la noche para que estuvieran disponibles para visitantes nocturnos. Las flores marcadas se embolsaron a las 4:00 a.m. con

bolsas de tela voile para evitar visitas tempranas por parte de forrajeros matutinos y diurnos. Las flores se mantuvieron embolsadas hasta que estuvieron completamente marchitas y sin posibilidad de polinización. Las flores fueron marcadas en el punto de contacto con el tallo para identificarlas.

Polinización matutina: se diseñó este tratamiento para caracterizar la contribución de visitantes y forrajeros matutinos en la polinización de *H. costaricensis*, así como su papel en la producción de frutos de calidad comercial. Los botones se marcaron y se embolsaron con bolsas de tela voile a las 5 p.m. del mismo modo que se indicó en los tratamientos anteriores para evitar contacto por parte de animales. Las flores se mantuvieron protegidas toda la noche y las bolsas se retiraron a las 4:30 a.m. (aproximadamente a esta hora inician las visitas de abejas) para permitir la visita de animales hasta el marchitamiento total. Las flores fueron marcadas en el punto de contacto con el tallo para identificarlas.

Adicionalmente a los tratamientos, se marcaron botones que no fueron manipulados como grupo control. La revisión del efecto de cada tratamiento se efectuó cuatro semanas después de la antesis. Todos los frutos producidos en los tratamientos fueron cosechados 4 semanas después de la antesis y se tomaron medidas morfométricas de estos. Dichas medidas corresponden a el peso total del fruto (g), largo y ancho del fruto (cm), y densidad de semillas (unidades/cm³). Los frutos se pesaron completos con una balanza Snowrex EQ 1200 con precisión 0,02g. Posteriormente, se cortaron longitudinalmente desde la cicatriz de la inserción al tallo hasta la que dejan el perianto al marchitarse y con un paquímetro digital Mitutoyo 500-197-30B con precisión de 0,02 mm, se midió el largo y el ancho de la pulpa (Fig. 5). Finalmente, para obtener la densidad de semillas en el fruto, se tomó una porción de 1 cm³ del centro de cada fruto de todos los tratamientos y se contaron las semillas manualmente. Se tomó la decisión de no contar la totalidad de las semillas de los frutos porque es un proceso que consume una porción considerable de tiempo y podía comprometer la integridad física de los frutos del análisis.

Se realizaron comparaciones de las medias de los parámetros anteriormente descritos para determinar si existían diferencias en los frutos de cada tratamiento de polinización. Fueron analizadas con pruebas ANOVA de una vía y pruebas de Tukey para la comparación entre tratamientos.

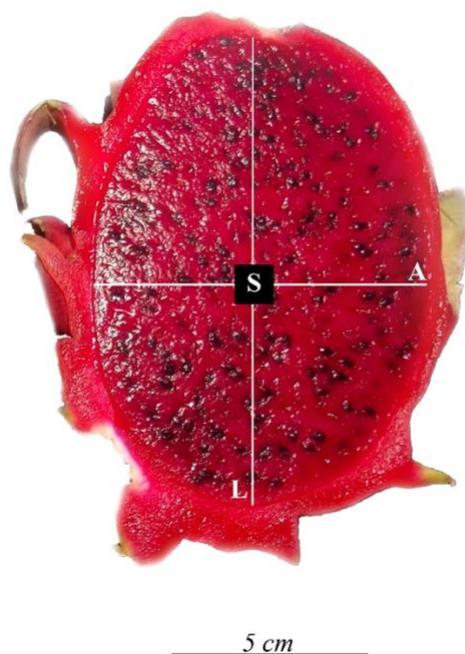


Figura 5. Fruto de *H. costaricensis* cortado longitudinalmente por la mitad. A=ancho, L=largo, S= área dónde se extrajeron los cubos de pulpa para el conteo de semillas.

Visitantes florales

Observaciones de los visitantes – Durante los diferentes ciclos de floración masiva en los tres sitios, se colocaron tres cámaras Sony HDR-CX700 con visión nocturna para grabar grupos de flores de *H. costaricensis*. Las cámaras grabaron interacciones con visitantes desde las 7:00 p.m. hasta la media noche aproximadamente, y de nuevo desde las 4:30 a.m. hasta cerca de las 7:00 a.m. Durante los muestreos, se realizaron colectas de diferentes visitantes y se identificaron al taxón más específico posible. En los muestreos realizados en Curubandé se colocaron redes de niebla durante la noche para capturar murciélagos que pudieran estar participando en el proceso de polinización.

Visitas individuales – Para el monitoreo de las visitas registradas en video, se anotó la hora en que ocurrió, así como la duración en los casos en que fue posible (o sea, cuando el visitante no desapareció del campo visual de la grabación). Además, se identificaron los visitantes y se agruparon de acuerdo al orden al que pertenecen. Adicionalmente se anotó si los visitantes tuvieron contacto con los órganos reproductivos de la flor o si solo contactaron el perianto. Se comparó la abundancia de cada orden de visitantes en los tres sitios por medio de pruebas χ^2 . Se utilizó una prueba de Kruskal-Wallis para comparar la duración de las visitas según el orden taxonómico de los visitantes.

Visitas masivas – Debido a la dificultad para registrar individualmente las visitas de abejas por su gran abundancia, se analizaron de forma distinta a los otros visitantes. Para estimar la cantidad de abejas que visitaban las flores de manera simultánea, se reprodujeron los videos en los que se registraron estos eventos y se tomaron capturas de pantalla (*screenshots*) en cinco momentos distintos (temporalmente espaciados de manera equitativa según la duración del video) desde el inicio de la visita masiva hasta el final. Posteriormente se contó la cantidad de las abejas presentes en cada *screenshot* y se calculó un promedio de individuos presentes para cada flor y se estimó el promedio general de abejas por flor para todo el video. Para estimar la duración de las visitas de las abejas de los grupos visitantes, para cada video se tomó nota de la duración de las interacciones de 15 abejas elegidas de manera aleatoria. Se compararon los parámetros anteriormente descritos para cada sitio por medio de pruebas Kruskal-Wallis.

Para todos los cálculos y análisis estadísticos se utilizó el software R (R Core Team, 2016). Un resumen del contexto espacio-temporal de los muestreos se puede encontrar en el Cuadro III.

Cuadro III. Distribución temporal de los experimentos realizados según el sitio.
Cada X corresponde a un experimento.

| Fecha y sitio | 2019 | | 2020 | | |
|--------------------|-----------|-----------|--------|-------|----------|
| | Junio | Setiembre | Mayo | Julio | Agosto |
| | Curubandé | | Atenas | | El Salto |
| Experimento | | | | | |
| Antesis | X | X | X | X | X |
| Receptividad | X | X | X | X | X |
| Néctar | X | X | X | X | X |
| Polinización | - | - | - | X | X |
| Colectas | X | X | X | X | X |
| Grabaciones | X | - | X | X | X |

RESULTADOS

Biología floral

Periodo de antesis – La recolección de datos se dio durante 8 eventos de floración masiva entre 2019 y 2020. Para el proceso de la antesis, en el que los botones se abrían (etapa 1), y la extensión total de las flores cuando se encontraban completamente abiertas (etapa 2), se registraron datos de 345 flores, mientras que para el momento del marchitamiento (etapa 3) se registraron datos de 325 flores. Los botones comenzaron a abrirse en promedio a las 6:31 p.m. ($\pm 15:49$ min), alcanzaron una antesis completa aproximadamente una hora y cuarto después a las 7:45 p.m. ($\pm 15:44$ min), y permanecieron así hasta después del amanecer del día siguiente, donde en promedio se marchitaron a las 6:41 a.m. ($\pm 18:29$ min) (Fig.6). El periodo completo de la antesis de las flores abarcó alrededor de 12:09:00 h ($\pm 24:33$ min), donde desde el inicio de la apertura de los botones hasta la extensión total de las corolas abarcó en promedio 01:13:00 h ($\pm 18:22$ min). Por su parte, el periodo desde que las flores estaban completamente extendidas hasta que comenzaron a marchitarse fue el más extenso (abarcó 87% del tiempo) y duró en promedio 10:55:00 h ($\pm 24:31$ min).

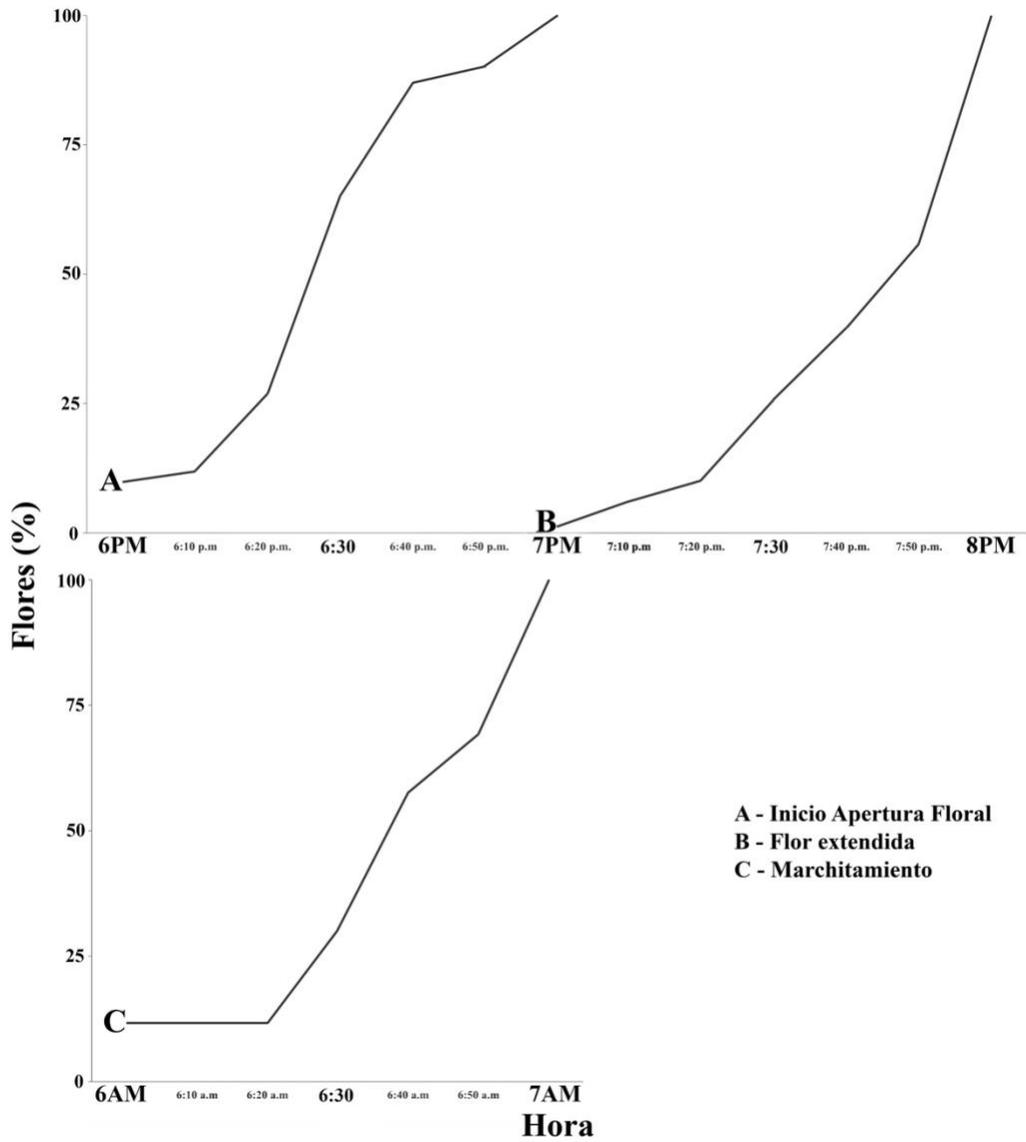


Figura 6. Porcentaje de flores en cada etapa de la anthesis según el momento de la noche durante los eventos de floración masiva (n=345, 325 para el marchitamiento).

Receptividad estigmática y dehiscencia de anteras – Se registraron datos de 315 flores sobre su receptividad estigmática y dehiscencia de anteras. Con respecto a las anteras, el porcentaje de dehiscencia a las 7:00 p.m fue 0% en todos los muestreos. Para las 8:00 p.m., el porcentaje de dehiscencia ascendió a 100% en todos los muestreos. Cabe destacar que el polen se mantuvo disponible desde su liberación hasta su colecta por parte de visitantes alrededor de las 5:00 a.m.. Por su parte, el máximo porcentaje de flores receptivas se registró cerca de la media noche, aproximadamente tres horas después de alcanzado el máximo de dehiscencia de anteras (Fig. 7).

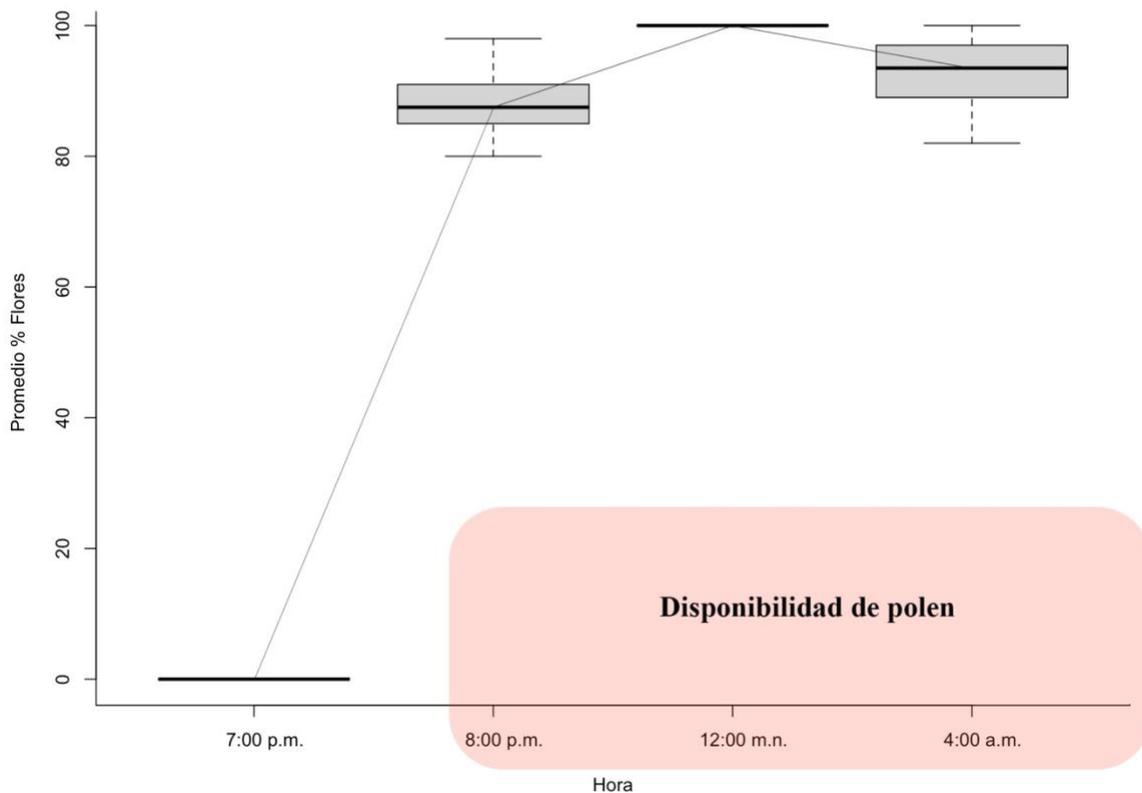


Figura 7. Receptividad estigmática expresada en el porcentaje de flores receptivas al polen según el momento de la noche durante los eventos de floración masiva (n=315, con excepción de las 12:00 m.n. donde n=290 por falta de datos de los muestreos 1 y 2). Las cajas representan el rango intercuartil, la línea horizontal de la caja representa la mediana y los bigotes la distribución del 98% de los datos. El cuadro rojo representa el intervalo de tiempo donde hay polen disponible para la polinización.

Producción de néctar – Se realizaron mediciones a 80 flores en total durante todos los muestreos realizados en todos los horarios establecidos. En ninguna ocasión se obtuvieron datos cuantificables de volumen o concentración de azúcares del néctar. En adición, disecciones de las flores en el campo realizadas durante cada noche de muestreo no mostraron, en ningún caso, néctar apreciable en ninguna estructura floral.

Polinización y fructificación

Experimentos de polinización – El 100% de las flores marcadas para los tratamientos produjeron frutos viables que completaron su desarrollo hasta un tamaño de calidad comercial. Por lo tanto, se evidencia la autocompatibilidad de las plantas y su receptividad a lo largo de todo el periodo de apertura floral (Cuadro IV).

El peso promedio de los frutos producidos varió significativamente entre los diferentes tratamientos de polinización ejecutados ($F_{4, 114} = 73,73$; $p < 0.05$). Los frutos producto de polinización natural (grupo control) fueron los más pesados de todos los tratamientos, con un promedio de $461,55 \pm 57,13$ g. Estos se registraron en promedio casi 400% más pesados que los frutos producidos por autopolinización manual (promedio: $117,12 \pm 41,86$ g), y aproximadamente 130% más pesados que los producidos solo por polinización nocturna (promedio: $368,83 \pm 85,44$ g), matutina (promedio: $323,77 \pm 104,75$ g) o por polinización cruzada manual (promedio: $362,72 \pm 72,33$ g), los cuales no difirieron entre sí (Fig. 8).

El tamaño de los frutos producidos también varió de acuerdo con el tratamiento de polinización a la que se expusieron las flores. Se detectaron diferencias en el largo ($F_{4, 103} = 85,78$; $p < 0.05$) y el ancho ($F_{4, 102} = 123,4$; $p < 0.05$) de los frutos entre los tratamientos. De manera similar a lo reportado con el peso de los frutos, las medidas más grandes fueron encontradas en los frutos del tratamiento control, mientras que las menores correspondieron al tratamiento de autopolinización (Figs. 9 y 10).

Con respecto a la densidad de semillas, se encontró una variación significativa entre los diferentes tipos de polinización evaluados ($F_{4, 107} = 15,47$; $p < 0.05$). Para este parámetro, el control difirió con respecto a los demás tratamientos con excepción de la polinización manual cruzada y la polinización nocturna (Fig. 11). Además, el tratamiento de autopolinización no difirió del tratamiento de polinización cruzada (Fig. 11). Finalmente, cabe destacar que se detectaron diferencias entre los tratamientos de polinización nocturna y matutina (Fig. 11).

Cuadro IV. Total y porcentaje de producción de frutos de las flores sometidas a los diferentes tratamientos de polinización (n=16 para los tratamientos el muestreo en Plancillo, n=10 para los tratamientos el muestreo en El Salto). El tratamiento de polinización cruzada no fue realizado en El Salto por falta de disponibilidad de polen.

| Tratamiento | Flores (n) | Frutos producidos | % de producción |
|-------------------------|-------------------|--------------------------|------------------------|
| Control | 26 | 26 | 100 |
| Manual-Cruzada | 16 | 16 | 100 |
| Manual-Autopolinización | 26 | 26 | 100 |
| Nocturna | 26 | 26 | 100 |
| Matutina | 26 | 26 | 100 |

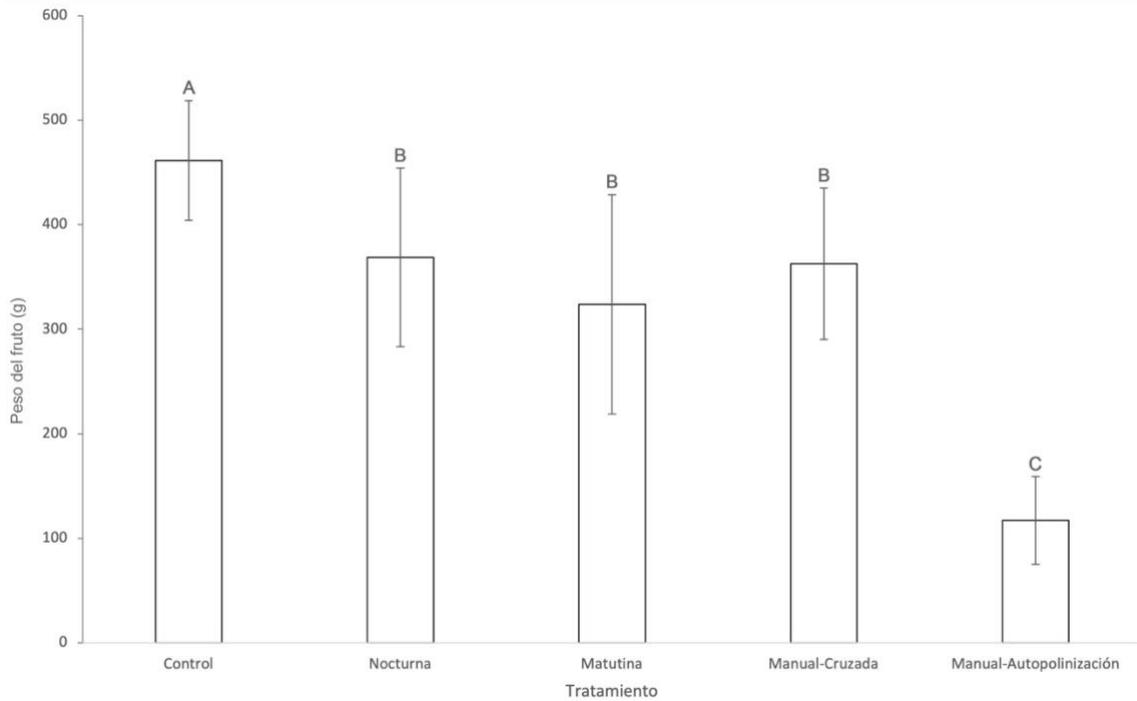


Figura 8. Peso promedio de los frutos producidos según el tratamiento de polinización a la que se sometieron las flores. Las barras de error indican la desviación estándar. Las barras identificadas con la misma letra no difieren significativamente entre sí (prueba Tukey de comparaciones múltiples de medias con nivel de confianza de 95%).

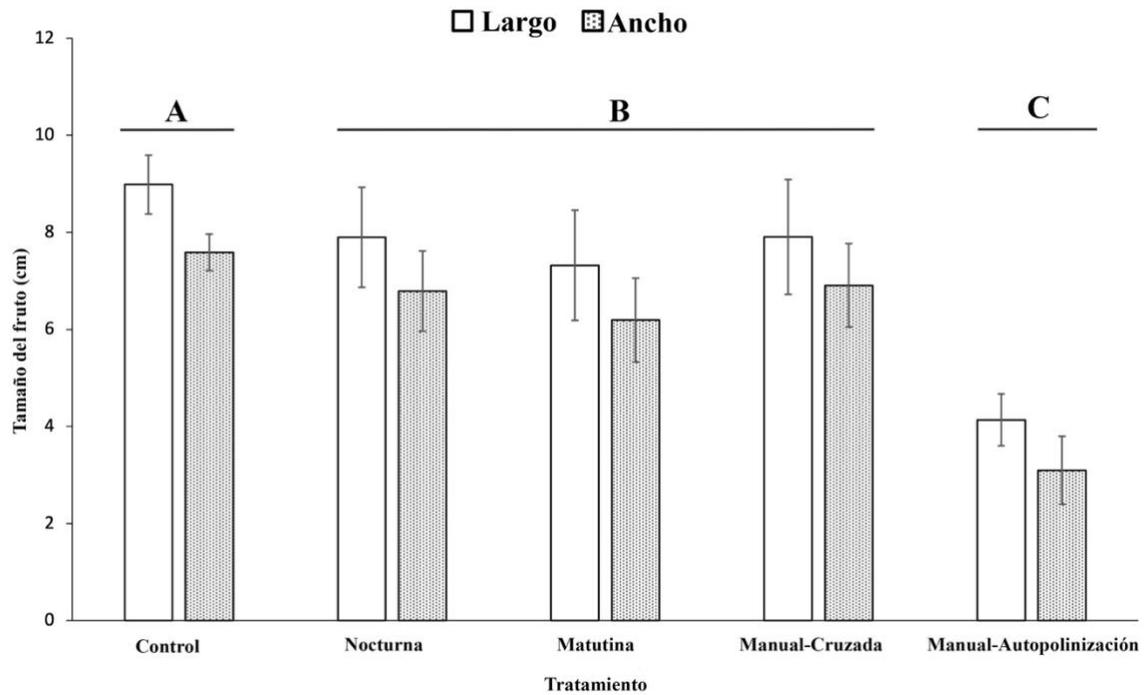


Figura 9. Promedio del largo y ancho de los frutos producidos según el tratamiento de polinización a la que se sometieron las flores. Las barras de error indican la desviación estándar. Las barras identificadas con la misma letra no difieren significativamente entre sí (prueba Tukey de comparaciones múltiples de medias con nivel de confianza de 95%).

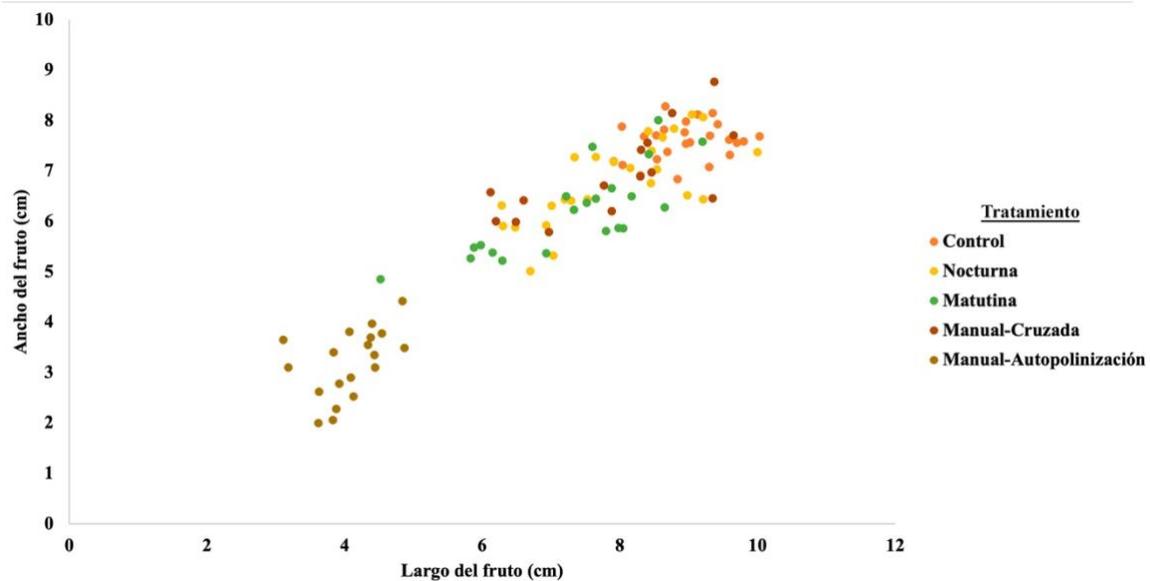


Figura 10. Relación morfométrica entre el largo (cm) y el ancho (cm) de los frutos de pitahaya según el tratamiento de polinización aplicado. Control (naranja), nocturna (amarillo), matutina (verde), manual-cruzada (rojo), manual-autopolinización (café).

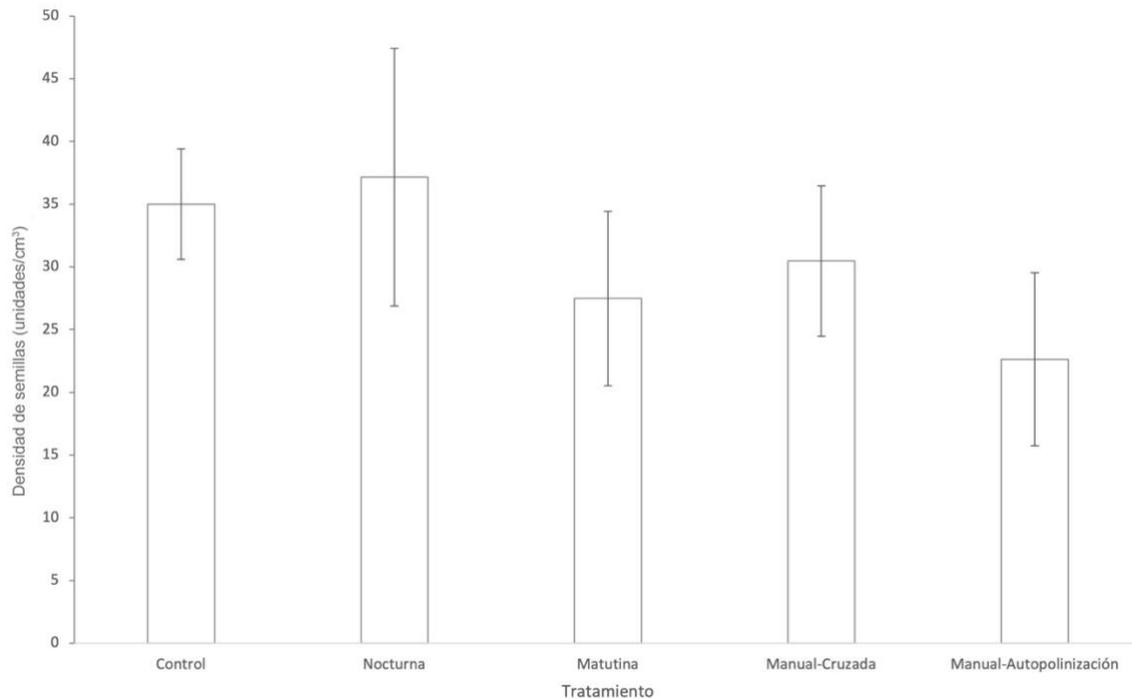


Figura 11. Promedio de la densidad de semillas por centímetro cúbico de los frutos según el tratamiento de polinización a la que se sometieron las flores. Las barras de error indican la desviación estándar. Las barras identificadas con la misma letra no difieren significativamente entre sí (prueba Tukey de comparaciones múltiples de medias con nivel de confianza de 95%).

Visitantes florales

Observaciones de los visitantes – Para el análisis de video se contempló un total de 42,32 horas de grabación (Cuadro V). Se revisaron 32,88 horas de video nocturno (entre las 19:00 y las 00:00 h). Adicionalmente se analizaron 9,52 horas de video matutino (entre las 04:30 y 07:00). Se registraron en total 118 visitas individuales de diferentes órdenes de insectos y 8 eventos de visitación masiva de abejas. Estos eventos masivos fueron registrados únicamente en la mañana. Con respecto a las visitas individuales, en el 66% de los casos, los visitantes tuvieron contacto con el estigma y solo en el 34% entraron en contacto estrictamente con estambres o partes del perianto. Se observó un amplio rango de insectos visitantes florales que incluyeron principalmente polillas, abejas y escarabajos (Cuadro VI).

Cuadro V. Información general del análisis de videos para cada sitio de muestreo.

| Parámetro | Sitio | | |
|---|------------------|------------------|-----------------|
| | Curubandé | Plancillo | El Salto |
| Tiempo de video (h) | 7,03 | 21,55 | 13,82 |
| Grabación nocturna (h) | 4,97 | 17,05 | 10,83 |
| Grabación matutina (h) | 2,06 | 4,89 | 2,48 |
| Visitas individuales | 62 | 20 | 36 |
| Visitas masivas | 2 | 4 | 6 |
| Tasa de visitación individual (visitas/hora) | 8,82 | 0,93 | 2,60 |

Cuadro VI. Individuos colectados e identificados como visitantes florales de *H. costaricensis*. Las letras en los horarios corresponden a diurno (D), vespertino (V), nocturno (N) y matutino (M)

| Orden | Familia | Especie (o taxón más específico) | Sitio | Horario de visita | |
|---------------|---------------|-------------------------------------|------------------------|-------------------|---|
| Coleoptera | Cantharidae | sp.1 | Atenas | D | |
| | | sp.2 | Atenas | D | |
| | Chrysomelidae | Eumolpinae sp.1 | Curubandé | D | |
| | | Eumolpinae sp.2 | Atenas | D | |
| | | Galerucinae sp.1 | El Salto | V | |
| | | Galerucinae sp.2 | Atenas | V | |
| | | Nitidulidae | sp.1 | Curubandé | N |
| | | | sp.2 | Atenas | N |
| | | | sp.3 | Atenas | N |
| | | | sp.4 | Atenas | N |
| | Scarabaeidae | <i>Cyclocephala</i> sp. | Curubandé | N | |
| | | Rutelinae sp.1 | Atenas | V,N | |
| | | Rutelinae sp.2 | Atenas | V,N | |
| | | Scarabaeinae sp.1 | Curubandé | V,N | |
| | | Scarabaeinae sp.2 | El Salto | N | |
| | Diptera | Muscidae | sp.1 | Atenas | V |
| Sarcophagidae | | sp.1 | Atenas | V | |
| Hemiptera | Cixiidae | sp.1 | Atenas | N | |
| Hymenoptera | Apidae | <i>Cephalotrigona zexmeniae</i> | Atenas | V | |
| | | <i>Melipona beecheii</i> | Curubandé | M | |
| | | <i>Partamona orizabaensis</i> | Atenas | M | |
| | | <i>Trigona corvina</i> | Atenas | V | |
| | | <i>Trigona silvestriana</i> | Atenas | V | |
| | | <i>Xylocopa fimbriata</i> | Curubandé | N,M | |
| | | <i>Xylocopa</i> sp. | Curubandé | N,M | |
| | | Halictidae | <i>Agapostemon</i> sp. | Curubandé | N |
| | | | <i>Augochlora</i> sp. | Curubandé | N |

| | | | | |
|-------------|---------------|--------------------------|------------|---|
| | | <i>Caenaugochlora</i> | Curubandé | N |
| | | <i>costaricensis</i> | | |
| | | <i>Megalopta amoena</i> | Curubandé, | N |
| | | | El Salto | |
| | Ichneumonidae | Ophion sp. | Atenas | N |
| | Vespidae | <i>Agelaia centralis</i> | Atenas | M |
| Lepidoptera | Sphingidae | <i>Manduca rustica</i> | Curubandé, | N |
| | | | El Salto* | |

*No es posible determinar completamente la identidad del individuo colectado, pero es muy probable que se trate de un individuo de *M. rustica*.

Visitas individuales – Se identificaron con mayor frecuencia tres órdenes de insectos: Coleoptera, Hymenoptera y Lepidoptera (Cuadro VII). Visitas aisladas de hemípteros y dípteros también fueron registradas, pero fueron poco frecuentes y en ningún caso entraron en contacto con partes reproductivas de las flores. La visitación por coleópteros fue mayor en Curubandé que en los otros dos sitios ($\chi^2=45,36$; g.l.=2; $p<0.05$). Para este orden de insectos, las visitas consistieron principalmente en individuos que llegaron a las flores volando o caminando por las partes vegetativas de la planta (probablemente buscando sitios de descanso o copulación), entrando por los pétalos y alojándose la mayoría del tiempo en la base de la corola por periodos prolongados, por lo que el contacto prolongado con estructuras reproductivas fue poco común. Sin embargo, cabe destacar que el tránsito de estos individuos en las flores movía frecuentemente los filamentos de las anteras, por lo que es probable que aporten en el esparcimiento de polen.

Por su parte, las visitas individuales de himenópteros también fueron más abundantes en Curubandé ($\chi^2=13,71$; g.l.=2; $p<0.05$). Durante los muestreos en Atenas, se registraron visitas vespertinas de abejas del género *Trigona* a los botones sin abrir. Estas abejas causaron daño mecánico a los botones, ya que perforaron la base de los pétalos en busca de néctar y polen. También se registraron visitas de abejas crepusculares del género *Megalopta* en los dos sitios en Guanacaste. Se observaron individuos forrajeando en busca de recurso alimenticio entre las 8:00 p.m. y las 10:00 p.m. y aproximadamente una hora antes del amanecer (a las 4:00 a.m. aproximadamente), contactando frecuentemente con el estigma y las anteras. Finalmente, otros registros destacables son los de varias abejas de géneros como

Melipona y *Xylocopa*, que llegaron a las flores al amanecer, con los primeros rayos de sol. Estas abejas llegaron a las flores en busca de recurso alimenticio (polen) y en muchas ocasiones contactaron las anteras y el estigma, funcionando como vectores de polinización.

Con respecto a los lepidópteros, prácticamente todas las visitas corresponden a la familia Sphingidae, con excepción de dos visitas ocasionales de polillas más pequeñas. Se registró una mayor cantidad de visitas en El Salto que en los otros dos sitios de muestreo ($\chi^2=22,64$; g.l.=2; $p<0.05$). Durante las visitas, los esfíngidos entraron volando directamente por la apertura de la corola, y por su tamaño, en todas las ocasiones contactaron las estructuras reproductivas. En estas visitas, los individuos navegaron por el interior de la flor hasta la base, probablemente en busca de néctar para alimentarse. La duración promedio de las visitas a las flores no varió significativamente según el grupo taxonómico de los visitantes (Fig.12; $\chi^2=1,49$; g.l.=2; $p>0.05$).

Finalmente, es importante resaltar que no se registraron visitas de murciélagos a las flores durante los muestreos. A pesar que si hubo presencia de estos vertebrados en los sitios de muestreo, las observaciones de campo y los videos revisados no tienen evidencia de estos organismos entrando en contacto con las flores. En cambio, se notó que los individuos sobrevolaban las plantaciones, exhibiendo comportamientos de forrajeo propios de los murciélagos insectívoros.

Cuadro VII. Cantidad de visitas individuales (registradas en grabaciones de video) a las flores según el orden de insectos en cada sitio de muestreo.

| Visitante | Sitio | | | TOTAL |
|------------------|-----------|--------|----------|-------|
| | Curubandé | Atenas | El Salto | |
| Coleoptera | 35 | 6 | 1 | 42 |
| Hymenoptera | 15 | 3 | 3 | 21 |
| Lepidoptera | 7 | 9 | 31 | 47 |
| Otros | 2 | 0 | 1 | 3 |
| No identificados | 3 | 2 | 0 | 5 |
| TOTAL | 62 | 20 | 36 | 118 |

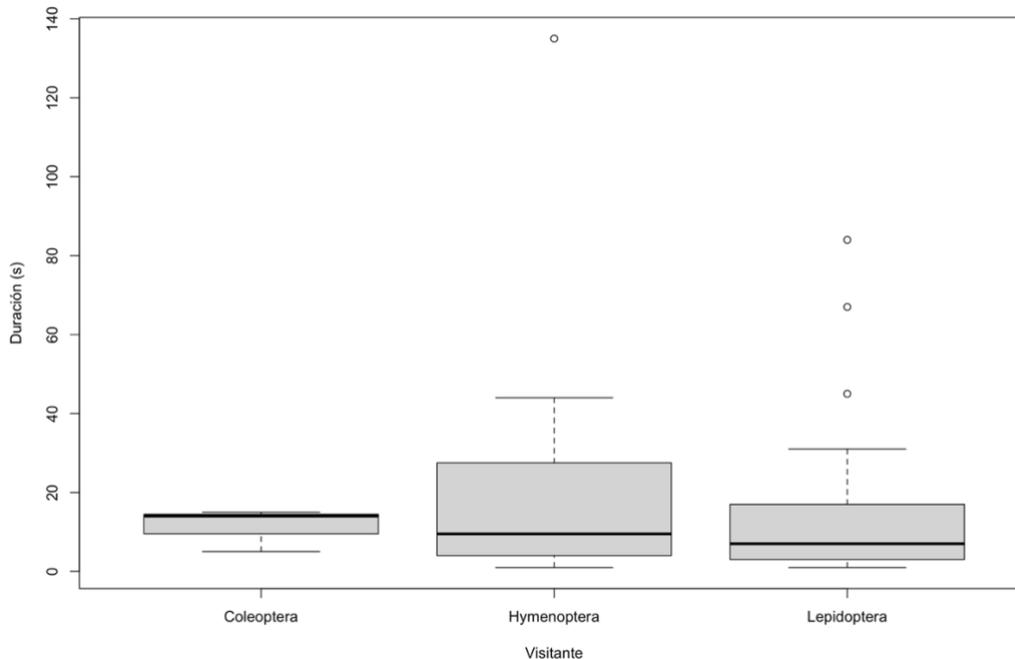


Figura 12. Duración de las visitas florales según el grupo taxonómico del visitante. Las cajas representan el rango intercuartil, la línea horizontal de la caja representa la mediana y los bigotes la distribución del 98% de los datos.

Visitas masivas – Los eventos de visitación masiva fueron registrados únicamente en horario matutino y consistieron en enjambres de abejas (principalmente *A. mellifera* con presencia de otros géneros como *Melipona* y *Xylocopa* en menor abundancia). En todos los casos, los grupos de abejas llegaron de manera súbita a las plantaciones poco tiempo antes del amanecer (generalmente entre las 4:45 a.m y las 5:00 a.m.) y visitaron colectivamente las flores en busca de polen durante un lapso de entre 15 y 20 minutos, aproximadamente. En cada evento, una vez que el recurso se agotó, la mayoría del enjambre abandonó rápidamente las plantaciones y solo algunos individuos permanecieron como forrajeros en las flores, buscando algún remanente de polen. El Salto fue el sitio que registró menor cantidad de abejas por flor durante las visitas masivas, y difirió significativamente de los otros dos sitios (Fig.13; $\chi^2=39,05$; g.l.=2; $p<0.05$). La duración de las visitas de las abejas a las flores durante los eventos masivos fue consistente durante todos los muestreos y solo difirió entre Curubandé y el Salto (Fig.14; $\chi^2=14,05$; g.l.=2; $p<0.05$). En síntesis, durante las visitas

masivas, las flores registraron aproximadamente 22 abejas/min en el Salto, mientras que se registraron valores mayores para los otros dos sitios: 75 abejas/min en Curubandé, y 60 abejas/min en Atenas.

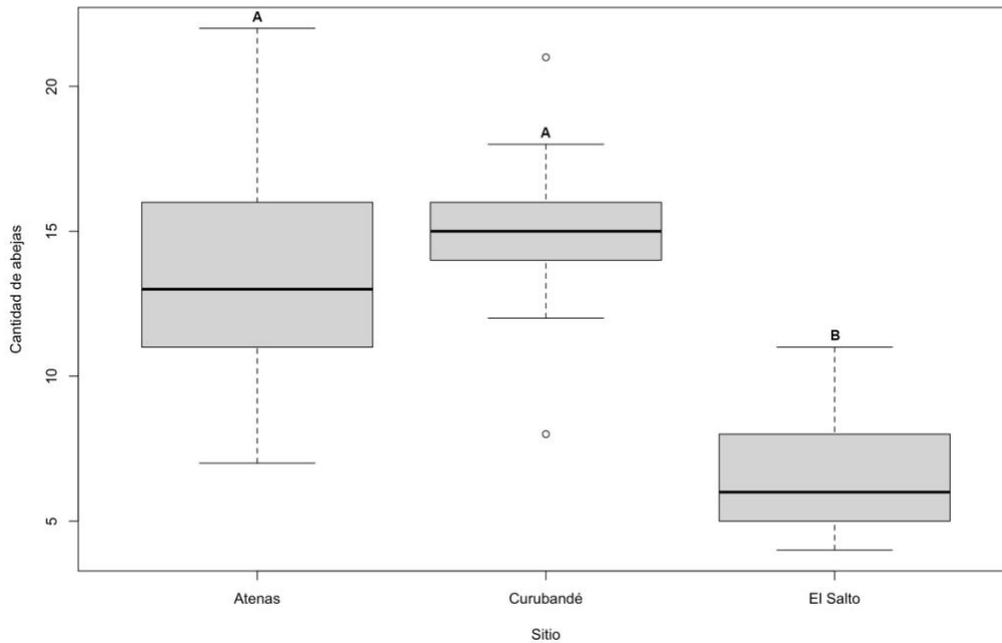


Figura 13. Cantidad de abejas promedio ($\text{individuos}/\text{flor}$) registradas durante los eventos de visitación masiva de acuerdo con el sitio de muestreo. Las cajas representan el rango intercuartil, la línea horizontal de la caja representa la mediana y los bigotes la distribución del 98% de los datos. Los boxplots identificados con la misma letra no difieren significativamente con una probabilidad de 5% (prueba de Kruskal-Wallis) ($n=10$ para Curubandé, $n=20$ para Atenas y $n=30$ para El Salto).

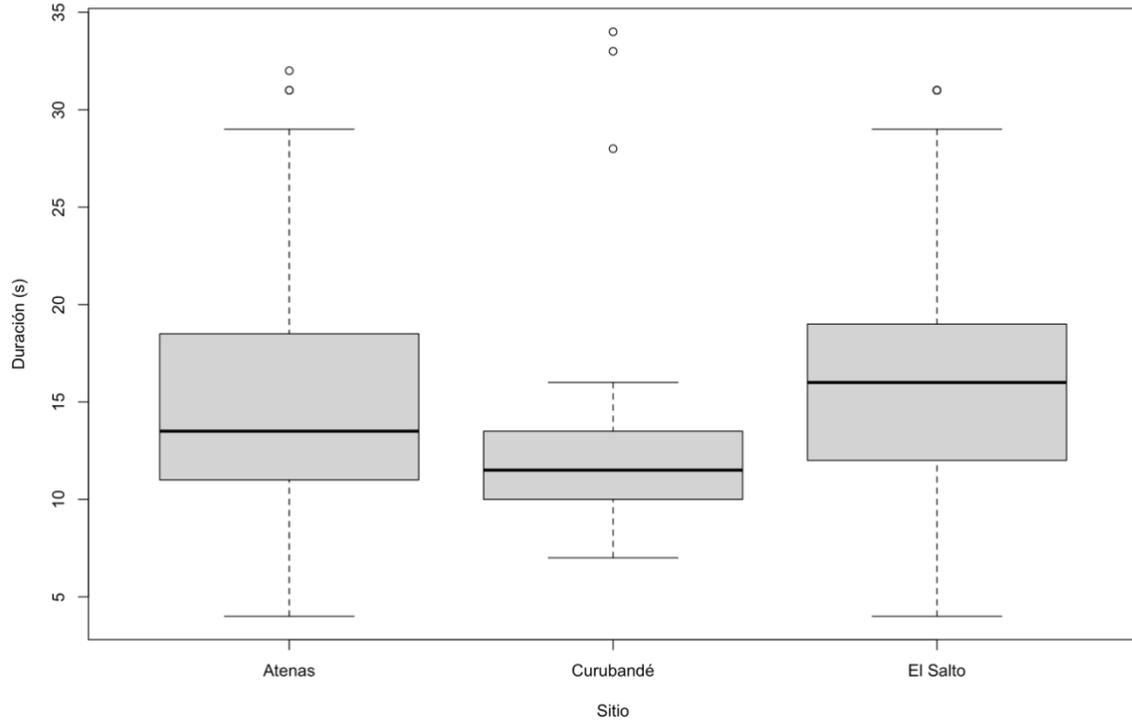


Figura 14. Duración de las visitas de abejas registradas durante los eventos de visitación masiva con respecto al sitio de muestreo. Las cajas representan el rango intercuartil, la línea horizontal de la caja representa la mediana y los bigotes la distribución del 98% de los datos (n=28 para Curubandé, n=60 para Atenas y n=90 para El Salto).

DISCUSIÓN

Biología floral

Periodo de antesis – En las tres plantaciones, las flores analizadas confirman que *H. costaricensis* tiene antesis nocturna (alrededor de 12 h en total). Lo anterior es análogo a otras especies del género. Patrones de antesis similares se han observado en otras especies alrededor del mundo como *H. undatus* cf. *vietnam* (Chang et al., 1997), y *H. undatus* en cultivos en México (Valiente-Banuet et al., 2007). Por otro lado, Corona (2018) reporta que otras especies de cultivo habitual como *H. purpusii* e *H. ocamponis* comienzan su apertura floral en sitios de cultivo aproximadamente dos horas más tarde que lo reportado para *H. costaricensis* en este estudio, donde las flores comenzaron su apertura con el atardecer. Weiss y colaboradores (1994) propusieron un patrón temporal general de antesis para varias especies de *Hylocereus* (incluida *H. costaricensis*) y la especie relacionada *Selenicereus megalanthus*. El presente estudio ajusta ese patrón específicamente para *H. costaricensis*, donde la apertura total se alcanza cerca de una hora más temprano que lo propuesto por los autores mencionados anteriormente. Lo anterior puede representar un beneficio en la producción comercial, puesto que un periodo de tiempo de apertura floral más prolongado, al menos en los cactus, podría traducirse en una potenciación de la polinización debido a la atracción de polinizadores (Fenster et al. 2004; Flores-Martínez et al., 2013; Xu & Servedio, 2021).

Receptividad estigmática y dehiscencia de anteras – En las tres plantaciones visitadas, las flores de *H. costaricensis* presentaron comportamiento homógamo (la dehiscencia de anteras, la liberación de polen y receptividad estigmática ocurren prácticamente de manera simultánea). Fenómenos similares se han reportado en otras especies de pitahaya que se cultivan habitualmente. Por ejemplo, se ha descrito una sincronía similar para *H. undatus* en cultivares de México (Valiente-Banuet et al., 2007). Se ha encontrado también, que flores *H. ocamponis* e *H. purpusii* alcanzan la receptividad estigmática y la dehiscencia de anteras simultáneamente cerca de las 10:00 p.m., luego de que comienza la apertura de la corola (Corona, 2018). Adicionalmente, Weiss et al. (1997) reportaron que las anteras de individuos de *H. costaricensis*, *H. polyrhizus*, *H. undatus*, y *S.*

megalanthus que no pertenecen a cultivos de producción comercial, dehiscen previo a la anthesis. Este reporte contrasta con lo encontrado en los cultivos de *H. costaricensis* analizados en este proyecto donde la dehiscencia de anteras se dio posterior a la apertura de la corola y de manera sincronizada con la receptividad estigmática. La homogamia es un rasgo poco común en las angiospermas con flores perfectas (reportado en solo el 14.4% de las especies, según Bertin & Newman, 1993), pero cuando está presente resulta en un aumento en el contacto de polen-estigma (Medan & Basilio, 2001). Esto significa que, en sincronía con eventos de floración en poblaciones, la homogamia puede promover la polinización de flores y la eventual formación de frutos, ya que en muchos casos permite el depósito y traslado de polen en una sola visita (Medan & Basilio, 2001; Frankel & Galun, 2012; Sedgley & Griffin, 2013). Para el caso específico de *H. costaricensis*, al considerar que la floración de individuos se da de manera sincronizada en varios eventos durante el año, y que en general, los mismos visitantes que transportan polen son los que lo depositan en los estigmas, la homogamia se vuelve una característica deseable para la producción de frutos y contribuye en el cultivo en escala comercial, ya que maximiza la probabilidad de polinización.

Producción de néctar – Contrario a lo reportado por Weiss et al. (1994) para la especie focal, no se encontró evidencia de la producción de néctar por parte de las flores de *H. costaricensis* durante el estudio realizado. La ausencia de néctar también se ha reportado en individuos de *H. undatus* en jardines de México (Valiente-Banuet et al., 2007). Otros estudios realizados con la especie mencionada anteriormente, así como con *H. polyrhizus* llegaron al mismo resultado al intentar cuantificar la producción de néctar de estas flores (Muniz et al. 2019). Valiente-Banuet y colaboradores (2007) también plantean que las diferentes especies de pitahaya han sido cultivadas desde la antigüedad por los diferentes pobladores de Mesoamérica a través de la historia y mencionan que es posible que la capacidad de producir néctar se haya perdido durante la domesticación del fruto. Por lo anterior, es probable que el polen sea la principal recompensa que ofrecen las flores a los insectos visitantes, como se ha observado en diversos representantes diferentes de la familia Cactaceae (Flores-Martínez et al., 2013; Valverde et al., 2015).

A lo largo de esta sección se demuestra que la biología floral de *H. costaricensis* exhibe características que benefician la polinización, y esto probablemente maximice la producción comercial de frutos de pitahaya. Como se ha mencionado, las poblaciones estudiadas cuentan con ventajas como sincronía en la floración de los individuos, periodos de anthesis prolongados de aproximadamente 12 horas y homogamia en sus estructuras reproductivas. La combinación de estos factores establece condiciones favorables para que los polinizadores interactúen con las flores y brinden sus servicios a los productores de este fruto. Otras características que se observaron ausentes como la cleistogamia y la producción de néctar; probablemente fueron seleccionadas negativamente durante el proceso de domesticación de la especie. Sin embargo, esta hipótesis debe probarse contrastando la biología de la polinización y los sistemas de reproducción de las poblaciones silvestres de *H. costaricensis* con los de las poblaciones cultivadas.

Polinización y fructificación

Experimentos de polinización – El tratamiento de autopolinización tuvo un 100% de producción de frutos, por lo tanto, las plantas analizadas son capaces de fructificar en ausencia de otras flores. Este resultado contrasta completamente con los obtenidos por Weiss y colaboradores (1994), quienes reportaron a *H. costaricensis* como una especie autoincompatible. Esta característica parece variar entre especies comerciales, por ejemplo: el estudio mencionado anteriormente reporta que otras especies de pitahaya de interés comercial son autocompatibles, tal es el caso de *H. undatus* y *S. megalanthus* (Weiss et al. 1994; Pushpakumara et al. 2005; Valiente-Banuet et al., 2007). Por otro lado, *H. ocamponis*, *H. purpusii*, así como *H. polyrhizus* se han reportado como autoincompatibles en cultivares del mundo (Weiss et al. 1994; Corona, 2018). Es posible que la autocompatibilidad esté genéticamente fijada en los individuos analizados en este estudio, y difieran de los clones de *H. costaricensis* analizados por Weiss y colaboradores (1994). Otra posibilidad es que exista producción de frutos, en cierto grado, gracias a las apomixia, donde no es necesaria la fecundación (ni la polinización) para la fructificación. El contraste en los resultados con respecto a estudios previos también puede ser atribuido a diferencias ambientales en las que se desarrollaron las plantas. De igual forma, cualquiera de estas posibles explicaciones ameritan mayor investigación.

Es importante mencionar que este trabajo comprobó la autocompatibilidad por medio de polinización manual, y que la habilidad de autopolinización natural no fue evaluada. De hecho, es posible que la hercogamia presente dificulte el movimiento del polen de las anteras de las flores de *H. costaricensis* a sus estigmas, por lo que la producción de frutos debe darse por medio de polinización manual o mediada por un vector animal. Lo anterior puede aumentar los costos de producción de frutos y debe tomarse en consideración para la exploración comercial del cultivo. A pesar de lo anterior, existe la posibilidad que las plantas produzcan frutos por apomixia, es decir, la producción de frutos y semillas sin necesidad de polinización y fecundación. Sin embargo, esta posibilidad no fue evaluada en este estudio, y se requiere más investigación para determinar si ocurre este fenómeno.

En cuanto a las características de los frutos, se encontró una variación significativa entre los tratamientos aplicados. Los frutos producidos por la polinización manual cruzada, nocturna, y matutina no difieren entre sí en cuanto a su peso y tamaño (largo y ancho), pero las medidas de estos tratamientos fueron considerablemente mayores que las del tratamiento de autopolinización manual. Esto reafirma que los polinizadores juegan un rol importante en la producción de frutos de mayor calidad y valor comercial para esta especie, ya que el movimiento de polen y el entrecruzamiento incrementaron la calidad de los cultivos. Muniz y colaboradores (2020), encontraron un efecto similar al realizar experimentos con *H. polyrhizus* y *H. undatus* en plantaciones del noreste de Brasil. De hecho, se ha reportado que la polinización mediada por vectores animales puede incrementar la producción de diversos cultivos, ya sea con un aumento en la cantidad o el peso de los frutos (Klein et al., 2003; Ricketts et al., 2004; Rosa et al., 2011; Rizzardo et al., 2012; Milfont et al., 2013).

Lo descrito anteriormente puede ser producto de la endogamia. Se ha observado que la autofecundación puede perjudicar la calidad de cultivos de exportación, al desfavorecer sus características deseables (como el tamaño, la forma o la cantidad de semillas, por mencionar algunos ejemplos) (Chautá-Mellizo et al., 2012). También se ha observado que la polinización cruzada puede favorecer el tamaño de los frutos (Taber & Olmstead, 2016). Es poco probable que el bajo rendimiento en las características de los frutos del tratamiento de autopolinización se pueda explicar por una baja inversión materna en semillas autofecundadas, ya que la densidad de semillas no difirió significativamente entre los dos

tratamientos de polinización manual. Algunos autores atribuyen este fenómeno a depresión endogámica y en menor grado a la heterosis (Charkesworth & Charkesworth, 1999; Waser & Williams, 2001; Chautá-Mellizo et al., 2012); sin embargo, se necesitan más estudios para confirmar estas hipótesis.

Por otro lado, es importante destacar que los resultados de este trabajo sugieren que existe un efecto aditivo en las características de los frutos al exponer las flores tanto a polinización nocturna como matutina, así como a la posibilidad de autofecundación y exocruzamiento. Esto se evidencia en los frutos producidos por el grupo control, que en promedio fueron más grandes y pesados. Para dimensionar este efecto: los frutos producidos por la polinización natural se clasifican como de calibre F según la ficha técnica del cultivo (Municipalidad de Abangares, Gobierno de Costa Rica, 2019), mientras que los frutos producidos por polinización nocturna, matutina o manual cruzada tienen calibre E. Por su parte, los frutos del tratamiento de autopolinización alcanzan apenas el calibre A (Cuadro II). Estas diferencias de clasificación tienen un impacto directo en el precio comercial de las frutas, por lo que el proceso de polinización es un aspecto para considerar en la producción.

Este resultado demuestra la contribución de los polinizadores matutinos, la cual se podrían pasar por alto fácilmente, ya que muchas cactáceas se asocian tradicionalmente con síndromes de polinización nocturna, con polillas y murciélagos como polinizadores principales. Contrario a esta noción, Muniz y colaboradores (2020) reportan la importancia de visitantes matutinos en otras especies de pitahaya, e incluso en su estudio sitúan a *A. mellifera* (una abeja con forrajeo matutino) como el principal polinizador de *H. polyrhizus*, y como polinizador complementario de *H. undatus*. Además, las abejas matutinas se han reportado también como los polinizadores más efectivos de *H. ocamponis* e *H. purpusii* (Corona, 2018). Se ha establecido que polinizadores diurnos más generalistas pueden jugar un papel importante en la polinización de cactáceas de anthesis nocturna, principalmente cuando los polinizadores nocturnos son poco abundantes (Weiss et al., 1994; Le Bellec et al., 2006; Molina-Freaner et al., 2004).

Finalmente, la variación de la densidad de semillas entre los tratamientos aplicados fue más irregular que con las otras mediciones. Se ha reportado que para *H. undatus*, el tipo de polinización no tiene un efecto en la cantidad de semillas (Muniz et al. 2020). En el mismo estudio se indica que, en el caso de *H. polyrhizus*, la cantidad de semillas es mayor cuando las flores son polinizadas por visitantes matutinos como abejas de la miel, lo cual contrasta con los resultados de este proyecto. Las diferencias en las condiciones ambientales, tales como el entorno y la abundancia de visitantes puede explicar las diferencias entre los resultados de ambos estudios. Es importante notar que las mediciones de este proyecto se realizaron con la densidad aproximada de semillas de una porción de los frutos; para obtener resultados más precisos en el futuro, se recomienda utilizar el número total de semillas de los frutos.

Visitantes florales

Observaciones de los visitantes – Los tres sitios de muestreo de este proyecto tienen condiciones ambientales distintas, y pueden verse reflejadas diferencias en los visitantes. La plantación de Curubandé se encuentra cerca del Parque Nacional Rincón de la Vieja, por lo que puede recibir servicios ecosistémicos de los visitantes que habitan esta zona. Esto puede verse reflejado en las abundantes visitas registradas en este sitio, donde no hay un grupo de insectos visitantes que predomine. De hecho, se ha reportado que la polinización por animales silvestres mejora la calidad de los frutos en algunos cultivos comerciales importantes como el café (Ricketts et al., 2004). Además, existen reportes que indican que la producción de algunos frutos comerciales asistida por polinizadores nativos puede aumentar su calidad en comparación con otros polinizadores no nativos (Hoehn et al., 2008; Garibaldi et al., 2013). Por su parte, la plantación de Atenas está rodeada de un ambiente rural, por lo que su producción depende del buen ensamblaje de polinizadores nocturnos y matutinos, que, a pesar de ser menos abundante y diverso, ha demostrado ser efectivo. En este sitio la polinización ocurre principalmente por acción de esfíngidos y abejas matutinas. Finalmente, en la plantación del Salto parece ocurrir un “escenario intermedio” entre los planteados para las dos plantaciones anteriores. Los resultados indican que el polinizador más abundante de este sitio son esfíngidos, y se ven apoyados de manera complementaria por polinizadores nocturnos nativos y abejas matutinas.

Visitas individuales – Los coleópteros (que corresponden al 36% de las visitas registradas) fueron observados caminando principalmente por el perianto de las flores y permaneciendo por largos periodos de tiempo en una misma flor. A pesar que no pueden ser considerados como polinizadores principales en *H. costaricensis*, su comportamiento sugiere que podrían actuar como polinizadores complementarios, ayudando a distribuir el polen por las flores. Potencialmente podrían transportar polen de las anteras a los estigmas de la misma flor, promoviendo la autopolinización. Cabe destacar que los productores indican que algunos pueden ser considerados plaga, ya que dañan los botones, e incluso las flores abiertas, sin embargo, los coleópteros filmados no mostraron comportamientos dañinos para las flores en ninguna ocasión.

Las visitas individuales de himenópteros fueron menos abundantes (18% del total), pero de igual forma es posible que contribuyan en la polinización de la pitahaya *H. costaricensis*. Las abejas carpinteras o chiquizas (género *Xylocopa*) se aferraron a las anteras tratando de moverse a través de los estambres, recogiendo polen. De esta manera, pudieron cargarse de grandes cantidades de polen en su cuerpo y posiblemente depositar estos granos de polen sobre los estigmas, ya que generalmente entraban en contacto con ellos al moverse de flor en flor. Esto posiciona a las abejas *Xylocopa* como polinizadores más eficientes que otros insectos, debido a su tamaño relativamente grande y comportamiento de forrajeo. Weiss y colaboradores (1994) habían mencionado anteriormente el potencial de himenópteros grandes como polinizadores del género *Hylocereus*. Comportamientos similares se observaron en las visitas de las abejas crepusculares (como las del género *Megalopta*, por ejemplo). A pesar de ser más pequeñas que *Xylocopa*, estas abejas mostraron un comportamiento dinámico donde se movían por toda la flor, cargándose de polen; su gran movilidad les permitía viajar entre las flores con frecuencia, lo que puede favorecer la polinización cruzada.

Por otro lado, las abejas del género *Trigona* fueron visitantes abundantes en las flores de la plantación de Atenas. Usualmente forrajeaban en grupos (una especie de enjambre) y tenían comportamientos agresivos contra otros visitantes. Estas abejas acaparaban las flores de pitahaya previo a la antesis (alrededor de las 4:00 p.m.) y perforaban los pétalos para robar el polen de las anteras por dehiscir. Cabe acotar que para este momento los estigmas de *H.*

costaricensis no son receptivos. Considerando a) el daño mecánico que sufren las flores, b) la remoción temprana de polen, y c) el comportamiento agresivo de estos grupos de abejas en contra de otros visitantes, se sugiere que las abejas *Trigona* no son polinizadores importantes de esta especie de pitahaya. Para futuras investigaciones se recomienda observar el comportamiento de estas abejas durante el periodo de antesis, ya que se han reportado como polinizadores efectivos en otros cultivos como calabazas, mango y café (Jaffé et al., 2016).

Con casi 40% del total de las visitas individuales, los esfíngidos se muestran como polinizadores importantes en esta especie de pitahaya. El aleteo constante para intentar entrar y salir de las flores hace que entre en contacto casi inmediato con las abundantes anteras y los estigmas, cargando sus cuerpos con polen. Estos lepidópteros consumen néctar y posiblemente se vean atraídas a las flores por el fuerte aroma que estas despiden. Debido a que no se encontró evidencia de néctar en las flores, se sugiere que este es un caso de polinización por engaño. Adicionalmente, el comportamiento de permanecer relativamente poco tiempo en las flores y probar repetidas veces con la espiritrompa sin quedarse en un sitio para extraer néctar sugiere que de hecho no encontraron ninguna recompensa de néctar.

Los murciélagos no fueron observados visitando las flores de *H. costaricensis* en ninguno de los sitios de muestreo, a pesar que se consideran el polinizador natural de estos cultivos (Weiss et al., 1994; Valiente-Banuet et al., 2007). *H. costaricensis* exhibe características asociadas a síndromes quiropterofílicos como flores robustas y grandes, con antesis nocturna, color blanco y fuertemente aromáticas. Sin embargo, considerando que esta especie no produce néctar, las visitas de murciélagos no deben ser esperadas. Este caso apoya la ya informada discordancia entre los polinizadores predichos y observados en angiospermas basados en síndromes de polinización tradicionales construidos a partir de fenotipos florales (Ollerton et al., 2009; Abrahamczyk et al., 2017; Valverde-Espinoza et al., 2021). Lo anterior refuerza la importancia de realizar estudios de polinización que generen datos específicos para cada especie, especialmente cuando se trata de cultivos de interés comercial con oportunidades de mejora. Para este caso específico, no se consideran los murciélagos como participantes en la polinización, pero su aporte a la producción de cultivos por medio de otros

servicios ecosistémicos, como controladores biológicos por ejemplo, debe ser considerado en futuras investigaciones.

Visitas masivas – El volumen de abejas *Apis mellifera* durante las visitas masivas fue bastante prominente en todos los muestreos. Los productores de la zona de El Salto reportaron diversos incendios en las zonas aledañas a la plantación durante los meses previos a los muestreos, lo que podría explicar la cantidad reducida de abejas encontrada en esta zona, ya que mencionan una disminución de la fauna local visitante al sitio de muestreo.

Al igual que lo observado por Muniz y colaboradores (2019) en *H. polyrhizus* y *H. undatus*, el polen fue el único recurso colectado por las abejas. Para lograr esto, durante el amanecer, los grupos de abejas visitaron las flores simultáneamente haciendo movimientos desordenados y moviéndose rápidamente entre los estambres de las flores. Durante este proceso, cuando aterrizaban o despegaban de las flores, usualmente tocaban el estigma con su cuerpo cargado de polen. En comparación con abejas grandes y menos abundantes como *Xylocopa*, las abejas *A. mellifera* son más pequeñas y ágiles, por lo que se podría pensar que tienen un papel secundario o complementario para este cultivo. Sin embargo, al observar el comportamiento frenético durante las visitas masivas se logró determinar que un número elevado de abejas visitando las flores resulta en una mayor deposición de polen. Esto demuestra que a pesar de su tamaño, el comportamiento colectivo de forrajeo de *A. mellifera* favorece la polinización, debido a la gran abundancia de individuos, y se posicionan como uno de los polinizadores principales de este cultivo. Inclusive, algunos estudios sugieren que la polinización de diversas especies de pitahaya mediada principalmente por abejas pueden producir buenos resultados en términos de producción de fruta de calidad comercial (Weiss et al. 1994; Marques et al. 2011; Muniz et al., 2020). El manejo de *Apis mellifera* en las cercanías o en conjunto a las plantaciones de pitahaya podría incrementar la polinización en esta especie, debido a su gran abundancia y comportamiento en las flores, favoreciendo la producción comercial.

Conclusiones

La biología floral de *Hylocereus costaricensis* en plantaciones comercial posee características deseables que pueden mejorar la producción de frutos, ya que los eventos de floración y antesis así como receptividad estigmática y dehiscencia de anteras poseen una sincronía que maximiza las oportunidades de polinización. Por otro lado, no hay evidencia de producción de néctar durante la antesis. Diferencias entre todas estas características con respecto a poblaciones silvestres son desconocidas y pueden ser estudiadas en el futuro. En este estudio se reporta por primera vez la autocompatibilidad de *H. costaricensis*. La capacidad de autopolinización natural se mantiene desconocida. Además, se determinó que la producción se ve favorecida por la polinización cruzada, ya que posiblemente promueve la heterosis, resultando en frutos de mayor calidad comercial. También se encontró un efecto aditivo de los polinizadores nocturnos y los matutinos, ya que las flores expuestas a ambos periodos de polinización produjeron frutos con características más deseables para el comercio. Finalmente, este estudio describe los posibles polinizadores de *H. costaricensis* y su potencial importancia en la producción comercial. Se descarta la participación de murciélagos en el proceso de polinización, mientras que mariposas nocturnas de la familia Sphingidae, y enjambres matutinos de abejas (principalmente *Apis mellifera*) figuran como los principales polinizadores de esta especie de pitahaya y su presencia debe ser promovida en cultivos. Otros organismos como abejas de géneros como *Xylocopa* y *Megalopta*, así como coleópteros varios figuran como polinizadores secundarios o complementarios.

REFERENCIAS

- Abrahamczyk, S., Lozada-Gobilard, S., Ackermann, M., Fischer, E., Krieger, V., Redling, A., & Weigend, M. (2017). A question of data quality—testing pollination syndromes in Balsaminaceae. *PloS one*, *12*(10), e0186125.
- Bertin, R. I., & Newman, C. M. (1993). Dichogamy in angiosperms. *The Botanical Review*, *59*(2), 112-152.
- Brenes-Prendas, S., Agüero-Alvarado, R., & Rodríguez, A. M. (2006). Distribución espacial y densidad de poblaciones de arroz rojo (*Oryza sativa*) en dos sistemas de labranza. *Agronomía Mesoamericana*, *17*(1), 35-39.
- Britton, N. L., & Rose, J. N. (1963). *The Cactaceae: descriptions and illustrations of plants of the cactus family* (Vol. 3). Courier Corporation.
- Calix de Dios, H., Castillo, M., Rodríguez, C., & Castañeda, C. (2001). El cultivo de la pitahaya en el trópico. *Gobierno del Estado de Tabasco. Instituto Para el Desarrollo de Sistemas de Producción del Trópico Húmedo de Tabasco. Villahermosa, Tabasco, México.*
- Calix de Dios, H., Martínez, R., & Canché, H. (2014). Caracterización de la producción de pitahaya (*Hylocereus* spp.) en la Zona Maya de Quintana Roo, México. *Agroecología*, *9*, 123-132.
- Castillo-Martínez, R., Livera-Muñoz, M. & Márquez-Guzmán, G. J. (2005). Caracterización morfológica y compatibilidad sexual de cinco genotipos de pitahaya (*Hylocereus undatus*). *Agrociencia*, *39*(2), 183-194.
- Centurión-Yah, A., Solís-Pereira, S., Saucedo-Veloz, C., Báez-Sañudo, R., & Sauri-Duch, E. (2008). Cambios físicos, químicos y sensoriales en frutos de pitahaya (*Hylocereus undatus*) durante su desarrollo. *Revista Fitotecnia Mexicana*, *31*(1), 1-1.

- CharKesworth, B., & CharKesworth, D. (1999). The genetic basis of inbreeding depression. *Genetics Research*, 74(3), 329-340.
- Chang, F., Yen, C., Chen, Y., & Chang, L. (1997). Flowering and fruit growth of pitaya (*Hylocereus undatus* Britt. & Rose). *Taichung District Agricultural Improvement Station, Annual Report*, 38, 293-299.
- Chautá-Mellizo, A., Campbell, S. A., Bonilla, M. A., Thaler, J. S., & Poveda, K. (2012). Effects of natural and artificial pollination on fruit and offspring quality. *Basic and Applied Ecology*, 13(6), 524-532.
- Corona, C. (2018). *Biología reproductiva de Hylocereus ocamponis e H. purpusii (Cactaceae)* [Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias en Biosistemática y Manejo de Recursos Naturales y Agrícolas]. Universidad de Guadalajara.
- Fenster, C., Armbruster, W., Wilson, P., Dudash, M., & Thomson, J. (2004). Pollination syndromes and floral specialization. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 35, 375-403.
- Fleming, T., Geiselman, C., & Kress, W. (2009). The evolution of bat pollination: a phylogenetic perspective. *Annals of Botany*, 104(6), 1017-1043.
- Flores-Martínez, A., Manzanero, G., Golubov, J., & Mandujano, M. (2013). Biología floral de *Mammillaria huitzilopochtli*, una especie rara que habita acantilados. *Botanical Sciences*, 91(3), 349-356.
- Frankel, R., & Galun, E. (2012). *Pollination mechanisms, reproduction, and plant breeding* (Vol. 2). Springer Science & Business Media.
- Garibaldi, L., Steffan-Dewenter, I., Winfree, R., Aizen, M., Bommarco, R., Cunningham, S. A., ... & Bartomeus, I. (2013). Wild pollinators enhance fruit set of crops regardless of honeybee abundance. *Science*, 339(6127), 1608-1611.

- Haber, W. A. (1983). W. A. (1983). *Hylocereus costaricensis* (pitahaya silvestre), wild pitahaya. En Janzen, D.H. (Ed.), *Costa Rican Natural History* (252-253 pp). University of Chicago Press.
- Hanson, P., Fernández-Otárola, M., Lobo-Segura, J., Gordon, F., Coville, R., Aguilar-Monge, I., Acuña-Cordero, M. & Herrera-González, E. (2021). Abejas de Costa Rica. Editorial UCR.
- Hoehn, P., Tschardtke, T., Tylianakis, J., & Steffan-Dewenter, I. (2008). Functional group diversity of bee pollinators increases crop yield. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 275(1648), 2283-2291.
- Holdridge, L. R. (1967). Life Zone Ecology, Revised Edition., Centro Científico Tropical, San José, Costa Rica.
- Jaffé, R., Castilla, A., Pope, N., Imperatriz-Fonseca, V., Metzger, J., Arias, M., & Jha, S. (2016). Landscape genetics of a tropical rescue pollinator. *Conservation Genetics*, 17(2), 267-278.
- Klein, A. M., Steffan-Dewenter, I., & Tschardtke, T. (2003). Bee pollination and fruit set of *Coffea arabica* and *C. canephora* (Rubiaceae). *American Journal of Botany*, 90(1), 153-157.
- Klein, A., Vaissiere, B. , Cane, J., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S., Kremen, C., & Tschardtke, T. (2006). Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 274(1608), 303-313.
- Le Bellec, F., Vaillant, F., & Imbert, E. (2006). Pitahaya (*Hylocereus* spp.): a new fruit crop, a market with a future. *Fruits*, 61(4), 237-250.
- Lu, Y. (2002). Why is cleistogamy a selected reproductive strategy in *Impatiens capensis* (Balsaminaceae)?. *Biological Journal of the Linnean Society*, 75(4), 543-553.

- Mandujano, M., Carrillo-Angeles, I., Martínez-Peralta, C., & Globulov, J. (2010). Reproductive biology of Cactaceae. En Ramawat, K. (Ed), *Desert plants* (pp. 197-230). Springer-Verlag Berlin.
- Marques, V., Moreira, R., Ramos, J., Araújo, N., & Silva, F. (2011). Fenologia reprodutiva de pitaia vermelha no município de Lavras, MG. *Ciência Rural*, *41*, 984-987.
- Medan, D., & Basilio, A. (2001). Reproductive biology of *Colletia spinosissima* (Rhamnaceae) in Argentina. *Plant Systematics and Evolution*, *229*(1), 79-89.
- Milfont, M., Rocha, E., Lima, A., & Freitas, B. (2013). Higher soybean production using honeybee and wild pollinators, a sustainable alternative to pesticides and autopollination. *Environmental Chemistry Letters*, *11*(4), 335-341.
- Mizrahi, Y., Nerd, A., & Nobel, P. (1997). Cacti as crops. *Hort. Rev.*, *18*, 291-320.
- Mizrahi, Y., Nerd, A., & Sitrit, Y. (2002). New fruits for arid climates. *Trends in new crops and new uses*. ASHS Press, Alexandria, VA, 378-384.
- Molina-Freaner, F., Rojas-Martínez, A., Fleming, T., & Valiente-Banuet, A. (2004). Pollination biology of the columnar cactus *Pachycereus pecten-aboriginum* in north-western México. *Journal of Arid Environments*, *56*(1), 117-127.
- Municipalidad de Abangares. 2019. *Proyecto Pitahaya: ficha técnica*. Gobierno de Costa Rica. <https://www.abangares.go.cr/index.php/mn-gestionmunicipal/descubre-abangares/proyecto-pitaya>
- Muniz, J., Bomfim, I., Corrêa, M., & Freitas, B. (2019). Floral biology, pollination requirements and behavior of floral visitors in two species of pitaya. *Revista Ciência Agronômica*, *50*, 640-649.
- Muniz, J., Bomfim, I., Corrêa, M., & Freitas, B. (2020). Complementary bee pollination maximizes yield and fruit quality in two species of self-pollinating pitaya. *Revista Ciência Agronômica*, *51*(4).

- Nerd, A., & Mizrahi, Y. (1997). Reproductive biology of cactus fruit crops. *Horticultural Reviews*, 18, 321-346.
- Ollerton, J., Alarcón, R., Waser, N., Price, M., Watts, S., Cranmer, L., ... & Rotenberry, J. (2009). A global test of the pollination syndrome hypothesis. *Annals of Botany*, 103(9), 1471-1480.
- Osuna-Enciso, T., Valdez-Torres, J., Sañudo-Barajas, J., Muy-Rangel, M., Hernández-Verdugo, S., Villarreal-Romero, M. & Osuna-Rodríguez, J. (2016). Reproductive phenology, yield and fruit quality of pitahaya (*Hylocereus undatus* (How.) Britton and Rose) in Culiacan Valley, Sinaloa, Mexico. *Agrociencia*, 50(1), 61-78.
- Pushpakumara, D., Gunasena, H., & Karyawasam, M. (2005). Flowering and fruiting phenology, pollination vectors and breeding system of dragon fruit (*Hylocereus* spp.). *Sri Lankan Journal of Agricultural Science*, 42, 81-91.
- R Core Team. 2016. R: a language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.
- Rech, A., Agostini, K., Oliveira, P., & Machado, I. (Eds.). (2014). *Biologia da polinização* (p. 524). Rio de Janeiro: Projecto Cultural.
- Ricketts, T., Daily, G., Ehrlich, P., & Michener, C. (2004). Economic value of tropical forest to coffee production. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(34), 12579-12582.
- Rizzardo, R., Milfont, M., Silva, E., & Freitas, B. (2012). *Apis mellifera* pollination improves agronomic productivity of anemophilous castor bean (*Ricinus communis*). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 84, 1137-1145.
- Rocha, E., Domingos-Melo, A., Zappi, D., & Machado, I. (2019). Reproductive biology of columnar cacti: are bats the only protagonists in the pollination of *Pilosocereus*, a typical chiropterophilous genus? *Folia Geobotanica*, 54(3), 239-256.

- Rosa, A., Blochtein, B., & Lima, D. (2011). Honey bee contribution to canola pollination in Southern Brazil. *Scientia Agricola*, 68, 255-259.
- Rosas-Guerrero, V., Aguilar, R., Martén-Rodríguez, S., Ashworth, L., Lopezaraiza-Mikel, M., Bastida, J., & Quesada, M. (2014). A quantitative review of pollination syndromes: do floral traits predict effective pollinators? *Ecology Letters*, 17(3), 388-400.
- Schlumpberger, B. (2010). A survey on pollination modes in cacti and a potential key innovation. En Patiny, S. (Ed), *Evolution of plant-pollinator relationships* (pp. 301-319). Cambridge University Press, London.
- Schoen, D., & Lloyd, D. (1984). The selection of cleistogamy and heteromorphic diaspores. *Biological Journal of the Linnean Society*, 23(4), 303-322.
- Sedgley, M., & Griffin, A. (2013). *Sexual reproduction of tree crops*. Londres: Academic Press, Inc.
- Sundriyal, M., & Sundriyal, R. C. (2004). Wild edible plants of the Sikkim Himalaya: nutritive values of selected species. *Economic Botany*, 58(2), 286.
- Taber, S. K., & Olmstead, J. W. (2016). Impact of cross-and self-pollination on fruit set, fruit size, seed number, and harvest timing among 13 southern highbush blueberry cultivars. *HortTechnology*, 26(2), 213-219.
- Valiente-Banuet, A., Gally, R., Arizmendi, M., & Casas, A. (2007). Pollination biology of the hemiepiphytic cactus *Hylocereus undatus* in the Tehuacán Valley, Mexico. *Journal of Arid Environments*, 68(1), 1-8.
- Valverde-Espinoza, J., Chacón-Madrigal, E., Alvarado-Rodríguez, O., & Dellinger, A. (2021). The predictive power of pollination syndromes: Passerine pollination in heterantherous *Meriania macrophylla* (Benth.) Triana (Melastomataceae). *Ecology and evolution*.

Valverde, P., Jiménez-Sierra, C., López-Ortega, G., Zavala-Hurtado, J., Rivas-Arancibia, S., Rendón-Aguilar, B., ... & Carrillo-Ruiz, H. (2015). Floral morphometry, anthesis, and pollination success of *Mammillaria pectinifera* (Cactaceae), a rare and threatened endemic species of Central Mexico. *Journal of Arid Environments*, 116, 29-32.

Waser, N. M., & Williams, C. F. (2001). Inbreeding and outbreeding. *Evolutionary ecology: concepts and case studies*, 84-96.

Weiss, J., Nerd, A., & Mizrahi, Y. (1994). Flowering behavior and pollination requirements in climbing cacti with fruit crop potential. *Horticultural Science*, 29(12), 1487-1492.

Xu, K., & Servedio, M. (2021). The evolution of flower longevity in unpredictable pollination environments. *Journal of Evolutionary Biology*, 34(11), 1781-1792.

ANEXOS

ANEXO 1. Hora de inicio de las diferentes etapas del proceso de antesis floral en los diferentes sitios.

| Etapa | Sitio | Hora promedio (± desv. est) (min:s) | n |
|--------------------------|--------------|--|----------|
| Inicio de la antesis (1) | Todos | 6:31 p.m. (±15:49) | 345 |
| | Curubandé | 6:34 p.m. (±18:16) | 55 |
| | Plancillo | 6:29 p.m. (±15:44) | 200 |
| | El Salto | 6:35 p.m. (±13:10) | 90 |
| Flor extendida (2) | Todos | 7:45 p.m. (±15:44) | 345 |
| | Curubandé | 7:56 p.m. (±06:26) | 55 |
| | Plancillo | 7:39 p.m. (±16:45) | 200 |
| | El Salto | 7:50 p.m. (±11:41) | 90 |
| Marchitamiento (3) | Todos | 6:41 a.m. (±18:29) | 325 |
| | Curubandé | 6:31 a.m. (±19:51) | 52 |
| | Plancillo | 6:42 a.m. (±17:36) | 184 |
| | El Salto | 6:45 a.m. (±17:43) | 89 |

ANEXO 2. Duración de cada etapa de la antesis para los diferentes sitios de muestreo.

| Etapa | Sitio | Duración promedio (± desv. est) (min:s) | n |
|-----------------------|--------------|--|----------|
| Tiempo en alcanzar la | Todos | 01:13:00 (±18:22) | 345 |
| apertura floral | Curubandé | 01:21:33 (±19:57) | 55 |
| completa | Plancillo | 01:11:00 (±18:23) | 200 |
| (1-2) | El Salto | 01:15:03 (±15:50) | 90 |
| Tiempo de apertura | Todos | 10:55:00 (±24:31) | 345 |
| floral completa hasta | Curubandé | 10:35:29 (±22:02) | 55 |
| el marchitamiento | Plancillo | 11:00:52 (±23:38) | 200 |
| (2-3) | El Salto | 10:54:53 (±21:48) | 90 |
| Tiempo de antesis | Todos | 12:09:00 (±24:33) | 325 |
| total hasta el | Curubandé | 11:56:15 (±29:05) | 52 |
| marchitamiento | Plancillo | 12:12:22 (±23:03) | 184 |
| (1-3) | El Salto | 12:09:57 (±22:25) | 89 |