

**UNIVERSIDAD VERACRUZANA
CENTRO DE INVESTIGACIONES TROPICALES**



**BIOLOGÍA FLORAL Y REPRODUCTIVA DE *Tillandsia heterophylla* Y
Tillandsia macropetala (BROMELIACEAE), EN EL MUNICIPIO DE
SAN ANDRÉS TLALNELHUAYOCAN, EN LA REGIÓN CENTRAL
DE VERACRUZ, MÉXICO.**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN ECOLOGÍA TROPICAL

PRESENTA

PEDRO ADRIÁN AGUILAR RODRÍGUEZ

Comité tutorial:

Dra. María Cristina Mac Swiney González

Dr. Thorsten Krömer

Dr. José Guadalupe García Franco

XALAPA, VERACRUZ

FEBRERO 2013

DERECHOS DE AUTOR

Declaro que la tesis de maestría titulada “Biología floral y reproductiva de *Tillandsia heterophylla* y *Tillandsia macropetala* (Bromeliaceae), en el municipio de San Andrés Tlalnahuayocan, en la región central de Veracruz, México” es de mi propiedad y autoría, excepto los trabajos aquí citados como referencias. Esta obra no ha sido registrada anteriormente para que yo obtuviera un grado académico previo.

Pedro Adrián Aguilar Rodríguez
Candidato

Febrero 2013

ACTA DE APROBACIÓN DE TESIS

El siguiente documento “Biología floral y reproductiva de *Tillandsia heterophylla* y *T. macropetala* (Bromeliaceae), en el municipio de San Andrés Tlaxnelhuayocan, en la región central de Veracruz, México” realizado por Pedro Adrián Aguilar Rodríguez, ha sido aprobado y aceptado como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ecología Tropical.

Comité tutorial

Dra. María Cristina MacSwiney González

Dr. Thorsten Krömer

Dr. José Guadalupe García Franco

Jurado

Dr. Gustavo Carmona Díaz

Dr. Noé Velázquez Rosas

Dr. Vinicio Sosa Fernández

DEDICATORIA

Siendo este el primer escrito de este tipo que he realizado, la dedicatoria que le adjunto me parece una forma idónea para mostrar indeleblemente la importancia de la gente que me ha apoyado a lo largo de toda mi vida. Dedico no el trabajo en sí, si no el esfuerzo que éste representa.

A mis padres por lo que han hecho por mí. No puedo escribir lo suficiente para agradecerles. También a mi hermana, a mis abuelos, especialmente a la que aún está conmigo, así como al resto de mi familia, tíos y primos, que me ayudaron cuando lo necesitaba.

A Evy por la ayuda y los ánimos, así como las ideas que surgieron al hablar contigo. Sabes lo importante que eres para mí...*Ab imo pectore.*

A mis amigos, nuevos y antiguos, que aunque sean contados, me han ayudado a lo largo de mi vida. Especialmente a aquellos que se volvieron biólogos conmigo, cuatro años haciendo equipos y escritos, ideando y forjando grupos de trabajo incansables... recuerden que “¡Ésa...es la actitud!”

Además, a todos los maestros que he tenido en mi vida, buenos y malos, que me han ayudado a llegar a este punto.

En el mundo científico todo es exacto y hay poco espacio para lo no esencial, pero a veces lo que parece ser superfluo no lo es. Todo debe ser observado, y no olvidar que la biología, como ciencia, tuvo su origen en observadores de la naturaleza, naturalistas con imaginación. ¡Vivan las suposiciones informadas! Ya que hice casi toda esta tesis durante la noche –observando, grabando, leyendo y escribiendo- y me he vuelto aficionado a trabajar en la noche, solo puedo decir que, como los murciélagos, *Carpe noctem...*

“...a las personas mayores...les gustan las cifras sobre todas las cosas... Son así y no hay porqué guardarles rencor. Los niños deben ser muy indulgentes con las personas mayores. Pero nosotros, que sabemos comprender la vida, nos burlamos tranquilamente de los números. “

“-Tengo también una flor.

-De las flores no tomamos nota.

-¿Por qué? ¡Son lo más bonito!

-Porque las flores son efímeras.

-¿Qué significa “efímera?”

-Significa que está amenazado de próxima desaparición.

-¿Mi flor está amenazada de desaparecer próximamente?

-Indudablemente.

-Mi flor es efímera,-se dijo el principito- y no tiene más que cuatro espinas para defenderse contra el mundo. ¡Y la he dejado sola allá! Por primera vez se arrepintió de haber dejado su planeta...”

El Pincipito (*Le Petit Prince*, 1943), Antoine de Saint-Exupéry.

AGRADECIMIENTOS

Todo trabajo de investigación requiere de personas que ayuden a llevar a término una idea y un diseño. Gracias a todos...

Quisiera primero agradecer a mis tutores, los doctores Cristina, Thorsten y Pepe, por su ayuda y apoyo, así como sus valiosas contribuciones y sugerencias al siempre cambiante manuscrito de esta tesis, y su paciencia hacia mi modo de escribir. Particularmente, al Dr. Thorsten por sus observaciones que derivaron en la hipótesis que se convirtió en el eje de esta tesis, y a la Dra. Cristina por su constante apoyo, que se extendió más allá de lo necesario. Gracias también a los lectores de mi manuscrito, los doctores Gustavo, Noé y Vinicio, por sus sugerencias y consejos de último momento.

También debo agradecer a Anina K. Knauer y a su tutor, el Dr. Michael Kessler. Sin el apoyo de Anina esta tesis no hubiera resultado lo que es. Aunque tuvimos nuestras diferencias, considero que el tiempo en el que hicimos equipo fue crucial para este trabajo.

Gracias a la Sra. Rocío Sagaón, a la Sra. Luz María Ordiales, al Sr. Aníbal Silva Ayala, al Sr. Jonathan Odd, a la gente que trabaja en “Los Capulines”, así como a la Biól. Madian Rivera, por permitirme trabajar en sus terrenos y obtener las plantas necesarias para el trabajo. Gracias al Biól. Jorge Gómez, al Dr. Juan Manuel Pech, y la Biól. Grecia Benítez por su ayuda en el campo, y a Zuemy Vallado por también vigilar y regar mis plantas.

También debo reconocer la gran ayuda que me brindaron Emmanuel Solís y Lilia Ruíz con las fotografías y ediciones de los videos. Además, a la colaboración que me brindaron Isaías Siliceo Murrieta (UV), el M. en C. Alvar González Christen, el Biól. Rolando Arboleda Sánchez (IIB-UV), el Dr. Alberto González Romero (INECOL, A.C.), la MVZ Mariemma Escorcía, el Dr. Andrew P. Vovides y Sonia Galicia Castellanos (Laboratorio de biología Evolutiva de Cycadales, INECOL A. C.).

Finalmente, gracias a mis compañeros y maestros de la maestría, que me ayudaron al conversar conmigo y hacerme sugerencias, así como al CITRO-UV, donde se me recibió para llevar a cabo esta tesis.

Este estudio fue financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT, número de beca 59406) y contó con un permiso de colecta otorgado por la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales.

RESUMEN

Tillandsia heterophylla E. Morren y *T. macropetala* Wawra son dos especies de bromelias epífitas que habitan en el bosque mesófilo de montaña y acahuales del centro de Veracruz. Ambas especies tienen características florales que se asocian típicamente a polinizadores nocturnos, pero sus antesis son crepusculares y se prolongan durante toda la noche hasta el siguiente día, lo que también ofrece la posibilidad a visitantes diurnos de polinizarlas. Información previa sobre el néctar de ambas especies indica que la composición de azúcares disueltos y la concentración de los mismos son las esperadas en bromelias polinizadas por murciélagos. La hipótesis fue que los visitantes florales, en particular los murciélagos, serían los polinizadores efectivos. Para determinarlo, se realizaron observaciones directas de visitantes diurnos, grabaciones con cámara infrarroja de nocturnos y trampeo con redes de niebla. Se determinó el sistema reproductivo de las bromelias y la efectividad de visitantes mediante experimentos de exclusión de polinizadores. Además, se estudió el néctar, la duración de la receptividad del estigma y de la presentación del polen. *T. heterophylla* es una especie autocompatible, que no presenta diferencias en el número de semillas por fruto producidas por visitas de animales diurnos o nocturnos. Por el contrario *T. macropetala*, aunque también autocompatible, sólo produce frutos por las visitas de animales nocturnos. En ambas bromelias, el murciélago *Anoura geoffroyi* fue el visitante más frecuente, seguido por colibríes e insectos, pero en el caso de *T. macropetala*, este murciélago constituye el único polinizador. Ampliar la antesis a un horario diurno le ha brindado a *T. heterophylla* nuevos polinizadores, sin embargo, la vida funcional de la flor se inicia en la noche, por lo que los polinizadores nocturnos probablemente tengan mayor efectividad en la polinización. Para *T. macropetala*, los visitantes diurnos representan ladrones de néctar, pero es posible que los cambios en la abundancia y conducta de los visitantes, en el tiempo y en el espacio, modifiquen su efectividad en la polinización. Se requiere el realizar estudios más largos en otras localidades donde estas especies habiten, utilizando distintos indicadores del éxito reproductivo para evaluar de forma más apropiada la efectividad de la polinización.

ÍNDICE

		Página
Capítulo 1	Introducción general	
1	Introducción.....	2
1.2	Antecedentes y marco teórico.....	6
1.2.1	Polinización, síndromes florales y especialización.....	6
1.2.2	Generalización, efectividad y síndromes bimodales.....	9
1.2.3	Polinización en bromelias.....	16
1.2.4	Murciélagos como polinizadores de bromelias.....	18
1.2.5	El caso de <i>T. heterophylla</i> y <i>T. macropetala</i>	21
1.3	Pregunta de investigación.....	23
1.4	Hipótesis.....	23
1.5	Objetivos.....	25
Capítulo 2	Biología floral y reproductiva de <i>Tillandsia heterophylla</i>	
2	Introducción.....	27
2.1	Métodos.....	29
2.1.1	Sitio de estudio.....	29
2.1.2	Especie de estudio.....	30
2.1.3	Fenología y antesis floral.....	32
2.1.4	Sistema reproductivo y efectividad de visitantes.....	33
2.1.5	Tasa de producción y concentración de néctar.....	35
2.1.6	Observación y grabación de visitantes florales.....	36
2.2	Resultados.....	39
2.2.1	Fenología y antesis floral.....	39
2.2.2	Sistema reproductivo y efectividad de visitantes.....	39
2.2.3	Tasa de producción y concentración de néctar.....	41
2.2.4	Observación y grabación de visitantes florales.....	42
2.2.4.1	Visitantes nocturnos.....	42
2.2.4.2	Visitantes diurnos.....	44
2.3	Discusión.....	46
Capítulo 3	Biología floral y reproductiva de <i>Tillandsia macropetala</i>	
3	Introducción.....	56
3.1	Métodos.....	59
3.1.1	Sitio de estudio.....	59
3.1.2	Especie de estudio.....	61
3.1.3	Fenología y antesis floral.....	63
3.1.4	Sistema reproductivo y efectividad de visitantes.....	65
3.1.5	Tasa de producción y concentración de néctar.....	68

3.1.5	Observación y grabación de visitantes florales.....	69
3.2	Resultados.....	72
3.2.1	Fenología y antesis floral.....	72
3.2.2	Sistema reproductivo y efectividad de visitantes.....	73
3.2.3	Tasa de producción y concentración de néctar.....	75
3.2.4	Observación y grabación de visitantes florales.....	76
3.2.4.1	Visitantes nocturnos.....	77
3.2.4.2	Visitantes diurnos.....	79
3.3	Discusión.....	82
Capítulo 4	Consumo de polen de <i>Tillandsia macropetala</i> por ratones...	92
Capítulo 5	Discusión general.....	100
Literatura citada	108
Curriculum Vitae	131

LISTA DE FIGURAS

	Página
Mapa que muestra el sitio de estudio en el municipio de San Andrés	30
2.1 Tlalnelhuayocan	
Imagen de: A) individuo y flor de <i>Tillandsia heterophylla</i> ; B) flor de <i>T.</i>	31
2.2 <i>heterophylla</i> con un corte longitudinal	
Volumen en µl (barras) y concentración de azúcares ° Brix (línea) producido en	42
2.3 las flores de <i>T. heterophylla</i>	
Mapa que muestra los dos sitios de estudio en el municipio de San Andrés	61
3.1 Tlalnelhuayocan	
Imagen de: A) individuo y flor de <i>Tillandsia macropetala</i> ; B) flor de <i>T.</i>	62
3.2 <i>macropetala</i> con un corte longitudinal.	
Volumen en µl (barras) y concentración de azúcares ° Brix (línea) producido en	76
3.3 las flores de <i>T. macropetala</i> .	
Imagen de: A) grano de polen acetolizado; B) grano de polen obtenido del	77
3.4 pelaje de <i>A. geoffroyi</i> .	
3.5 Imagen de: murciélago haciendo contacto con <i>T. macropetala</i> durante su visita	79
Estructuras florales de <i>T. macropetala</i> , comparando una flor no comida con	95
4.1 aquellas que sí.	
4.2 <i>Peromyscus</i> sp. alimentándose de las anteras de <i>T. macropetala</i> .	96

LISTA DE TABLAS

	Página
Resultados de los tratamientos de polinización realizados a las flores de <i>T.</i>	
2.1 <i>heterophylla</i> para determinar el sistema reproductivo.	40
Resultados de los tratamientos de polinización de <i>T. heterophylla</i> realizados	
2.2 para determinar la efectividad de los polinizadores.	40
Principales visitantes florales de <i>T. heterophylla</i> registrados durante la	
2.3 observación con cámaras de video y la observación directa.	46
Resultados de los tratamientos de polinización realizados a las flores de <i>T.</i>	
3.1 <i>macropetala</i> para determinar el sistema reproductivo.	73
Resultados de los tratamientos de polinización de <i>T. macropetala</i> para	
3.2 determinar la efectividad de los polinizadores.	74
Principales visitantes florales de <i>T. macropetala</i> registrados durante la	
3.3 observación con cámaras de video y la observación directa.	81

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN GENERAL

1 INTRODUCCIÓN

Las plantas con flor, o angiospermas, utilizan distintos sistemas para lograr su reproducción sexual, misma que se inicia con la **polinización**. Ésta es la transferencia del gametofito masculino (el polen) al estigma de la flor (Kearns e Inouye 1993), y la **biología floral** implica “cómo las flores funcionan para promover la polinización y el apareamiento” (Lloyd y Barret 1996). El **sistema reproductivo** de una planta (todos los aspectos de la expresión sexual que afectan la contribución genética a la siguiente generación; Kearns e Inouye 1993) está determinado por dos componentes: la expresión sexual (la presencia de las funciones masculinas y femeninas en una flor y/o individuo) y el **sistema de apareamiento** (el grado de autoincompatibilidad o el nivel de entrecruzamiento; Quesada *et al.* 2009).

Los **sistemas de polinización** de las angiospermas varían, pero en general, la mayoría usa animales como vectores de polen (Wilmer 2011). La **ecología de la polinización** estudia todos los procesos que intervienen en ésta (Carranza-Quiceno y Estévez-Varón 2008), incluyendo la identidad de los distintos polinizadores.

Los **síndromes de polinización** son un conjunto de características florales que se consideran adaptaciones para atraer y emplear a distintos animales como polinizadores (Faegri y van der Pijil 1979; Fenster *et al.* 2004; Fumero-Cabán y Meléndez-Ackerman 2007; Schmid *et al.* 2011a; Wilmer 2011). Tradicionalmente, estas características han sido usadas para inferir los polinizadores de las flores, pero en la actualidad se ha cuestionado su utilidad (ver Wilmer 2011). No todos los **visitantes florales** (en su término más amplio, cualquier animal que llegue a la flor; Schmid *et al.* 2011b) pueden ser polinizadores legítimos, es decir, aquellos que llevan a cabo la polinización al visitar la flor (Wilmer 2011). Por esto, es importante discernir cuál es la efectividad de los distintos visitantes florales. La **efectividad** en la polinización se entiende como una medida de la contribución

de la visita de un visitante a la reproducción de la planta (Kearns e Inouye 1993; Fumero-Cabán y Meléndez-Ackerman 2007).

Bromeliaceae es una familia botánica que se encuentra casi exclusivamente en el Neotrópico (excepto por *Pitcairnia feliciana*, que es africana). Según Givinish *et al.* (2011), la familia posee cerca de 3,140 especies en 58 géneros, y cerca del 50% de estas especies son de hábito epífita (Benzing 2000). Las epífitas es un grupo conformado por organismos cuyo ciclo de vida se desarrolla íntegramente sobre o dentro de los tejidos muertos exteriores de otras plantas, sin obtener agua o nutrientes de tejidos vivos (Slak 1976; Benzing 1990). En esta familia predomina la polinización de animales, particularmente por aves (Ornitofilia; Carranza-Quiceno y Estévez-Varón 2008), pero también se ha reportado la polinización por murciélagos y una variedad de insectos, e incluso existen taxa autógamos (Gardner 1986; Till 1992; Kessler y Krömer 2000; Van Dulmen 2001). En la región central de Veracruz se localizan tres géneros principales de bromeliáceas epífitas: *Aechmea*, *Catopsis* y *Tillandsia* (Hietz y Hietz-Seifert 1994; Espejo-Serna *et al.* 2005). *Tillandsia* es el género más diverso, con 91 especies, de éstas, 12 son endémicas del estado. Veracruz ocupa el tercer lugar en riqueza de especies del género después de Oaxaca y Chiapas (Espejo-Serna *et al.* 2004).

Las investigaciones ecológicas en las bromelias epífitas se ha centrado en aspectos de ecología de poblaciones y de distribución, pero los aspectos reproductivos y la interacción con otras especies (incluyendo los polinizadores de bromelias no ornitófilas) son menos conocidas (Carranza-Quiceno y Estévez-Varón 2008). Además, la información sobre los sistemas reproductivos en esta familia aún es escasa (pero ver Matallana *et al.* 2010).

Tillandsia heterophylla E. Morren y *Tillandsia macropetala* Wawra son dos especies de bromelias epífitas, del complejo *Tillandsia viridiflora*, que se localizan en el bosque mesófilo de montaña (BMM) y en ambientes perturbados de la región central de Veracruz. La bromelia *T. heterophylla* ha sido estudiada en trabajos de distinta índole. Por ejemplo, algunos trabajos la incluyen en inventarios florísticos (Hietz y Hietz-Seifert 1995; Espejo-

Serna *et al.* 2004; García-Franco *et al.* 2008; García-Franco y Toledo-Aceves 2008), guías y estudios taxonómicos (Espejo-Serna *et al.* 2005; Stefano *et al.* 2007; Cach-Pérez 2008; Krömer *et al.* 2012), reportes de fauna asociada a esta especie (Larson y Frank 2000; Hernández-Sánchez y García-Franco 2006; Flores-Palacios y Valencia-Díaz 2007), pero hasta ahora no se ha estudiado su biología floral, y en particular la ecología de la polinización (la fenología, antesis, fauna de visitantes, etc.).

Recientemente, con el trabajo de Krömer *et al.* (2012), se ha distinguido a *T. macropetala* como una especie diferente a *T. viridiflora* (Beer) Baker, con la cual es simpátrica. Por lo anterior, las citas de trabajos con *T. viridiflora* en realidad incluyen a una o a ambas especies según los sitios en los que se realizaron los estudios. Tampoco es conocida la biología floral o la ecología de polinización de esta especie.

Ambas especies de bromelias presentan características florales que pueden ser asociadas al síndrome de polinización para murciélagos, o quiropterofilia: antesis crepuscular, pétalos blancos, néctar diluido rico en hexosas (Tschapka y Dressler 2002; Krömer *et al.* 2008; Fleming *et al.* 2009). No obstante, algunas de estas características también se pueden asociar a flores que atraen a polillas o falenofilia/esfingofilia (von Helversen y Winter 2003; Wilmer 2011). Además, ambas especies de bromelias tienen flores que permanecen abiertas hasta el día siguiente, lo que puede permitir que polinizadores diurnos lleguen a sus flores.

Las epífitas, como estas bromelias, son uno de los componentes más importantes del dosel del BMM, en lo que se refiere a la riqueza de especies y a su papel ecológico, (Rzedowski 1978; Hietz y Hietz-Seifert 1995; Flores-Palacios y García-Franco 2001). El BMM es un ecosistema que se encuentra en climas húmedos de altura, y es caracterizado por las frecuentes neblinas y humedad atmosférica (Rzedowski 2006). Por lo común tiene varios estratos arbóreos, siendo *Liquidambar*, *Quercus* y *Fagus* algunos de los elementos característicos de esta vegetación (Rzedowski 2006). Aunque ocupa sólo entre el 0.5 y 1% del territorio nacional (ca. 10,000-20,000 km²; Challenger 1998), el BMM es el ecosistema

más diverso por unidad de área en México (Rzedowski 1996), y contribuye con cerca del 10% a la diversidad vegetal de país, contando además con un alto porcentaje de endemismos (Rzedowski 1993). Del conjunto aproximado de 7,008 taxa de flora vascular calculado para Veracruz, un número de endemismos de 141 taxa -el 2% del total- se encuentra en este ecosistema (Castillo *et al.* 2005).

El BMM presenta la tasa de deforestación más alta entre los bosques tropicales (Doumenge *et al.* 1995; Aldrich *et al.* 2000). En el centro de Veracruz, México, está representado por remanentes inmersos en un paisaje compuesto por una matriz de campos agrícolas, potreros, cafetales y asentamientos humanos (Williams-Linera 1993). En esta zona, sólo queda 10% de la cobertura original, debido principalmente al crecimiento desordenado de las actividades antropogénicas (Williams-Linera 2007).

Ya que aún no se ha determinado el sistema reproductivo o identificado a los visitantes florales de *T. heterophylla* y *T. macropetala*, en el presente trabajo se describirá la biología floral y reproductiva de estas plantas, para determinar si ambas especies son autocompatibles y qué animales constituyen sus polinizadores efectivos. Esto servirá para obtener una mayor comprensión del papel ecológico que desempeñan estas plantas en el ecosistema del BMM y la importancia que tiene esta interacción para el ciclo biológico de las plantas, así como la importancia de éstas como un recurso para sus visitantes florales.

En el Capítulo 1 se exponen los antecedentes y el marco teórico general sobre la polinización, efectividad de polinizadores, especialización y generalización en la polinización; posteriormente los temas se centran en las bromelias como grupo y en las dos especies del presente estudio. En el Capítulo 2 del presente documento se aborda la parte del estudio que corresponde a *Tillandsia heterophylla*, y en el Capítulo 3 a *Tillandsia macropetala*, cada uno con sus respectivos resultados. El Capítulo 4 reporta un registro de la grabación del consumo de polen de *T. macropetala* por un roedor silvestre durante el tiempo en que se realizaron los tratamientos de polinización y grabaciones de visitantes de esta bromelia, siendo el primer registro de esta conducta en un roedor en vida libre.

Finalmente, en el Capítulo 5 se presenta una breve discusión de los resultados obtenidos entre las dos especies de bromelias.

1.2 ANTECEDENTES Y MARCO TEÓRICO

1.2.1 Polinización, síndromes florales y especialización

La polinización es entendida como el proceso mediante el cual el polen es transferido de un órgano sexual masculino a uno femenino (Kearns e Inouye 1993), para lograr por medio de esto la fecundación de los óvulos (Carranza-Quiceno y Estévez-Varón 2008). La ecología de la polinización incluye todos los procesos que intervienen en la reproducción de una planta, como el tiempo y la época de floración, los visitantes florales, los polinizadores y el transporte del polen por vectores bióticos y abióticos (Carranza-Quiceno y Estévez-Varón 2008), así como los factores ambientales que influyen en la conducta y germinación del polen en el estigma (Wilmer 2011).

El éxito de la polinización está dado por las características específicas de la planta como individuo, de la población en floración, y los atributos inherentes a la fauna de polinizadores que habitan en el sitio (Ashman y Stanton 1991). La identidad y el comportamiento de los polinizadores son de los principales factores que determinan el éxito reproductivo y el sistema de cruzamiento de las plantas (ver Lobo *et al.* 2005 para referencias), ya que para que éstos exploten los recursos florales, los polinizadores potenciales deben contar con habilidades conductuales para detectar las señales en las plantas y asociar estas con recompensas, así como poseer características morfológicas y fisiológicas para extraer esas recompensas (Waser *et al.* 1996).

Los síndromes florales están constituidos por un conjunto de características de la flor, entre las que se incluyen los rasgos morfológicos (tamaño, forma, color, fragancia), la recompensa ofrecida por la planta al polinizador (p. e. néctar, polen, aceites) y la fenología

floral (estacionalidad y temporalidad en la antesis) (Schmid *et al.* 2011a; Wilmer 2011). Los síndromes se basan en que especies de plantas no relacionadas han desarrollado estas características para utilizar la morfología, mecanismos sensoriales, necesidades nutricionales y conducta de sus visitantes animales para hacer que las visiten (Faegri y van der Pijil 1979; Mayfield *et al.* 2001; Fumero-Cabán y Meléndez Ackerman 2007) y utilizar a estos visitantes florales como polinizadores (Faegri y van der Pijil 1979; Fenster *et al.* 2004). Por ello, se han usado en la investigación sobre la ecología de polinización con el fin de predecir el polinizador principal de una planta, basándose en los caracteres florales (Faegri y van der Pijil 1979), y son nombrados acorde: por ejemplo, lepidopterofilia (síndrome floral que atrae lepidópteros), ornitofilia (para aves), quiropterofilia (murciélagos), etc. (Endress 1994; Wilmer 2011).

La conducta de los polinizadores influye en la polinización de las plantas de distintas maneras (Wilmer 2011): 1) al elegir el momento en el día de la visita (afectando la duración de la antesis, inicio y duración de la receptividad del estigma y liberación del polen); 2) por la forma en la que manipulan la flor (determina la recolección y deposición del polen); 3) por el tiempo que permanece en cada flor (determina el número de flores que puede visitar); 4) por la velocidad y direccionalidad del forrajeo entre plantas (limita la dispersión del polen); 5) si consume o limpia el polen sobre su cuerpo; y 5) si tiene “constancia floral” (la probabilidad de que el polinizador se mueva a otra planta de la misma especie), porque así no se desperdicia polen en estigmas de otras especies, o se recibe cargas polínicas mezcladas de varias especies.

Se considera que los síndromes florales son producto del efecto selectivo que polinizadores relacionados filogenéticamente -debido a las similitudes en su comportamiento y preferencias- pueden tener sobre los rasgos florales de las plantas (Gómez 2002), mismos que presentan gran integración entre ellos (Stebbins 1970). Además, las interacciones de competencia entre polinizadores deben incrementar el potencial para una selección disruptiva en la forma floral, ya que cada polinizador visitará un fenotipo floral no preferido por su competidor, haciendo que la mecánica de la transferencia del polen y la

frecuencia de visita varíe entre los fenotipos florales (Aigner 2006). De esta forma, los polinizadores serían agentes selectivos importantes en la evolución de las características florales (Johnson y Steiner 2000).

A una planta se le considera con una polinización especializada si es exitosamente polinizada solamente por un subgrupo de organismos pertenecientes a un grupo funcional (p.e. insectos polinizadores con proboscis cortas o largas, aves, mamíferos voladores, etc.), más que el hecho de que sea polinizada por una sola especie (Fenster *et al.* 2004). El concepto de especialización en la actualidad deriva del “principio del polinizador más efectivo” de Stebbins (1970), que dice que la selección natural modificará al fenotipo de la planta para incrementar la frecuencia de la interacción entre la planta y el polinizador que aporte un mejor servicio en la polinización.

La especialización en la polinización, según Armbruster (2006), ocurre cuando la planta usa como polinizador una proporción relativamente pequeña de la fauna de visitantes florales disponibles en el medio ambiente. En el término se puede diferenciar distintos niveles: de acuerdo a Vásquez y Aizen (2006), la “especialización fundamental” es el potencial de interacciones que podrían conducir a una adecuación de la especie en cualquier circunstancia ecológica, derivada de la genética de la planta. Mientras que la “especialización comprobada” es la especialización que se da en un contexto ecológico existente. De acuerdo a Armbruster (2006), la “especialización ecológica” es el estado de “estar” especializado en un momento y lugar, mientras que la “especialización evolutiva” es el proceso de evolucionar hacia una mayor especialización en respuesta a la selección generada por los polinizadores.

Una de las características florales más estudiadas que componen los síndromes florales es el néctar. La composición química del néctar está dominada por tres azúcares simples, el disacárido sucrosa y los monosacáridos fructosa y glucosa (Nicolson y Thornburg 2007), mismos que se derivan de la sucrosa translocada en la savia del floema o es sintetizada en el nectario (Nicolson y Thornburg 2007). La proporción de estos tres azúcares, además de

otros (como la xilosa; Johnson *et al.* 1999), se ha investigado con el fin de determinar patrones en la composición del néctar entre especies con distintos polinizadores.

Baker y Baker (1982; 1983) agruparon especies de plantas no relacionadas de acuerdo a su tipo de polinizador. Estos autores concluyeron que existe una convergencia en la composición de azúcares del néctar entre plantas que comparten polinizadores. Altos niveles de sucrosa en el néctar (néctar “dominado por la sucrosa”: 51-100% o “rico en sucrosa”: 34-50%) se correlacionaban con la polinización por polillas, mariposas, abejas de proboscis larga, y colibríes. Mientras que altas proporciones de glucosa y fructosa eran características de las especies polinizadas por moscas, abejas de proboscis cortas, passerinos, y murciélagos neotropicales (néctar “rico en hexosas”: 10-33% de sucrosa, y “néctar dominante en hexosas”: 0-9% de sucrosa; Baker y Baker 1982). Ordenando de mayor a menor las concentraciones de néctar de flores con distintos polinizadores, de acuerdo a Gottsberg *et al.* (1984), las abejas de proboscis largas visitan flores con néctar con más azúcares disueltos, después le siguen las abejas de proboscis cortas, colibríes, polillas, murciélagos, aves del Viejo Mundo, y finalmente insectos generalistas.

La identidad de los polinizadores y la historia filogenética de la planta parecen ser los principales determinantes de la composición química del néctar (Nicolson y Thornburg 2007). Perret *et al.* (2001) encontraron una composición de azúcar similar entre las especies visitadas por colibríes y por abejas (néctares dominantes en sucrosa) en la tribu Sinningieae (Gesneriaceae), pero no así en las visitadas por murciélagos (néctares dominantes en hexosas). Wolff (2006) encontró que en las Gentianales de Ecuador, la concentración de azúcares en el néctar no difería entre sistemas de polinización, excepto para las flores polinizadas por moscas y murciélagos, cuyo néctar tenía un alto contenido de hexosas.

1.2.2 Generalización, Efectividad y Síndromes bimodales

El concepto de síndromes de polinización ha contribuido a la impresión de que las plantas evolucionan hacia una especialización en el número de especies que pueden polinizarlas,

sin embargo, la evidencia empírica indica que más que la especialización, “la generalización es la regla y no la excepción” en las interacciones de polinización (Waser *et al.* 1996), quizá porque la especialización sólo es óptima en un estado particular de condiciones ambientales y subóptima al variar éstas (Aigner 2006), como en ambientes heterogéneos. Se sabe que a menudo las plantas tienen una variedad de agentes polinizadores, y que los polinizadores presentan plasticidad y oportunismo en la elección de sus fuentes de alimento (Waser y Price 1990; Waser *et al.* 1996), lo que contribuye a que las interacciones mutualistas adquieran una forma de red alimenticia (Waser *et al.* 1996).

Por lo anterior, varios autores mencionan que los síndromes de polinización deben ser estudiados con cautela, pues hay casos en los que incluso cuando las flores de una planta parecen cumplir con las características de un determinado síndrome, los visitantes florales no corresponden a los esperados por las predicciones o se corre el riesgo de obviar algunos visitantes que pueden polinizar (Gregory 1963; Waser 1978; San Martín-Gajardo y Sazima 2005; Martín-Rodríguez y Fenster 2008).

La generalización es la tendencia de las plantas a usar grandes proporciones de la fauna de visitantes florales disponibles como polinizadores, ya sea a nivel de especie o de grupo funcional (Armbruster 2006), desarrollando así un fenotipo que no está singularmente adaptado para un tipo de polinizador (Aigner 2006). La variación interpoblacional en el conjunto de polinizadores, que propicia la generalización, es debida principalmente a tres de tipos causas: primero, las relacionadas con los requerimientos ecofisiológicos de los polinizadores; después las relacionadas con el tamaño poblacional de la especie de planta; y finalmente, las relacionadas con la presencia de otras plantas que tienen mayor poder de atracción de visitantes florales (Gómez 2002).

En algunas especies existe una plasticidad en el sistema reproductivo y la adecuación de las plantas en respuesta a los cambios en la abundancia de los polinizadores, ya que al existir una pérdida de éstos, la autopolinización se ve favorecida (p.e. *Ceiba pentandra* en Lobo *et al.* 2005). Además, la variación geográfica y los cambios correspondientes en la identidad y

número de polinizadores pueden afectar el sistema reproductivo de una especie en su rango de distribución (Lobo *et al.* 2005). La fluctuación de la composición y abundancia de la comunidad de visitantes florales en el tiempo y espacio promueven que ocurra la generalización (Gómez 2002), e incluso puede ser que una planta presente varios polinizadores al estar en un estado de transición entre una especie completamente generalista a una más especializada en un fenotipo floral (Aigner 2006).

Esta variación en los visitantes podría producir una adaptación local a dicho conjunto de polinizadores, donde cada población de una planta que a nivel de especie es generalista, se especialice en un subconjunto de polinizadores en un determinado sitio, formando así un “mosaico geográfico de especialización” (*sensu* Thompson 1994). El conjunto de polinizadores puede incluso variar a escalas menores, como en casos en los que diferentes individuos de la población son visitados por polinizadores distintos según su ubicación específica en la población (cercanía a lugares con corrientes de agua, exposición al sol, etc.; Gómez 2002). Con este panorama, la categorización de una planta como “generalista” o “especialista”, debe hacerse mediante la observación de las variaciones en las tasas de visita (Sahali y Conner 2007) y la determinación del sistema de apareamiento (Schmid *et al.* 2011a).

Por ejemplo, una flor puede ser “evolutivamente especializada” en la polinización por abejas al poseer características que hacen a las abejas óptimas para la transferencia de polen –melitofilia-; no obstante, puede ser “generalista ecológicamente” si continua siendo visitada por otros animales aún al presentar este síndrome de abejas. La misma planta puede ser considerada “generalista evolutivamente” con respecto al ensamble de abejas, si no posee características que la vuelva especialista en una familia, género o especie de abejas (Aigner 2006).

Si la generalización es el “común”, ésta refleja el óptimo fenotípico que resulta de la tensión causada por los compromisos entre diferentes tipos de polinizadores que cohabitan en el sitio, y el analizar la contribución de cada uno a la adecuación de la planta permitirá

predecir cómo los cambios en el ensamble de polinizadores afectarán la red de polinización en el ambiente (Aigner 2006).

Empero, aunque variados, los visitantes florales de una planta diferirán en el servicio de polinización que provean. Si se busca entender la ecología de polinización, se debe estimar adecuadamente la efectividad de cada tipo de visitante floral, y la influencia de sus visitas para la reproducción de la planta (Wilmer 2011). Efectividad, eficiencia e importancia de un polinizador son términos importantes para discutir la ecología de la polinización, pero existe poco acuerdo sobre la definición exacta de ellos, y son usados en muchas ocasiones como sinónimos. Kearns e Inouye (1993) definen la efectividad del polinizador como una medida del logro de una visita de un animal, en términos del polen depositado, removido, las semillas producidas, las flores polinizadas, etc. Los polinizadores pueden ejercer presión selectiva en las plantas mediante dos mecanismos: por la discriminación entre conoespecíficos de la especie de planta, y por tener una eficiencia diferencial al polinizar distintos fenotipos en la población de plantas (Gómez y Zamora 2006). La selección natural favorecería entonces a las características que atraigan al polinizador más eficiente/importante, así como también a los fenotipos que promuevan que el polinizador más abundante sea también el más efectivo (Gómez y Zamora 2006).

El tipo de servicio que los polinizadores brindan a la reproducción de la planta puede limitar el éxito en su reproducción, tanto por la calidad o cantidad de polen que recibe la planta. Por ello, la medida de la efectividad de un polinizador debe incorporar dos elementos: la efectividad por visita de un polinizador y la frecuencia del visitante (Wilmer 2011). La limitación por “cantidad” se da cuando los polinizadores realizan muy pocas visitas o rara vez tocan los órganos reproductores, mientras que la limitación en la “calidad” se da porque el origen del polen es una flor de la misma planta (geitonogamia), o el polinizador transporta una mezcla de polen proveniente de distintas especies (Wilmer 2011). Este último factor, la calidad del polen, determina la información genética que recibe el estigma de la planta (Waser y Price 1990), y puede definir la tasa de polinización

más que la cantidad de visitas (Ashman y Stanton 1991). Así, los componentes de la “calidad” del polinizador, de acuerdo a Herrera (1987), son:

- 1) El polinizador deposita polen más a menudo en los estigmas que visita.
- 2) Cuando se entrega polen, un gran número de granos se quedan en el estigma.
- 3) El polen que transporta el polinizador es “mejor” desde el punto de vista de la planta receptora, predominantemente no polen propio.
- 4) El comportamiento del polinizador en el forrajeo puede influir en la calidad del polen depositado a los estigmas por la distancia que viaja el polen desde la planta donante al estigma receptor, y el número de donadores de polen presentes en esa mezcla. Por ello, el forrajeo debe ser uno que desperdicie el menor número de granos conespecíficos durante el recorrido.

No en todos los casos es posible asumir una correlación entre los elementos de calidad y cantidad de los polinizadores (p.e. Mayfield *et al.* 2001), y por ello, es posible que el “compromiso” entre los caracteres florales y las preferencias de los visitantes sea débil, promoviendo la evolución de adaptaciones para atraer a un subgrupo de polinizadores sin perder la habilidad de usar otros (Mayfield *et al.* 2001). El trabajo de Vásquez *et al.* (2005) indica que el éxito de la polinización total en una planta es fuerte y positivamente afectado por la frecuencia de visita, incluso si la eficiencia del polinizador es baja. Además, es importante considerar el momento de la visita, en relación a la antesis de la flor. Si la sincronización de las visitas -en relación a la presencia de polen fresco o al momento del inicio de la receptividad del estigma- no es tomada en cuenta, la planta parecerá más generalista de lo que en verdad es, en términos de su polinizador más efectivo (Wilmer 2011).

El estudio de Perfectti *et al.* (2009) muestra un efecto negativo de la diversidad de polinizadores en la fecundidad de la planta (menor adecuación) cuando los polinizadores más abundantes (elemento cantidad) son también aquellos que exhiben la mayor efectividad por visita (elemento calidad). Cuando el polinizador más efectivo no es el más

abundante, se alcanza un valor óptimo en la diversidad de polinizadores, mismo que corresponde con un máximo en la fecundidad de la planta.

Dos especies de visitantes pueden compartir características cualitativas y cuantitativas que hacen que tengan efectos y resultados similares en la interacción con la planta, independientemente de las afinidades taxonómicas, derivando en una equivalencia funcional de los visitantes para la planta (Zamora 2000), hasta el punto de considerarse “intercambiables” desde la perspectiva de la planta.

Las características que propician la equivalencia funcional, de acuerdo a Zamora (2000) son:

1) Rasgos no especializados: De las plantas, animales, o ambos; p.e. una flor actinomorfa puede permitir que visitantes de taxones disímiles actúen como polinizadores al contactar anteras y estigma.

2) Rasgos fijos: Rasgos compartidos pueden ser de hecho invariables entre especies y producir resultados similares en tiempos o espacios diferentes; p.e. el tamaño corporal puede determinar el comportamiento del visitante en la flor, o su forma de forrajeo.

3) Rasgos plásticos: Otros rasgos pueden tener una amplia plasticidad fenotípica, originando que se desarrolle la misma respuesta fenotípica en un mismo tipo de ajustes ambientales; p.e. conductas similares de forrajeo en plantas con igual tipo de floración y el patrón predecible de interacción que resulta de esta característica (la floración de estado estacionario y su relación con el “trap-lining”).

4) Hábito trófico. Especies polífagas y no relacionadas pueden tener criterios similares para elegir su alimento y provocar presiones de selección similares.

5) Respuestas similares. Las respuestas de las plantas a los animales son fisiológica y genéticamente correlacionadas.

De esta manera, las características generalistas en los síndromes de polinización pueden sugerir que todos los polinizadores son funcionalmente equivalentes, y la selección natural favorezca nuevos polinizadores sin perder los viejos (Aigner 2001). En un sistema de

polinización bimodal, dos especies o grupos de vectores de polen no relacionados, típicamente asociados con distintos síndromes florales, actúan como polinizadores para especies de plantas que muestran síndromes de polinización intermedios (Schmid *et al.* 2011a), es decir, que tienen características indefinidas entre dos síndromes (p. e. largos de tubo floral y concentraciones de néctar intermedias a las preferidas por dos grupos de polinizadores sin relación entre sí; Schmid *et al.* 2011a).

Una característica bimodal puede ser la antesis crepuscular, ya que permite la visita de animales diurnos y nocturnos a las flores (Buzato y Franco 1992), aun cuando la planta tenga flores con características fundamentalmente asociadas a un síndrome particular. Las flores con una antesis que se extiende a periodos diurnos y nocturnos pueden ser visitadas por una variedad de visitantes de cada horario (ver trabajos de Ramírez *et al.* 1984; Sazima y Sazima 1988; Gribel y Hay 1993; Buzato *et al.* 1994; Fleming *et al.* 1996; Sahley 1996; Slauson 2000; Dar *et al.* 2006; Martín-Rodríguez y Fenster 2008; Ortega-Baes *et al.* 2011), y estos visitantes pueden tener distinta efectividad para polinizar a la planta (ver Miyake y Yahara 1998 y referencias en éste).

En el caso de plantas cuya antesis es principalmente nocturna, no se considera que haya un costo muy grande para la planta si las flores permanecen abiertas durante el siguiente día y son visitadas por polinizadores diurnos, tal como ocurre con *Silene vulgaris* (Caryophyllaceae) (Pettersson 1991) y en *Burmeistera* spp. (Campanulaceae) (Muchhala 2003). En el último caso, el género tiene dos especies que son visitadas por murciélagos y por colibríes, y el sistema de polinización generalizado de una de ellas (*B. tenuiflora*) parece demostrar que, ni la producción de néctar ni las horas de antesis, sirven para evitar el traslape de dos síndromes con taxa de polinizadores distintos (Muchhala 2003).

1.2.3 Polinización en bromelias

En la familia Bromeliaceae parece que el sistema reproductivo predominante es la autofecundación o una mezcla entre ésta y la fecundación cruzada (“mixed system”; Matallana *et al.* 2010; Zanella *et al.* 2012), ya que hay tanto especies autocompatibles como autoincompatibles (Matallana *et al.* 2010; Zanella *et al.* 2012). Además, las bromelias tienen la capacidad de reproducirse asexualmente (Villegas 2001).

Aun cuando las bromelias pueden no necesitar de vectores de polen para reproducirse, esta familia tiene la mayor diversidad de formas de polinización a lo largo de su distribución geográfica (Zanella *et al.* 2012), ya que tienen un amplio espectro de polinizadores, incluidos aves, murciélagos y una variedad de insectos, incluso existen taxa autógamos (Gardner 1986; Till 1992; Kessler y Krömer 2000; Van Dulmen 2001; Canela y Sazima 2005; Schmid *et al.* 2011a; 2011b). La mayoría de trabajos sobre polinización de bromelias mencionan a los colibríes como los principales polinizadores (Carranza-Quiceno y Estévez-Varón 2008), y los insectos en la mayoría de los casos no son polinizadores efectivos (pero ver Kamke *et al.* 2011).

Para asociar a las bromelias con sus síndromes de polinización, tradicionalmente se ha recurrido a las características morfológicas del estigma (Varadarajan y Brown 1988). Sin embargo, algunos autores han combinado este atributo con otros: como el tipo de inflorescencia, la hora de apertura de las flores, el color y la orientación de las flores, el grado de compactación de los lóbulos y la producción y concentración del néctar (Bernardello *et al.* 1991; Krömer *et al.* 2008).

En el trabajo de Krömer *et al.* (2008), fueron halladas diferencias significativas en la composición de azúcares del néctar de bromelias con distintos polinizadores, incluso dentro de géneros con más de un síndrome de polinización (*Guzmania*, *Pitcairnia*, *Tillandsia* y *Vriesea*). Las especies que se definieron como polinizadas por colibríes y lepidópteros

tenían mayor concentración de sucrosa en su néctar, en comparación con el néctar más diluido y rico en hexosas de las especies polinizadas por murciélagos. Al menos para las bromelias, las características del néctar parecen ser predominantemente determinadas por las preferencias de los polinizadores (Krömer *et al.* 2008).

En las bromelias es posible encontrar atributos florales que hacen difícil identificar a un polinizador particular, como la redundancia en la polinización (Murcia 2002), en la que varias especies de polinizadores visitan la misma especie de planta o varias plantas son visitadas por el mismo polinizador. Esto podría asociarse no a una coevolución obligatoria –asociada típicamente a los síndromes florales definidos- sino a una coevolución difusa, es decir, cuando más de dos especies están involucradas en el proceso coevolutivo, como una planta zoófila que atrae varios polinizadores (ver Lunau 2004).

Además, son poco conocidos los ritmos de la oferta de los recursos (mensuales o anuales) que las bromelias ofrecen a sus polinizadores y la dinámica de los mismos (Carranza-Quiceno y Estévez-Varón 2008). En las bromelias, la autocompatibilidad como sistema reproductivo parece ser más común de lo que antes se creía, y este puede ser un indicador de que varias especies simpátricas comparten polinizadores (Matallana *et al.* 2010).

Entre los aspectos más importantes de la ecología vegetal está el estudio las estrategias reproductivas, las cuales generalmente implican procesos a nivel de comunidad (Olsen y Jordano 2002), y los aspectos reproductivos y las interacciones a nivel de comunidad en la que se involucran las bromelias son muy poco conocidos (Carranza-Quiceno y Estévez-Varón 2008; Zanella *et al.* 2012) y existen contados trabajos en ecosistemas tropicales (p.e. Sazima *et al.* 1995; Jaramillo y Cavelier 1998; Sazima *et al.* 1999; Kessler y Krömer 2000, Krömer *et al.* 2006), y menos aun los que tratan sobre la polinización de bromelias no ornitófilas. La información sobre la reproducción de las bromelias es esencial no sólo para delimitar especies y elucidar aspectos ecológicos y evolutivos de las bromelias, también puede ser usada para complementar programas de conservación (Zanella *et al.* 2012).

1.2.4 Murciélagos como polinizadores de bromelias

La abundancia de polinizadores frecuentemente está asociada a la diversidad de especies epífitas (Gentry y Dodson 1987; Krömer *et al.* 2006). Para ecosistemas como el BMM los grupos de polinizadores más importantes son abejas, abejorros, escarabajos, aves, avispas y mariposas (Van Dulmen 2001). Algunos géneros de bromelias (*Tillandsia*, *Vriesea*, *Pitcairnia*) han evolucionado independientemente síndromes de polinización para insectos, aves y murciélagos en distintas ocasiones (Benzing 2000; Kessler y Krömer 2000), sugiriendo que al menos para esta familia, los costos para alternar entre síndromes de polinización no son mayores a los beneficios de los mismos (Fleming y Muchhala 2008). Las ventajas de la polinización por vertebrados son principalmente: una larga distancia en la dispersión del polen, una polinización confiable en clima inclemente –particularmente cierto en altas elevaciones-, y una gran cantidad de polen depositado por flor visitada (Sahley 2001).

Entre los polinizadores vertebrados del Neotrópico, sólo los colibríes visitan más especies de plantas con flor que los murciélagos (Sazima *et al.* 1999). La quiropterofilia es el síndrome floral que presentan las plantas que, en teoría, son polinizadas por murciélagos (Endress 1994; Wilmer 2011). Las características florales asociadas a la polinización por murciélagos, o quiropterofilia, según Faegri y van der Pijil (1979), von Helversen (1993), von Helversen *et al.* (2000) y Tschapka y Dressler (2002) son: anthesis nocturna, aromas con compuestos sulfurosos o aromas poco perceptibles para el ser humano, colores pálidos, flagelifloría (flores que sobresalen del follaje), caulifloría (flores que salen del tronco), corolas robustas en forma de cepillo, copa o tubo “máscara”, y néctar abundante pero diluido hasta en un 17%. Se ha reportado que el néctar de las flores quiropterófilas también presenta olor (Sazima *et al.* 1989; Sazima *et al.* 1999; Sazima *et al.* 2003), por lo cual también podría servir como atrayente. Néctares diluidos y con baja concentración de sucrosa en plantas quiropterófilas han sido encontrados por Baker y Baker (1982; 1983), Gottsberg *et al.* (1984) y Perret *et al.* (2001). En la mayoría de las especies con este síndrome, la floración es anual y tienen generalmente una flor por noche (Vogel 1969;

Sazima *et al.* 1999), aunque algunas especies poseen una antesis que se extiende por varios días (Machado *et al.* 1998; San Martín-Gajardo y Sazima 2005).

En el trabajo de Sazima *et al.* (1999), la morfología que predominaba en las especies quiropterófilas era con forma de tubo y cepillo, siendo esta última más frecuente en los árboles. Las corolas anchas de las especies de *Burmeistera* spp. permiten mejorar el ajuste al hocico de los murciélagos y que se desperdicie menos polen (Muchhala 2003; Muchhala 2006). Otra característica floral asociada a la quiropterofilia es la producción copiosa de polen por parte de la flor (Muchhala y Thomson 2010). Una posible explicación para este rasgo es que la cantidad de polen transportado por murciélagos está relacionada con la cantidad de polen removido en las anteras, quizá por la capacidad del pelaje de retener polen (Muchhala y Thomson 2010). En las flores quiropterófilas, también es común que los estambres se encuentren hacia adelante y al exterior de la corola (cuando no están dispuestos como cepillo), constituyendo un espacio donde cabe la cabeza de los murciélagos, depositando el polen en la parte superior o en la espalda del murciélago (Wilson 2011).

Para las plantas quiropterófilas los murciélagos parecen ser “polinizadores legítimos, eficientes y efectivos” (*sensu* Fleming y Sosa 1994), y por ello, se piensa que las necesidades diarias propias de estos animales constituyen una importante presión selectiva a las especies que los emplean como polinizadores, por ejemplo, el gasto de energía diario del murciélago determina el total de energía que debe estar disponible en el néctar para sostener las necesidades diarias del animal y asegurar que cumpla con sus visitas (von Helversen y Winter 2003). En el bosque de montaña del Sureste de Brasil, el 65% de las plantas visitadas por murciélagos son epífitas, y de estas, el 30% corresponden a miembros de Bromeliaceae, constituyendo así la familia más importante y representativa de las plantas polinizadas por murciélagos (Sazima *et al.* 1999).

La quiropterofilia en las bromelias fue propuesta por Porsch (1932), y las primeras observaciones en el campo fueron realizadas por Vogel (1969). Este síndrome en las

bromelias es muy poco estudiado en comparación con otros síndromes, pero los trabajos han ido en aumento (p.e. Salas 1973; Sazima *et al.* 1989; Araujo *et al.* 1994; Sazima *et al.* 1995; Sazima *et al.* 1999; Kessler y Krömer 2000; Muchhala y Jarrín-V 2002; Cascante-Marín *et al.* 2005; Kaehler *et al.* 2005; Krömer *et al.* 2006; Krömer *et al.* 2008; Tschapka y von Helversen 2007). Hasta el momento, se ha reconocido el síndrome en los géneros *Encholirium*, *Guzmania*, *Pitcairnia*, *Puya*, *Vriesea* y *Werauhia* (Fleming *et al.* 2009); excepto por *Encholirium glaziovii*, los géneros con especies quiropterófilas son de la subfamilia Tillandsioideae (Sazima *et al.* 1989). La mayor parte del trabajo de investigación de este síndrome en bromelias se ha llevado a cabo en ecosistemas selváticos de Centro y Sudamérica.

Krömer *et al.* (2008) analizaron la composición y concentración de azúcares en el néctar de bromelias, comprobando que las especies quiropterófilas mostraban la concentración de azúcar más baja en el néctar ($11.5 \pm 4.0\%$) y tenían los néctares más ricos en hexosas (glucosa y fructosa; $29.6 \pm 8.0\%$), esto al compararlas con especies con otros síndromes de polinización. Además, se sabe que la frecuencia de este síndrome se relaciona a la precipitación pluvial y la altura del dosel, siendo más común en bosques húmedos de estratos altos (Kessler y Krömer 2000). Según Sazima *et al.* (1999), la riqueza de especies que son visitadas por murciélagos decrece con la altitud, así como también la diversidad de murciélagos polinizadores.

Tschapka y von Helversen (2007) estudiaron la fenología floral de una bromelia quiropterófila a largo plazo y determinaron la significancia de esta como recurso para los murciélagos y viceversa, los patrones temporales de la producción de néctar y la conducta de visita de los murciélagos. Así determinaron, por ejemplo, que la producción de néctar a lo largo de la noche se relaciona con el número y duración de las visitas de los murciélagos.

México cuenta con una rica fauna de murciélagos nectarívoros glosófagos (Phyllostomidae: Glossophaginae), que incluye especies endémicas y algunas migratorias (ocho géneros, 12 especies). La mayoría tienen distribución restringida (Arita y Santos-del-

Prado 1999), y cuatro están en alguna categoría de protección en la NOM-059-SEMARNAT-2010 (SEMARNAT 2010). En el país se han hecho muchos estudios de polinización por murciélagos, pero no se ha trabajado este síndrome en los miembros de la familia Bromeliaceae.

1.2.5 El caso de *Tillandsia heterophylla* y *T. macropetala*

Gardner (1986), en su trabajo sobre inferencias de las formas de polinización de las bromelias del género *Tillandsia*, catalogó a 85 especies en cinco grupos con base en sus características florales. Para cada grupo propuso ideas sobre su polinización y algunos vectores probables de polen. Entre las 85 especies que empleó, *T. heterophylla* fue clasificada en el grupo 3 por el largo de sus anteras (10-12 mm, siendo lo promedio para el grupo 6-8 mm, y este promedio era mayor a aquél para el resto de los grupos), y la forma tubular de su corola. Por sus características especiales dentro del grupo (como ser la única del grupo con una fragancia “suave y picante”, el color de sus pétalos y que tuviese antesis nocturna), Gardner propuso a las polillas nocturnas como polinizador potencial de esta especie. Aunque *T. macropetala* no fue analizada en el estudio de Gardner, por la longitud de sus estambres (9-11 mm) y las características en común con *T. heterophylla* (antesis nocturna y poseer fragancia), es de esperar que hubiera sido clasificada dentro del mismo grupo 3. Por otra parte, debido a que su antesis es nocturna, y tiene estambres y pistilo extendidos, Hietz y Hietz-Seifert (1994) sugirieron para *T. viridiflora* (aun incluyendo a *T. macropetala*) que las polillas esfíngidos (esfingofilia; Endress 1994) podían ser los polinizadores más probables de esta especie.

Tanto *T. heterophylla* como *T. macropetala* cumplen con las características de un síndrome de polinización dirigido a polinizadores nocturnos, como pueden ser los murciélagos o las polillas. Aunque se desconoce la fauna que visita a estas especies de bromelias, se tiene información sobre la composición del néctar, misma que tiende hacia la esperada en bromelias quiropterófilas (con predominancia de hexosas; Krömer *et al.* 2008).

Aunado a lo anterior, algunas características florales pueden corresponder a aquellas esperadas en flores con síndromes bimodales (Schmid *et al.* 2011a) entre la polinización por animales nocturnos y diurnos, ya que las flores de ambas especies abren al atardecer y continúan abiertas hasta las primeras horas del día siguiente (Krömer *et al.* 2012). De esta manera se habilita a animales diurnos, como los colibríes u otros taxa, a fungir como polinizadores secundarios (Dar *et al.* 2006; Ortega-Baes *et al.* 2011). Estos polinizadores de respaldo (Martén-Rodríguez y Fenster 2008) pueden incrementar el semilleo, incluso cuando la población de un grupo de polinizadores disminuye (Muchhala, 2003).

Debido a que el éxito de la polinización no sólo depende del taxón visitante, sino también de la calidad de la recompensa que ofrece la planta y el comportamiento de forrajeo del animal (Théry *et al.* 1998; Vásquez *et al.* 2005; Wilmer 2011), es necesario respaldar las conclusiones sobre el síndrome de polinización que son inferidas puramente por características externas de la planta con registros de visitantes y experimentos que demuestren la dependencia de la planta a su polinizador, determinando el sistema reproductivo de la planta.

Por lo tanto, este trabajo se diseñó para determinar qué visitante, diurno o nocturno, constituye el o los polinizadores de *T. heterophylla* y *T. macropetala* en una zona del centro de Veracruz, en el municipio de San Andrés Tlanelhuayocan, donde ambas especies se encuentran. *T. heterophylla* está más frecuentemente asociada a vegetación secundaria, caminos y claros, mientras que *T. macropetala* está presente en fragmentos de BMM.

Se evaluó la efectividad de los polinizadores primero, por medio del número de frutos y semillas (éxito reproductivo femenino; Johnson y Steiner 2000; Young 2002) originados por la visita de animales de hábitos diurnos o nocturnos, y considerando la disponibilidad de polen y la receptividad del estigma en la flor. Después, para cada especie de visitante, se relacionó esta información con el horario y la frecuencia de visitas, el número de visitas en

las que el visitante contactó los órganos reproductores de la flor, y la conducta del visitante (p. e. si consumió polen o dañaba durante su visita alguna estructura floral).

En el BMM del sitio en el que se realizó este trabajo, Sosa *et al.* (2008) reportan 26 especies de murciélagos pertenecientes a cuatro familias, tres especies de éstas son glosófagos: *Glossophaga soricina*, *Anoura geoffroyi* y *Choeroniscus godmani*. La comprobación de que las plantas a estudiar sean polinizadas por quirópteros tendría implicaciones importantes para la ecología y conservación. El acarreo de polen que los murciélagos pueden hacer a grandes distancias, puede ser crucial para mantener el entrecruzamiento de individuos que se encuentran en ecosistemas altamente fragmentados (Fleming *et al.* 2009), como es el caso de la zona central de Veracruz. Si las bromelias constituyen un recurso importante para los murciélagos, la conservación de las mismas ayudaría a mantener las poblaciones de estos mamíferos, ya que los mismos atributos que convierten a los murciélagos nectarívoros en buenos polinizadores también los hacen más vulnerables a la extinción que otros murciélagos neotropicales (Arita y Santos-del-Prado 1999).

1.3 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuáles son los visitantes florales de *Tillandsia heterophylla* y *Tillandsia macropetala*, y cuáles los polinizadores?

1.4 HIPÓTESIS

Las bromelias *T. heterophylla* y *T. macropetala* tienen una antesis crepuscular que se prolonga hasta el día siguiente, por lo que pueden recibir visitas de animales nocturnos y diurnos, una característica de un síndrome bimodal para polinizadores de dos horarios de actividad distintos (Buzato y Franco 1992). Por lo anterior, la primera hipótesis es:

- 1) Las dos especies de bromelias recibirán visitantes florales diurnos y nocturnos, ya que presentan características de un síndrome floral bimodal para visitantes diurnos y nocturnos, pero con antesis predominantemente nocturna.

Ya que la flor de ambas especies está expuesta primero a los polinizadores nocturnos, es probable que éstos sean responsables de la mayor parte de la polinización, al visitar la flor en el momento en el que inicia la receptividad del estigma y hay polen fresco en las anteras (Wilmer 2011). Por esto, la segunda hipótesis es:

- 2) Los visitantes nocturnos serán más frecuentes y fungirán como polinizadores más efectivos que los diurnos, ya que sus visitas propiciarán el desarrollo de más frutos y más semillas que las visitas de los diurnos.

Las flores de *T. heterophylla* y *T. macropetala* tienen caracteres que se pueden asociar al tanto al síndrome de polinización por polillas como al de murciélagos (von Helversen 1993; Endress 1994; Tschapka y Dressler 2002; Wilmer 2011): *T. heterophylla* tiene una antesis que se inicia al atardecer, una corola tubular con pétalos blancos, estambres alargados, y olor “suave y picante” para el ser humano; *T. macropetala* también presenta una antesis crepuscular, pétalos blancos, estambres y pistilo alargados y extendidos. No obstante, la composición del néctar (dominante en hexosas en más de 70%) y la concentración del mismo (11 y 6% de azúcar disuelto respectivamente), corresponde a lo esperado en plantas quiropterófilas (Krömer *et al.* 2008). Los murciélagos son polinizadores efectivos de muchas plantas, incluyendo otras bromelias con características similares a *T. heterophylla* y *T. macropetala* (p. e. *Werahua gladioliflora*; Tschapka y von Helversen 2007). Así, la tercera hipótesis es:

- 3) Los visitantes nocturnos más frecuentes y efectivos en la polinización serán los murciélagos.

1.5 OBJETIVOS

General:

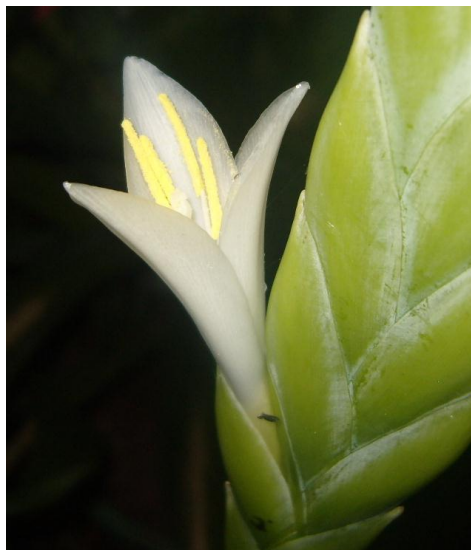
- Conocer la biología reproductiva y floral de *Tillandsia heterophylla* y *Tillandsia macropetala* para identificar a los visitantes florales que constituyen polinizadores efectivos de estas bromelias.

Particulares:

1. Conocer la fenología de floración, las características florales y del néctar, así como el sistema reproductivo de *Tillandsia heterophylla* y *Tillandsia macropetala*.
2. Identificar la fauna de visitantes florales de ambas especies de bromelias.
3. Analizar la efectividad de los visitantes florales para ambas especies de bromelias.

CAPÍTULO 2

BIOLOGÍA FLORAL Y REPRODUCTIVA DE *Tillandsia* *heterophylla*



2 INTRODUCCIÓN

La familia Bromeliaceae está restringida casi exclusivamente al Neotrópico. Según Givinish *et al.* (2011), la familia posee cerca de 3,140 especies en 58 géneros, y cerca del 50% de estas especies son de hábitos epífitos (Benzing 2000). Numerosos géneros de bromelias (p.e. *Tillandsia*, *Vriesea*, *Pitcairnia* y *Werauhia*) han evolucionado independientemente síndromes de polinización para insectos, aves y murciélagos en distintas ocasiones (p.e. Sazima *et al.* 1989; Sazima *et al.* 1995; Kessler y Krömer 2000; Krömer *et al.* 2006; Tschapka y von Helversen 2007; Krömer *et al.* 2008; Schmid *et al.* 2011a; 2011b).

Tillandsia heterophylla E. Morren es una bromelia epífita estudiada en trabajos de distinta índole. Por ejemplo, algunos trabajos la incluyen en inventarios florísticos (Hietz y Hietz-Seifert 1995; Espejo-Serna *et al.* 2004; García-Franco *et al.* 2008; García-Franco y Toledo-Aceves 2008), estudios taxonómicos (Espejo-Serna *et al.* 2005; Stefano *et al.* 2007; Cach-Pérez 2008; Krömer *et al.* 2012), reportes de fauna asociada a esta especie (Larson y Frank 2000; Hernández-Sánchez y García-Franco 2006; Flores-Palacios y Valencia-Díaz 2007), pero hasta ahora no se ha publicado algún trabajo sobre su biología floral, y en particular la ecología de la polinización de esta especie (la fenología, antesis, fauna de visitantes, etc.).

Gardner (1986) infirió que *T. heterophylla* era polinizada por polillas (falenofilia) por su antesis nocturna, la longitud de sus anteras, la forma tubular de su corola con pétalos blancos, y por su olor “suave y picante”. Hietz y Hietz-Seifert (1994) también sugieren que las flores blancas que emiten un tenue olor en la noche muy probablemente atraen polillas, posiblemente Sphingidae; sin embargo, tales suposiciones nunca han sido confirmadas. Por otra parte, el descubrimiento de que esta especie de bromelia presenta un néctar diluido y rico en hexosas, sugiere un síndrome de polinización por murciélagos (quiropterofilia; Krömer *et al.* 2008). Hasta el momento, la polinización por murciélagos en bromelias sólo se ha confirmado en los géneros *Encholirium*, *Guzmania*, *Pitcairnia*, *Puya*, *Vriesea* y *Werauhia* (Fleming *et al.* 2009).

Aunado a lo anterior, las flores de *T. heterophylla* se mantienen abiertas durante la mañana siguiente (T. Krömer, obs. pers.), lo que puede habilitar a otros polinizadores, como los colibríes, a visitarlas también. Esto sugiere un sistema de polinización bimodal (Schmid *et al.* 2011b) entre visitantes nocturnos y diurnos. Hasta el momento no se han realizado estudios de polinización en México con una bromelia con estas características.

El objetivo de este trabajo es conocer la biología floral y reproductiva de *T. heterophylla* e identificar a los visitantes florales que constituyen polinizadores de esta bromelia. Para hacerlo, se busca describir ¿cuál es la fenología floral de esta especie?, ¿cuál es el patrón de secreción de néctar y su concentración?, ¿cuál es el sistema reproductivo de *T. heterophylla*? y ¿cuál es la frecuencia y efectividad de los visitantes florales, diurnos y nocturnos?

Mi hipótesis es que, ya que la antesis en esta especie es primordialmente nocturna (Gardner 1986) pero se extiende hasta el día siguiente, *T. heterophylla* recibirá visitantes nocturnos y diurnos, pero los nocturnos serán los polinizadores más efectivos, ya que tendrán la mayor frecuencia de visita y originarán más frutos y semillas por sus visitas. De haber visitantes diurnos, éstos constituirán vectores secundarios de polen ya que visitarían las flores luego de estar expuestas a los visitantes nocturnos. Además, ya que la composición del néctar (Krömer *et al.* 2008) y otras características (forma de la corola, color de pétalos, aroma) indican una polinización por murciélagos, creemos que éstos serán los principales polinizadores.

2.1 MÉTODOS

2.1.1 Sitio de estudio

El trabajo de campo se realizó en una plantación de ca. 5.3 ha de *Cedrela odorata* (Meliaceae), *Quercus* spp. (Fagaceae) con plantas de crecimiento secundario (19° 31' 53.3" N, 96° 58' 40.7" O, Figura 2.1). Este sitio fue seleccionado porque poseía ejemplares de *T. heterophylla* de forma natural a una altura de entre 1.5 m y 2.5 m de altura, algunos de los cuales estaban próximos a florecer. El estudio se llevó a cabo entre mayo y julio de 2011, en el municipio de San Andrés Tlalnelhuayocan, ubicado en la zona central del estado de Veracruz, México (Figura 2.1). En el municipio la altitud oscila entre los 1500 y los 1700 msnm (Mehltreter *et al.* 2005). La precipitación anual es de 1650 mm, con un periodo más seco entre noviembre y abril. La temperatura media es de 14°C (Williams-Linera 2002). La vegetación natural predominante es de bosque mesófilo de montaña (Hamilton *et al.* 1995), donde hay árboles como *Quercus* spp. (Fagaceae), *Liquidambar styraciflua* (Hamamelidaceae) y *Clethra mexicana* (Clethraceae), así como arbustos y enredaderas (Zamora y Castillo-Campos 1997; Williams-Linera 2002).

El paisaje actual del municipio está representado por remanentes de BMM inmersos en una matriz de campos agrícolas, potreros, cafetales y asentamientos humanos (Williams-Linera 1993; Muñoz-Villers y López-Blanco 2007; Cruz-Angón *et al.* 2010; Toledo-Aceves *et al.* 2011).



Figura 2.1. Mapa que muestra el sitio de estudio (marcado con el número 1) en el municipio de San Andrés Tlalnelhuayocan.

2.1.2 Especie de estudio

Tillandsia heterophylla E. Morren (Bromeliaceae) es una especie epífita cuyas hojas forman una roseta sin tallo tipo tanque de hasta 50 cm de diámetro (Espejo-Serna *et al.* 2005; Figura 2.2). Su inflorescencia es terminal y erecta, pudiendo alcanzar entre 1 y 1.5 m de alto y contar con entre una y seis espigas, con entre ocho y 16 flores en cada una. Las flores son dísticas, erectas, actinomorfas levemente zigomorfas y con corola tubular-campaniforme subsésil. Los pétalos son blancos, oblongo-espátulados, libres y con un largo de entre 9.5 y 9.8 cm por 1.8 a 2 cm de ancho. Los estambres son subiguales y más cortos que los pétalos, con filamentos blancos y filiformes de entre 7 y 7.4 cm de largo; las anteras son amarillas y de 10 a 12 mm de largo. El estilo es simple, con 5.97 ± 1.48 cm ($n = 13$ flores), con un estigma trilobulado. El largo total del androceo es de 7.58 ± 0.32 cm y el gineceo de 7.69 ± 1.31 cm ($n = 13$ flores). La cápsula frutal, una vez desarrollada, es verde y fusiforme, mide entre 4 y 4.2 cm de largo con 5 y 7 mm de diámetro. Las semillas son pardas rojizas y fusiformes, con cerca de 4 mm de largo y cuentan con una coma plumosa blanca de cerca de 2.4 cm de largo (Espejo-Serna *et al.* 2005).



Figura 2.2. Imagen de: A) individuo y flor de *Tillandsia heterophylla*; B) flor de *T. heterophylla* con un corte longitudinal. Números: 1, estigma; 2, anteras; 3, ovario; 4, nectario. La barra roja representa 1 cm. Foto A por Pedro A. Aguilar-Rodríguez; Foto B por Anina Knauer.

Esta especie es endémica de los estados de Puebla y Veracruz. Se le encuentra a alturas de entre 600 y 1720 msnm en ecosistemas como los bosques caducifolios, de encino, pino-encino, bosques mesófilos de montaña y selvas bajas perennifolia, aunque también es común en sitios perturbados como bosques secundarios, cercas vivas, paisajes agroforestales como cafetales e incluso en parques urbanos, aunque generalmente no se encuentra en la zona más alta de las copas de los árboles (T. Krömer, com. pers.). De acuerdo a Espejo-Serna *et al.* (2005), su periodo de floración comprende de febrero a julio, pero en el sitio de estudio se identificaron las primeras flores a mediados del mes de mayo (P. Pedro A. Aguilar-Rodríguez, obs. pers.).

2.1.3 Fenología y antesis floral

Se eligieron 16 individuos adultos próximos a florecer, en los cuales se realizó el seguimiento de su fenología para determinar la duración de la floración de los individuos, el número de flores promedio en una inflorescencia, y la duración de las flores individuales. Debido a que en el sitio no había suficientes individuos de *T. heterophylla* a una altura que permitiera su manipulación (menos de 2 m) o bien varios individuos próximos a florecer, se translocaron plantas de los alrededores y se colocaron a 1.5 m de altura en los troncos de diferentes árboles. En el sitio de estudio cuatro de estas 16 bromelias próximas a florecer estaban a esta altura de forma natural, por lo que no se consideró que el cambio en la altura del resto de los individuos afectase las observaciones. La exposición al sol de las bromelias translocadas se mantuvo similar al de los individuos que naturalmente estaban en el sitio.

Además, 10 bromelias fueron transportadas a un vivero tipo “casa sombra” hecho de malla de nylon tipo mosquitero, con cerca de 3 m de alto por 2.5 m de circunferencia, ubicado a 200 m del sitio de estudio. Esto con el fin de conocer el sistema reproductivo de la bromelia. Ahí se les conservó a temperatura ambiente, con sombra y riego frecuente, usando macetas con grava como sustrato.

Todos los individuos fueron numerados, usando un plumón no tóxico y etiquetas, para poder seguir la floración individual de las plantas. Se anotó el periodo entre la antesis (la hora en la que inicia la dehiscencia de las anteras y el estigma se vuelve receptivo; Kearns e Inouye 1993) y la marchitez.

En el trabajo de Kamke *et al.* (2011) con la bromelia *Aechmea caudata*, se determinó que el polen y el estigma son viables y receptivos durante toda la floración, lo que parece ser común en las bromelias (Canela y Sazima 2003; 2005; Lenzi *et al.* 2006; Nara y Webber 2002; Schmid *et al.* 2011a). En este trabajo, se registró la hora de la presencia del polen en las anteras. La receptividad del estigma se determinó por medio de la observación directa

de la presencia de una sustancia mucilaginosa en éste (Escobedo 2007). Adicionalmente, se sumergió el estigma de seis flores en peróxido de hidrógeno (H_2O_2) a distintas horas: una hora después de la antesis, 6, 12, 14 y 16 h después. La formación de burbujas indicaba la receptividad del estigma (Herrera 1987; Dafni y Motte 1998; Machado *et al.* 1998; Ratnayake *et al.* 2006; Martén-Rodríguez y Fenster 2008).

2.1.4 Sistema reproductivo y efectividad de visitantes

Con la finalidad de determinar el sistema reproductivo de *T. heterophylla* y evaluar la efectividad de los visitantes florales (diurnos y nocturnos) como polinizadores, se llevaron a cabo tratamientos experimentales de polinización en el vivero y en el campo.

Para evaluar el sistema reproductivo se aplicaron los siguientes cuatro tratamientos en los 10 individuos en el vivero: El tratamiento de Apomixis consistió en la emasculación de las flores mediante la remoción de las anteras de la flor tratada ($n = 16$ flores), evaluando así la posibilidad del desarrollo de semillas sin polinización (Kearns y Inouye 1993). En el tratamiento de Autopolinización espontánea (*sensu* Wendt *et al.* 2001) no se removieron las anteras ni se realizó otra manipulación, determinando si la flor posee la capacidad de autopolinizarse ($n = 18$ flores). En el tratamiento de Xenogamia ($n = 17$ flores) se frotó la antera de un individuo en el estigma de otro individuo previamente emasculado (Tschapka y von Helversen 2007; Martén-Rodríguez y Fenster 2008). El tratamiento de Autogamia (Guitian *et al.* 1993) se realizó con el fin de evaluar si el polen de la flor podía fertilizar los óvulos de la misma flor, y para esto se talló una antera directamente con el estigma de la flor a la que pertenecía la antera ($n = 14$ flores).

El primer elemento considerado para establecer la efectividad de los visitantes diurnos y nocturnos fue el porcentaje de fructificación y la producción de semillas en los tratamientos en el campo (Montalvo y Ackerman 1986; Sahley 2001; Wendt *et al.* 2001).

Los tratamientos en el campo se realizaron de la siguiente manera: El tratamiento Expuesto Diurno (ED) consistió en cubrir el estigma de la flor tratada con un tubo de plástico (ca. 3 x 0.5 cm), sujeto con algodón, durante la noche, destapándolo durante las horas diurnas; de esta forma solamente visitantes diurnos podrían polinizar la flor ($n = 46$ flores). En el tratamiento Expuesto Nocturno (EN) se descubrió el estigma de la flor durante la noche y se tapó con el tubo durante las horas diurnas, para que la flor solo pudiese ser polinizada por visitantes nocturnos ($n = 40$ flores). El tratamiento Expuesto Diurno Emasculado (EDE) se realizó como en el ED, pero también se emasculó la flor al remover las anteras, para que no fuese polinizada por un visitante nocturno ni por polen proveniente de la misma flor ($n = 26$ flores). El tratamiento Expuesto Nocturno Emasculado (ENE) se hizo como el EN, pero se emasculó la flor, evitando que visitantes diurnos la polinizaran y que de presentarse, no fuese con polen del mismo individuo tratado ($n = 24$ flores). El tratamiento Control sirvió como testigo al estar expuesto constantemente a los polinizadores de ambos horarios, al dejar destapado el estigma durante toda la vida de la flor ($n = 41$ flores).

Ocho semanas después del periodo de floración se registró la presencia de fruto para cada flor que fue sometida a alguno de los tratamientos. El porcentaje de fructificación se estimó como el número de frutos producidos dividido entre el número de flores a las cuales se les aplicó tratamiento, por 100 (Montalvo y Ackerman 1986). Posteriormente se contaron manualmente el número de semillas por fruto (Wendt *et al.* 2001; Schmid *et al.* 2011b).

Para valorar si el porcentaje de fructificación guardaba relación con el tratamiento realizado a la flor, se empleó una prueba de X^2 . La prueba de Kolmogorov-Smirnov probó que los datos referentes al número de semillas por tratamiento, tanto de los efectuados en el vivero como en el campo, no tenían normalidad ($P < 0.05$). Por esto se realizó una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis con comparaciones tipo Tukey, para probar si el tratamiento de polinización influye en el número de semillas (Schmid *et al.* 2011a). Tanto para éstos como para el resto de los análisis estadísticos se fijó como nivel de significancia una $P \leq 0.05$ y se usaron los programas Statistica (ver. 7, StatSoft Inc. 2004) y R 2.14.1 (R Development Core Team 2011).

Para establecer si *T. heterophylla* es autocompatible (el polen poliniza óvulos del mismo individuo y se desarrollan en semilla), se obtuvo primero el Índice de Incompatibilidad Autógama (ISI por “Incompatibility Self-Index”) dividiendo el número de semillas promedio del tratamiento del vivero de Autogamia entre el número de semillas promedio del tratamiento del vivero de Xenogamia, donde valores entre 0.30 a 1.00 indican autocompatibilidad. Posteriormente se calculó el Índice de Autopolinización Autógama (IAS por “Index of Autogamy Selfing”) al dividir el número promedio de semillas del tratamiento de Autopolinización espontánea entre el número promedio de semillas del tratamiento de Autogamia. En este índice, valores entre 0.30 y 1.00 indican autogamia (Zapata y Arroyo 1978; Wendt *et al.* 2001; Kamke *et al.* 2011). El IAS se multiplicó por 100 para tener un porcentaje de autocompatibilidad (Martén-Rodríguez y Fenster 2008).

Para determinar si existe limitación de polen en la población, el Índice de limitación de polen (PLI por sus siglas en inglés) se calculó de la siguiente manera: $1 - (\text{semillas o frutos del tratamiento Control} / \text{semillas o frutos del tratamiento Xenogamia})$ (Larson y Barret 2000; Becker *et al.* 2011). En este índice, valores negativos indican un mayor número de semillas en el tratamiento Control que en el de Xenogamia (Becker *et al.* 2011), que se interpreta como que no hay limitación de polen.

2.1.5 Tasa de producción y concentración de néctar

Para establecer la tasa de producción de néctar, y así relacionar esta información con las visitas de los potenciales polinizadores, se eligieron 20 flores al azar de los 10 individuos en el vivero (dos flores de cada individuo), para evitar que visitantes consumiesen el néctar entre mediciones. A estas flores no se les realizó tratamiento de polinización alguno. Todas las mediciones de néctar se hicieron en noches sin lluvia.

El néctar producido fue medido utilizando tubos capilares de 80 μl y 10 μl . La extracción del néctar se realizaba cada 2 h, excepto por la primera medición, ya que las flores de *T.*

heterophylla no abrían lo suficiente para introducir el tubo capilar sin dañar alguna parte floral (San Martín-Gajardo y Sazima 2005), sino hasta 3 h después de la antesis. El volumen total de néctar por flor fue calculado como la suma de los valores de la producción en todos los periodos (Tschapka y von Helversen 2007) para después promediarlo entre todas las flores.

Durante la extracción de néctar se registró la concentración de azúcares contenidos en el néctar (concentración en °Brix), mediante el uso de un refractómetro de campo (Mod. HRT32, rango: 0-32 % Brix, precisión: 0.2%; A. Krüss Optronic, Germany).

Se realizó una correlación de Pearson para determinar la relación entre el volumen y la concentración de azúcares del néctar con el periodo en que se tomaron las mediciones, usando los valores promedio de todas las mediciones, incluyendo cuando los valores fueron de cero.

2.1.6 Observación y grabación de visitantes florales

En este trabajo se consideró como visitante floral a todo animal que tocara la corola de la flor (*sensu* Schmid *et al.* 2011a). Para considerarlos polinizadores potenciales, también se consideró que éstos entraran en la corola de las flores (Muchhala 2006), y que tocaran los órganos reproductores de las flores (Schmid *et al.* 2011b). Debido a que la antesis de *T. heterophylla* abarca la noche y parte del día, se emplearon grabaciones de video con cámaras infrarrojas en combinación con observaciones directas de visitantes diurnos para documentar la fauna de visitantes. El registro de visitantes se llevó a cabo de marzo a abril.

Para la grabación de visitantes nocturnos se usó una cámara de video Sony DCR-SR65 con el modo de visión nocturna (Sony Corporation, Japan) equipada con un flash con luz infrarroja HVL-HILR (Sony Corporation, Japan), colocada en un tripie a 1.3-1.5 m del suelo, dependiendo la altura a la que se encontraba la flor. La cámara se colocó al menos a una distancia de 1.5 m de la flor.

La grabación nocturna iniciaba al anochecer (ca. 18:00 h) y terminaba 3 h después, debido principalmente a las capacidades del equipo y a las condiciones ambientales. Este lapso abarca el pico de forrajeo de la mayoría de los murciélagos filostómidos (Fenton y Kunz 1977). Otros trabajos han usado periodos de grabación similares (tres a cuatro h) (Wendt *et al.* 2001; Quesada *et al.* 2003; Lobo *et al.* 2005). Cuando la bromelia sólo tenía una flor en la noche, se grabó exclusivamente esa, en caso contrario se grabó la inflorescencia completa. En total se grabaron 235 flores en 62 horas.

La observación diurna se llevó a cabo con binoculares tanto durante el horario matutino (09:00 h a 11:00 h) como vespertino (15:00 h a 18:00 h), a una distancia de al menos tres metros del árbol donde estaba la bromelia bajo observación. Observaciones preliminares en el campo demostraron que con este periodo de observación se registraba todas las horas diurnas en las que la flor de *T. heterophylla* se mantenía abierta. Diariamente, dos observadores se dispusieron en un sitio donde pudiesen observar simultáneamente no más de tres individuos distintos durante los periodos antes mencionados. Los artrópodos diurnos fueron registrados al observar las flores de las bromelias cada diez minutos durante una hora, en dos periodos, justo antes del amanecer y antes del anochecer durante 17 días. Se observaron 66 flores en horario diurno en 105 h.

Tanto en las grabaciones como en las observaciones se registró: la especie de visitante, la hora y duración de la visita (ésta fue medida con cronómetro y mediante el uso del programa Final Cut Pro 7, Apple Inc. 2009; a 30fps), si consumían partes de la flor, la forma de aproximarse a la flor, el número de flores que visitaba y la recompensa que buscaba el visitante (Montalvo y Ackerman 1986; Martén-Rodríguez y Fenster 2008; Schmid *et al.* 2011a). Las grabaciones se observaron a 3 fotogramas por segundo (10% más lento que la velocidad original) para poder describir la visita.

Las visitas se contabilizaron como el número de veces que el visitante hizo contacto con el interior de la corola de la flor (Muchhala 2006), discerniendo si hacía contacto con los

órganos sexuales de la flor. De esta forma se consideró una visita diferente si un mismo visitante iba y regresaba a la flor, porque mientras que era fácil distinguir entre visitantes individuales durante el horario diurno, era complicado identificarlos en visitantes nocturnos una vez que éstos salen del área de grabación.

La duración de la visita fue registrada como la cantidad de tiempo que las partes bucales de los polinizadores permanecían dentro de la corola (Muchhala 2006). Si en la grabación el visitante movía toda la inflorescencia al introducir su cabeza en la flor filmada, se consideró que estaba realizando contacto con los órganos reproductores de la flor (Slauson 2000).

Con el fin de identificar a los murciélagos nectarívoros que frecuentaban los sitios de estudio, los cuales se sugerían como polinizadores potenciales con base en las características del néctar, la forma y color de la corola y de la anthesis principalmente nocturna, se llevaron a cabo cuatro noches de muestreo con redes de niebla de 6x12 m (Meyer *et al.* 2011), en las cercanías de individuos de *T. heterophylla* en floración. Las redes eran revisadas cada hora, iniciando desde el anochecer, y finalizando el redeo si pasaban 2 h sin capturas. Después de la captura se procedió a la identificación con guías de campo de las especies de murciélagos (Medellín *et al.* 2008; Reid 2009), y siguiendo la taxonomía de Simmons (2005). Se identificó el sexo y edad (por la osificación de la epífisis de las falanges y el desgaste dentario; Edythe 1988; Ortega y Arita 1999) en los organismos capturados. Se determinó la condición reproductiva de las hembras por el procedimiento de palpación abdominal directa (discerniendo si están embarazadas) o por la observación del desarrollo de los pezones (para saber si son lactantes o no; Racey 2009); a los machos se les determinó su condición reproductiva basándose en la condición de los testículos. Además, se midió la longitud del antebrazo con un vernier. El peso corporal se tomó con una pesola de 100 g (precisión: +/- 1 g).

Se relacionó el porcentaje de fructificación y número de semillas de los tratamientos en el campo con la frecuencia de visitas de cada visitante (porcentaje de visitas de ese visitante,

en relación con el total de visitas registradas; Schmid *et al.* 2011a), el número de visitas en las que los visitantes polinizaban la flor (el porcentaje, de las visitas totales efectuadas por esa especie de visitante, en las que hizo contacto con los órganos reproductores de la flor), y la conducta de cada visitante durante sus visitas a la flor (p. e. consumo polen o pétalos, forma de aproximarse, el número de flores que visitaba y la recompensa buscada; Montalvo y Ackerman 1986).

2.2 RESULTADOS

2.2.1 Fenología y antesis floral

La floración de *Tillandsia heterophylla* abarcó desde la tercera semana de mayo a la segunda de julio. El alargamiento del botón se inicia desde la mañana, ca. de las 11:00 h. La antesis se inicia con la separación de los pétalos, alrededor de las 18:42 h (± 31 min (promedio \pm DS), rango: 17:36-20:35, $n = 120$ flores), marchitándose entre 15 y 16 h después ($n = 132$ flores). Este periodo coincide con la receptividad del estigma (ca. 15 h, $n = 13$ flores; Figura 2.3).

Al abrir la corola quedan expuestos tanto el estigma como las anteras, mismas que ya cuentan con polen sobre su superficie. Las anteras carecían de polen en las primeras horas del día siguiente (06:00 h) (Figura 2.3). La floración de una planta de bromelia duró alrededor de 17 d (17.13 ± 9.51 días, $n = 16$ inflorescencias) en los cuales tenía un promedio de 0.4 flores diarias ± 0.2 , rango: 0 a 3 flores ($n = 298$ flores en 27 individuos).

2.2.2 Sistema reproductivo y efectividad de visitantes

En todos los tratamientos en el vivero el porcentaje de fructificación fue de alrededor de 60%, existiendo sólo 5.36% de diferencia entre el tratamiento en el que se desarrollaron más frutos (Apomixis) y el de menor (Autogamia; Cuadro 2.1).

Cuadro 2.1. Resultados de los tratamientos de polinización realizados a las flores de *T. heterophylla* para determinar el sistema reproductivo. El número de semillas se muestra con el número promedio \pm su desviación estándar.

Tratamiento	Número de Flores	Número de Frutos	% Fructificación n	Semillas promedio por Fruto
Apomixis	16	10	62.50	310.50 \pm 273.13
Auto-polinización espontánea	18	11	66.66	315.72 \pm 247.29
Xenogamia	17	10	58.82	281.47 \pm 258.27
Autogamia	14	8	57.14	269.71 \pm 275.13

El menor porcentaje de fructificación en el campo se presentó en el tratamiento Expuesto Nocturno Emasculado (ENE; 70.83%), con casi 15% menos frutos que el tratamiento Control. La mayor fructificación se dio en el tratamiento Expuesto Diurno (94.87%; Cuadro 2.2). Tanto en los tratamiento en el vivero como en el campo, existe una influencia del tipo de tratamiento en el porcentaje de fructificación ($X^2=10.082$, $df=4$, $P<0.05$).

Cuadro 2.2. Resultados de los tratamientos de polinización de *T. heterophylla* realizados para determinar la efectividad de los polinizadores. Nombre de los tratamientos: ED: Expuesto Diurno, EN: Expuesto Nocturno, EDE: Expuesto Diurno Emasculado, ENE: Expuesto Nocturno Emasculado. El número de semillas se muestra con el número promedio \pm su desviación estándar.

Tratamiento	Número de Flores	Número de Frutos	% Fructificación	Semillas promedio por Fruto
ED	39	37	94.87	552.17 \pm 171.72
EN	32	29	90.62	526.28 \pm 201.63
EDE	23	19	82.60	418.30 \pm 234.55
ENE	21	14	66.66	379.66 \pm 286.66
Control	33	27	81.81	485.39 \pm 246.18

El tratamiento de polinización no tuvo influencia en el número de semillas producidas en el vivero ($H=0.198$, $df=3$, $P>0.05$; $n = 65$ flores de 10 individuos del vivero; Cuadro 2.1) ni en el campo ($H=9.14$, $df=4$, $P>0.05$; $n = 148$ flores de 16 individuos). De acuerdo al Índice de Incompatibilidad Autógama y al Índice de Autopolinización Autógama, *T. heterophylla* es completamente autocompatible ($ISI=0.95$, $IAS=1.17$). El Índice de limitación de polen tuvo un valor de -0.72 usando el número de semillas promedio y -0.39 usando el porcentaje de fructificación, indicando que hubo más frutos y semillas en el tratamiento Control en relación con el tratamiento de Xenogamia, indicando que no hay limitación de polen.

2.2.3 Tasa de producción y concentración de néctar

El volumen promedio del néctar de las flores de *T. heterophylla* fue de $82.21 \mu\text{l}$ (± 48.13 , $n = 20$ flores de 10 plantas), y la concentración promedio de azúcares disueltos fue de 6.33 °Brix (± 4.90 °, $n = 20$ flores de 10 plantas). La producción de néctar se da por ca. 12 h, a ca. $7 \mu\text{l/h}$. El volumen más alto de néctar ($50.38 \pm 35.32 \mu\text{l}$) se presentó a las 20:00, y la producción desciende a casi cero 12 h después ($0.13 \pm 0.32 \mu\text{l}$). Lo mismo ocurre con la concentración de azúcar disuelta, que a las 20:00 es de 13.23% g/g (± 3.12) y luego desciende a 0.19% g/g (± 0.75) 12 h después. Los resultados promedio por hora se resumen en la Figura 2.3.

Una correlación de Pearson determinó que existe una relación negativa significativa entre la hora de la toma del néctar (intervalos de 2 h) y el volumen ($r=-0.60$, $P<0.05$), también entre la hora y la concentración de azúcares disueltos ($r=-0.82$, $P<0.05$).

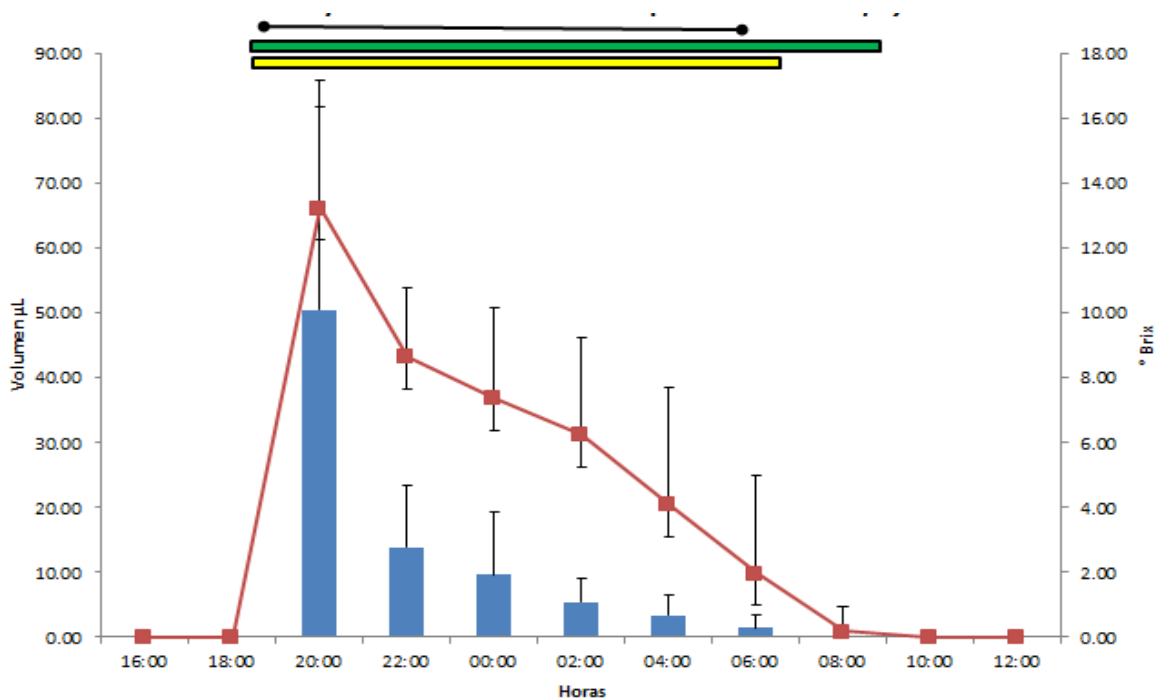


Figura 2.3. Volumen en µl (barras) y concentración de azúcares ° Brix (línea) producido en las flores de *T. heterophylla*. Las líneas grises sobre ellas representan el error estándar. La barra verde indica la duración de la receptividad del estigma. La barra amarilla muestra la dehiscencia de las anteras y el tiempo que se encuentra el polen en éstas. La línea negra marca la duración aproximada de la noche en el sitio de estudio.

2.2.4 Observaciones y grabación de visitantes florales

Se llevaron a cabo 167 h de observación (62 durante el horario nocturno y 105 durante el diurno) en 301 flores de *T. heterophylla* (235 durante la noche y 66 durante el día), en las cuales se registraron 99 visitas (40 durante la noche y 59 en el día) de ocho especies de visitantes florales.

2.2.4.1 Visitantes nocturnos

En 62 h de grabación nocturna se detectaron 40 visitas, nueve de las cuales fueron de una especie de polilla (Noctuidae) y 31 por una especie de murciélago (Cuadro 2.3). Durante sus visitas, la polilla aterrizaba en la corola de la bromelia y, en al menos siete de las nueve

visitas, entró a la corola, permaneciendo dentro de ella 88 ± 93 segundos ($n = 7$ visitas). Las visitas comprendieron entre las 20:00 h y las 23:40 h. Debido a que el nectario de *T. heterophylla* se encuentra debajo del ovario, a la altura del sépalo, para alcanzar el néctar acumulado la polilla tenía que introducir casi todo su cuerpo en la apertura de la corola, obligándola a tocar las anteras y estigma, ya que se encuentran a casi la misma altura. En las siete visitas en las que se introdujo en la flor, la polilla la abandonó inmediatamente luego de salir de la corola. En dos visitas, la polilla sólo reposó en la corola de la flor, sin introducirse en ella, y en una de estas ocasiones, la polilla fue depredada por una rana que saltó de las hojas del fitotelmata de la bromelia.

Se muestrearon murciélagos con redes en dos noches no consecutivas, totalizando 168 h/red, en las cuales se capturaron nueve individuos de cuatro especies: *Carollia sowelli* Baker, Solari y Hoffmann, *Desmodus rotundus* Geoffroy, *Sturnira lilium* Geoffroy y *Sturnira ludovici* Anthony; ninguna de las cuales cargaba polen de *T. heterophylla*. No obstante, en las grabaciones se observó a un murciélago de talla mediana y sin cola o uropatagio visible visitando las flores de *T. heterophylla*; con un hocico aparentemente más largo que el de los ejemplares capturados, por lo que se consideró como nectarívoro. Ejemplares del murciélago nectarívoro *Anoura geoffroyi* Gray (Phyllostomidae: Glossophaginae) fueron capturados en la zona, en otra parte de este estudio (ver Capítulo 4), y éste coincidía con las características de la especie que visitaba a *T. heterophylla*, por lo cual se consideró que esta especie es la que hacía las visitas a la bromelia.

El murciélago *A. geoffroyi* realizó 31 visitas a las flores de *T. heterophylla*. Las visitas iniciaron una hora después del anochecer y proseguían hasta las 00:00 h, sin embargo, la mayoría de las visitas ocurrieron entre las 20:00 h y las 21:40 h. El murciélago se acercaba a una flor y se alejaba antes de volver y visitar la flor antes inspeccionada. Durante la visita, *A. geoffroyi* introducía su cabeza completa en la corola de *T. heterophylla*, y empujaba, logrando que toda la cabeza se introdujese en la flor, ocasionando un movimiento en toda la espiga. No se observó la remoción de las anteras para consumirlas o alguna captura de insectos posados sobre la flor, por lo que se considera que sólo buscaba néctar. La duración

de la visita, desde que introduce la cabeza en la corola hasta que la retira, es de 0.15 ± 0.09 seg ($n = 5$ visitas). El murciélago contactaba las anteras con la cabeza y el cuello.

2.2.4.2 Visitantes diurnos

En 105 h se observaron 59 visitas a *T. heterophylla*. La bromelia tuvo considerablemente más visitantes diurnos que nocturnos. Al menos tres especies de colibríes, una abeja del género *Euglossa*, una especie de hormiga, una especie de mosca Calliphoridae y gran cantidad de fauna que no consumía algún recurso floral (Cuadro 2.3).

Los colibríes que visitaron *T. heterophylla* fueron *Amazilia cyanocephala*, *Amazilia beryllina* y *Lampornis* sp., con un total de 29 visitas entre las tres especies (14, 2 y 13 visitas respectivamente). La duración de la visita para *A. cyanocephala* fue de 8 ± 21 seg ($n = 8$ visitas) y de 1 ± 0.5 seg para *Lampornis* sp. ($n = 13$ visitas); en las dos visitas de *A. beryllina* no se pudo medir la duración de alguna. Los tres colibríes forrajearon de forma similar, acercándose de frente o por arriba de la flor lo suficiente para introducir su pico y retirarlo después retrocediendo y alejándose. Las dos especies de *Amazilia* fueron visitantes matutinos de *T. heterophylla*, siempre visitando entre 07:00 h y 09:30 h. Al principio del periodo de observaciones se registró una disputa por las flores entre un individuo de *A. cyanocephala* y un *A. beryllina*, después de la cual, en las observaciones subsecuentes sólo se registró a *A. cyanocephala*; además, *A. cyanocephala* sólo visitó a *T. heterophylla* después de haber visitado a individuos de *Tillandsia limbata* y *Tillandsia kirchoffiana* (especies con flores con características ornitófilas) que florecían en árboles cercanos. *Lampornis* sp. visitó a *T. heterophylla* exclusivamente antes de anoecer, ca. 18:20 h; además, *Lampornis* fue el único de los visitantes florales que intencionalmente abrió los pétalos de flores de *T. heterophylla* cuando aún no presentaban anthesis los individuos que él visitaba.

Una especie de abeja *Euglossa* (Apidae Euglossini) empezó a visitar a *T. heterophylla* ya avanzada la floración y lo hacía en dos momentos del día, temprano en la mañana (05:50-

07:20 h) y en la tarde antes de oscurecer (ca. 18:00 h), aunque de 25 visitas, sólo dos fueron antes del anochecer. La duración promedio de las visitas fue de 346 ± 246 seg ($n = 17$ visitas), en los que sólo acumulaban polen en su último par de patas y después salían volando. Durante la colecta del polen, La abeja usaba su primer par de patas y las mandíbulas, liberando el polen de las anteras que cubría todo el interior de la corola. Una vez colectado el polen de una flor, la abeja abandonaba la flor sin visitar algún otro individuo de bromelia con flor. Las abejas *Euglossa* también visitaban otras especies de *Tillandsia* cercanas en busca de polen, pero después de visitar a *T. heterophylla*.

Otros insectos a los que se les observó consumiendo néctar de manera oportunista fueron tres hormigas y dos moscas. En ambos casos, extraían el néctar de la base de la corola, en la unión de los pétalos con los sépalos. Las hormigas abrieron un agujero en la base de los pétalos y fue donde comenzaron a tomar el néctar. Las moscas aprovecharon una flor con pétalos que abrieron de forma atípica, lo que les permitió entrar a la altura del cáliz sin tener que entrar por la apertura de la corola.

Cuadro 2.3. Principales visitantes florales de *T. heterophylla* registrados durante la observación con cámaras de video y la observación directa. Sólo se muestran en la tabla los visitantes que utilizaron algún recurso floral.

Periodo de actividad	Especie	Frecuencia Relativa (N) %	Recompensa/Objetivo visita	Categoría de Visitante
Nocturno	<i>Anoura geoffroyi</i> (Murciélago)	(31) 31.31	Néctar	Polinizador
Diurno	<i>Amazilia cyanocephala</i> (Colibrí)	(14) 14.14	Néctar	Polinizador
Diurno	<i>Amazilia beryllina</i> (Colibrí)	(2) 2.02	Néctar	Polinizador
Diurno	<i>Lampornis</i> sp. (Colibrí)	(13) 13.13	Néctar	Polinizador
Diurno	<i>Euglossa</i> sp.1 (Abeja)	(25) 25.25	Polen	Polinizador
Diurno	Formicidae sp.1 (Hormiga)	(3) 3.03	Néctar	Robador de néctar
Nocturno	Noctuidae sp.1 (Polilla)	(9) 9.09	Néctar	Polinizador
Diurno	Calliphoridae sp.1 (Mosca)	(2) 2.02	Néctar	Ladrón de néctar

2.3 DISCUSIÓN

La bromelia *T. heterophylla* es una especie autocompatible (Cuadro 2.1) y generalista en su polinización, ya que tres tipos de visitantes polinizan a esta bromelia (murciélagos, colibríes, abejas), produciendo un porcentaje de fructificación similar con igual número de semillas en los frutos (Cuadro 2.2), y parece no estar limitada de polen, ya que la fructificación en el campo fue mayor a la obtenida en el vivero. Estas características, junto

con su antesis que se extiende por un periodo nocturno y diurno, serían esperadas de una planta con síndrome bimodal.

El número de semillas producidas por los visitantes de ambos horarios no difiere entre sí, (Cuadro 2.1), y el porcentaje de fructificación de los tratamientos ED y EN fue superior al 90%, y los del EDE y el Control fue superior al 80% (Cuadro 2.2), pero el tratamiento ENE fue de 66%, es decir, 15% menor a la fructificación del tratamiento control y 16% menor a su equivalente diurno (EDE). Lo anterior hace suponer que no solamente la fructificación es mayor en los tratamientos sin emasculan, si no que de hecho las visitas de animales diurnos producen más frutos (el porcentaje de fructificación de ED y EDE es mayor que EN y ENE). El hecho de que el porcentaje de fructificación en el campo rebasó el 90% en los tratamientos en los que no se emascularon las flores puede indicar que las diferencias entre el porcentaje de fructificación entre tratamientos en el campo se deba a la acción combinada de los distintos polinizadores y al potencial de *T. heterophylla* de autopolinizarse. *T. heterophylla* incluso parece tener cierta capacidad apomíctica (Cuadro 2.1), pero la similitud en el porcentaje de fructificación entre el tratamiento de Autopolinización espontánea y el de Apomixis, junto con la habitual observación de polen presente en el estigma al momento de abrir la flor, hacen suponer más bien que las semillas obtenidas en el tratamiento de Apomixis se deban a la autopolinización.

En general, los visitantes tienen una frecuencia de visita similar: El murciélago *A. geoffroyi* tuvo el mayor número de visitas (31 visitas), los colibríes (las tres especies en conjunto) le siguen en frecuencia (29), y con igual porcentaje de visitas que polinizan (100%). La abeja *Euglossa* tiene una frecuencia apenas 6.06% menor (25) que la del murciélago, y con un porcentaje de visitas en las que efectuaban la polinización similar al del murciélago y al grupo de los colibríes (92%). Sin embargo, hay que recordar que *T. heterophylla* tiene una antesis predominantemente nocturna (nueve de las 15 h que permanece abierta la flor transcurren durante la noche), en la que tanto el estigma como el polen se encuentran disponibles para la polinización (Figura 2.3).

La autogamia parece ser común en las bromelias (Matallana *et al.* 2010), pero el entender la efectividad de los visitantes florales como polinizadores es importante para conocer la biología reproductiva de la planta (Fumero-Cabán y Meléndez-Ackerman 2007). Para entender el desempeño de un visitante en la polinización, hay que considerar la conducta (Montalvo y Ackerman 1986), el tiempo de las visitas y eventos importantes en la vida funcional de la flor: la liberación del polen y la receptividad del estigma. Si no, la planta “puede parecer más generalista de lo que realmente es, en términos de su polinización efectiva” (Wilmer 2011). Además, varios rasgos florales (aroma, corola tubular blanca, longitud de estambres), así como la composición (Krömer *et al.* 2008) y concentración (6.33 °Brix) de néctar –incluyendo su patrón de producción, siendo mayor al principio de la noche-, indican una planta con rasgos típicamente asociados a la polinización por animales nocturnos.

El color pálido de los pétalos y el aroma del néctar puede ser un atrayente para los murciélagos (von Helversen y Winter 2003), y de hecho, el visitante más frecuente fue el murciélago *Anoura geoffroyi* (31% de las visitas). Éste hizo contacto con los órganos reproductores de las flores en todas sus visitas. Además de ser el polinizador nocturno más frecuente, la producción de néctar tiene un patrón que es similar al encontrado en otras bromelias visitadas por murciélagos (mayor volumen y concentración al principio de la noche y disminuyendo con el tiempo; Tschapka y von Helversen 2007). Incluso la composición y concentración del néctar de *T.heterophylla* indican que los murciélagos son los principales polinizadores (Krömer *et al.* 2008).

El único polinizador invertebrado nocturno registrado fue una especie de polilla Noctuidae. Esta especie buscaba el néctar y se consideró que polinizaba por la forma de introducirse en la corola y el tiempo que permanecía dentro de ésta, al menos en el 78% de sus visitas (Cuadro 2.3). La polilla Noctuidae no representaría un polinizador nocturno tan efectivo por la reducida frecuencia de visita que tuvo en comparación con los murciélagos, colibríes y abejas (ver Cuadro 2.3) y porque en la mayoría de las visitas en las que polinizó, los murciélagos ya habían visitado las mismas flores. La flor de *T. heterophylla* es, por sus

características (color, aroma) atractiva para una polilla (Gardner 1986), pero la baja frecuencia de visita puede ser debida a muchos factores, como a las condiciones ambientales imperantes en el momento de las grabaciones o tal vez por la presencia de depredadores en la bromelia (p. e. arañas y ranas).

Basándose en las horas en las que está disponible el polen en las anteras y el estigma está receptivo, es más posible que *A. geoffroyi* sea el polinizador (con polen propio o foráneo) de las flores disponibles en una noche. Una flor visitada por *A. geoffroyi* quedaría con el estigma cubierto de polen y las anteras prácticamente despojadas de polen, como lo comprueban las observaciones en el campo posteriores a las grabaciones nocturnas. Los visitantes que forrajeasen matutinemente, en las flores de *T. heterophylla* visitadas por *A. geoffroyi*, probablemente tendrían poco o ningún efecto directo en la producción de semillas (Montalvo y Ackerman 1986), ya que casi no habría polen presente para las horas de forrajeo típicas de las abejas o colibríes. Este murciélago significaría un buen vector de polen para *T. heterophylla*, entre otras razones, porque su fisiología de nectarívoro lo obliga a alimentarse de forma casi continua durante su periodo de actividad (Tschapka y von Helversen 2007), que comienza cerca de 1 h después del anochecer (Ortega y Alarcón 2008) y coincide con el pico de néctar de la bromelia. Su patrón de forrajeo propicia la visita a distintos individuos de bromelia, y por ello, la xenogamia (Ohashi y Thomson 2005). Además, al ser un nectarívoro de talla mediana, se ve menos afectado por la perturbación de su hábitat (Quesada *et al.* 2003), permitiéndole viajar por más distancia entre los distintos parches de vegetación donde *T. heterophylla* estuviese presente. El murciélago *A. geoffroyi* previamente se ha reportado como visitante de las bromelias *Thecophyllum irazuense* (Salas 1973) en Costa Rica y *Vriesea longiscapa* (Sazima *et al.* 1999) en Brasil.

Sin embargo, el néctar de *T. heterophylla* tiene un volumen acumulado (82.21 μ l) lejano al esperado para una planta quiropterófila (Tschapka y Dressler 2002) y con azúcares disueltos (6.33 °Brix) más bajos en comparación con otras bromelias visitadas por murciélagos (p. e. *Werauhia gladioliflora* tiene 17% de azúcar en el néctar y en promedio

1129 μ l de volumen; Tschapka y von Helversen 2007). Por esto es probable que el néctar de esta bromelia no constituya un recurso muy atractivo para el murciélago. A modo de comparación, en la bromelia *Tillandsia macropetala*, en el mismo año en que se realizó las observaciones de visitantes de *T. heterophylla*, los murciélagos efectuaban 8.8 visitas/planta (Capítulo 3), mientras que con *T. heterophylla* el valor sería de 4.4 visitas/planta; una diferencia entre ambas bromelias es que *T. macropetala* produce más néctar y con más azúcar (más de 400 μ l y más de 7° Brix; ver Capítulo 3). La abundancia de *T. heterophylla* en el sitio debería tomarse en cuenta para examinar la calidad y cantidad de recurso disponible para los murciélagos en una época de floración determinada; además, el murciélago *A. geoffroyi* tiene una dieta diversa, por lo que no necesariamente dependería del néctar para su subsistencia (Ortega y Alarcón 2008). Por ello, *T. heterophylla* usaría a otros visitantes como polinizadores secundarios (Martén-Rodríguez y Fenster 2008) cuando los murciélagos no llegasen a sus flores.

El extender la antesis para promover la polinización por visitantes diurnos y nocturnos permite a las flores de *T. heterophylla* ser visitada por animales que difieren en su comportamiento, morfología y efectividad (Ortega-Baes *et al.* 2011.); la floración crepuscular puede ser una tendencia para las plantas que son polinizadas por visitantes diurnos y nocturnos (ver Miyake y Yahara 1998 y referencias en éste). Las flores actinomorfas con pétalos libres de *T. heterophylla* favorecen no sólo que una variada fauna pueda llegar al néctar (Gómez y Zamora 1999), también que muchos de estos visitantes pueden transferir efectivamente polen de *T. heterophylla* independientemente de sus características morfológicas o hábitos tróficos (Gómez 2002). Esto le permitiría a *T. heterophylla* atraer a potenciales polinizadores cuando sus principales polinizadores no la visiten.

Entre los visitantes diurnos, las abejas *Euglossa* fueron los únicos polinizadores que buscaban polen, y al hacerlo era cuando entraban en contacto con las anteras y estigma de las flores de *T. heterophylla* (92% de las visitas de las abejas polinizaban la flor). El aroma de las flores de *T. heterophylla* puede funcionar como atrayente para este visitante. Las

ocasiones en las que *Euglossa* visitó una flor y no polinizó se debieron a que el polen ya había sido removido durante la noche y no estaba disponible (ya sea por la duración habitual del polen en las anteras de poco más de 12 h o porque la lluvia retiró el polen). De hecho, es posible que la diferencia en el porcentaje de fructificación de las flores visitadas por polinizadores diurnos y nocturnos se deba a la mayor saturación de polen que efectuaba la abeja *Euglossa*, ya sea durante la colecta de polen en las flores no emasculadas o por la visita a flores emasculadas cuando aún conservaba la carga de polen en su cuerpo. La contribución de la abeja *Euglossa* a la fructificación de *T. heterophylla* varió en el tiempo que duró el trabajo en el campo, ya que las visitas de esta especie a las flores de la bromelia se produjo hasta avanzada la floración.

Los colibríes son considerados también polinizadores, aunque sus frecuencias de visita son bajas a nivel de especie (ver Cuadro 2.3). Al considerar a los colibríes de forma conjunta, realizan el 29% de las visitas totales, todas haciendo contacto con los órganos reproductores de la flor. El patrón de visita y conducta de los colibríes se torna interesante por varios motivos: primero, por la desaparición de una de las especies de colibríes al inicio de la floración. *Amazilia beryllina* fue registrado visitando a *T. heterophylla* al inicio de las observaciones en el campo durante un par de días. No obstante, luego de que cerca de los individuos de bromelias bajo observación se atestiguó un acto de agresión por parte de un *Amazilia cyanocephala* a un individuo de *A. beryllina*, *A. cyanocephala* fue el único colibrí en visitar a *T. heterophylla* en horas matutinas. *Lampornis* era el único colibrí en visitar las flores en horas crepusculares. La distribución agregada de plantas en floración puede promover la conducta territorial de los colibríes (Sazima *et al.* 1996). Los machos de colibríes territoriales (Feinsinger y Colwell 1978) mantienen el flujo de polen en un grupo de plantas determinado, y puede reducir el flujo de genes entre poblaciones cercanas (Linhart 1973; Stiles 1975; Kress 1983; Webb y Bawa 1983).

Otro rasgo a destacar de las visitas de *A. cyanocephala*, es que en todas las visitas (14 visitas) que realizó a *T. heterophylla*, siempre visitó primero a otra especie de bromelia cercana, la bromelia *Tillandsia limbata* (troquilófila de acuerdo a la forma de sus flores, así

como por su composición y concentración de néctar; Krömer *et al.* 2008) y en algunas ocasiones también a *Tillandsia kirchoffiana*. La cercanía a una especie co-ocurrente con una mayor recompensa podría ocasionar diferencias en el ensamble de polinizadores que visita a una población de plantas con menor recompensa (Gómez 2002). Para los colibríes, el néctar de *T. heterophylla* es más diluido ($6.33 \pm 4.09\%$) que el promedio de los néctares que consumen (20% a 25%; Nicolson y Fleming 2003), y se sabe que al consumir néctares muy diluidos, los colibríes son incapaces de incrementar su ingesta lo suficiente para mantener su balance energético (Fleming *et al.* 2004). Además, la polinización con colibríes está correlacionada con el alto contenido en sucrosa (Baker y Baker 1982; 1983) en el néctar, mientras que el néctar de *T. heterophylla* es dominante en hexosas (Krömer *et al.* 2008).

Lo anterior puede volver al néctar de *T. heterophylla* poco atractivo para los colibríes. No obstante, la visita a las flores de *T. heterophylla* que florecen cerca de otras especies con un néctar más idóneo para los requerimientos del colibrí –así como con una coloración más llamativa-, podría significar un recurso adicional para un visitante oportunista. Se sabe que los colibríes pueden cambiar la preferencia de azúcares en el néctar que consumen de acuerdo a la concentración de éste, tomando néctares más ricos en hexosas en concentraciones bajas (Schondube y Martínez-del-Río 2003). Pero éste recurso sólo podría estar disponible en las flores que no hayan recibido alguna visita en la noche anterior, ya que la producción de néctar en el horario en que típicamente visitaba *A. cyanocephala* era casi cero ($0.13 \pm 0.32 \mu\text{l}$). También existe la posibilidad de que las visitas sean de hecho por conseguir agua, ya que las lluvias eran frecuentes durante el tiempo en el que se llevaron a cabo las observaciones, y la morfología floral de *T. heterophylla* permitía que se almacenara agua en su corola. Cinco de las 14 visitas de *A. cyanocephala* a *T. heterophylla* ocurrieron después de una lluvia intensa y en momentos en los que se observó agua acumulada en la flor.

Lampornis visitaba a las flores antes del anochecer, e incluso abría con el pico botones aún antes de la antesis, conducta vista en otras especies de planta con antesis crepuscular (v.gr.

Sazima *et al.* 1994). Aunque la primera medición de néctar no ocurrió hasta más de una hora después (20:00 h) de la típica hora de visita de *Lampornis* (ca. 18:20 h), el volumen acumulado en las primeras 3 h luego de la antesis ($50.38 \pm 35.32 \mu\text{l}$), así como su concentración ($13.23 \pm 3.12 \text{ }^\circ\text{Brix}$), es mayor que en el resto de la noche. Estos valores asemejarían más a los registrados en una bromelia ornitófila (p.e. *T. multicaulis*: 18% a 8% de azúcar y 2 a 12 μl ; Ordano y Ornelas 2004) y, potencialmente, significaría un buen alimento antes de perchar y pasar la noche fría del BMM. Patrones similares de visitas matutinas y crepusculares de colibríes, a plantas con antesis nocturna se han hallado en otros trabajos (p.e. Ramírez *et al.* 1984; Sazima y Sazima 1988; Sazima *et al.* 1989; Gribel y Hay 1993; Buzato *et al.* 1994; Kay 2001; Muchhala 2003; Martín-Rodríguez y Fenster 2008).

Así, los colibríes tenían oportunidad de polinizar a *T. heterophylla* en dos momentos durante la antesis de sus flores, al atardecer y en la mañana siguiente. Una diferencia crucial entre estos dos instantes es que al atardecer, no sólo la recompensa era más atractiva para el colibrí, también era más probable que las visitas ocurriesen en momentos en los que el estigma es receptivo y hay polen fresco, al menos cuando el colibrí no forzaba la apertura de la corola. En la mañana, era probable que las visitas ocurriesen en una flor ya polinizada o que al visitar, el colibrí dejase polen de otra especie de bromelia, lo que reduciría la calidad del servicio en la polinización que ofrece el colibrí.

Considerando esto, aunque *T. heterophylla* tiene una flor con características quiropterófilas, al ampliar su antesis y la receptividad del estigma le ha permitido desarrollar un sistema de polinización “a prueba de fallos” que, puede ser útil para asegurar la reproducción sexual al expandir sus polinizadores (Dar *et al.* 2006), aun cuando la variación en la abundancia de los polinizadores y de sus patrones de visita cambie en el tiempo y en el espacio (Bush y Beach 1995; Gómez 2002; Muchhala 2003). Es sabido que incluso plantas cuyas recompensas (generalmente néctar) están sincronizadas para atraer al “mejor” visitante al poco tiempo de la antesis y la dehiscencia de las anteras (como en este caso lo sería *T. heterophylla* y *A. geoffroyi*), pueden mantener niveles remanentes de recompensa para

atraer a otros visitantes no especializados más tarde durante la antesis (Wilmer 2011). La efectividad de los polinizadores diurnos y nocturnos puede variar en el tiempo y espacio (p.e. Sahley 2001; Bustamante *et al.* 2010), por lo que una planta que emplee ambos grupos de polinizadores puede compensar estas variaciones. Existen estudios que han demostrado que aunque la efectividad de los polinizadores nocturnos es mayor, la abundancia de los polinizadores diurnos hace que la efectividad de los diurnos se incremente (ver Young 2002 para referencias). También se ha demostrado, por ejemplo con *Lonicera japonica* (Caprifoliaceae), que los visitantes diurnos y nocturnos tienen diferente influencia en el éxito reproductivo, ya que los primeros dispersan más granos de polen en distancias cortas, y los nocturnos lo hacen por distancias más largas (Miyake y Yahara 1998).

Sería interesante conocer el ensamble de visitantes de *T. heterophylla* y la efectividad de los polinizadores en otros sitios con diferentes tipos de vegetación y fauna donde la actividad de murciélagos y colibríes probablemente está reducida, ya que es probable que la contribución al éxito reproductivo de la planta varíe entre sitios. También sería importante emplear diversos indicadores para medir el éxito reproductivo de la planta, así como realizar tratamientos de polinización en años diferentes (Brody 1997), para así hacer comparaciones con estos resultados.

Finalmente, también sería importante evaluar de manera adecuada la importancia de néctar de *T. heterophylla* para sus visitantes, como en este caso el murciélago *A. geoffroyi*, y de ser posible, relacionarlo con los requerimientos específicos los visitantes en la época de floración de la bromelia. Entender cuáles son los elementos que pueden ayudar a mantener las poblaciones de las bromelias y la fauna asociada a ellas puede ser información útil, para planes que busquen disminuir los efectos de la fragmentación de los bosques, particularmente en ecosistemas que sufren cambios acelerados por las actividades humanas.

CAPÍTULO 3

BIOLOGÍA FLORAL Y REPRODUCTIVA DE *Tillandsia* *macropetala*



3 INTRODUCCIÓN

Bromeliaceae es una familia de plantas que está restringida casi exclusivamente al Neotrópico (excepto por *Pitcairnia feliciana*, que es africana). Según Givinish *et al.* (2011), la familia posee cerca de 3,140 especies en 58 géneros, y cerca del 50% de estas especies son de hábito epífita (Benzing 2000).

En las bromelias predomina la polinización por vertebrados sobre la entomofilia (Sazima *et al.* 1989; Canela y Sazima 2005), y en general, la mayoría son consideradas como plantas polinizadas por colibríes (troquilofilia) (Canela y Sazima 2005; Krömer *et al.* 2008). Algunos géneros de bromelias (p.e. *Tillandsia*, *Vriesea*) han evolucionado independientemente síndromes de polinización para insectos, aves y murciélagos en distintas ocasiones (Benzing 2000), lo cual sugiere que para esta familia los costos de alternar entre síndromes de polinización no son mayores a los beneficios de los mismos (Fleming y Muchhala 2008). Aun cuando se conoce que en las bromelias existe esta flexibilidad en su espectro de visitantes florales, relativamente pocos son los trabajos que tratan sobre el tema (p.e. Sazima *et al.* 1989; Sazima *et al.* 1995; Kessler y Krömer 2000; Krömer *et al.* 2006; Tschapka y von Helversen 2007; Krömer *et al.* 2008; Schmid *et al.* 2011a; Schmid *et al.* 2011b).

La bromelia *Tillandsia macropetala* Wawra fue recientemente diferenciada como una especie distinta a *Tillandsia viridiflora* (Beer) Baker por Krömer *et al.* (2012). Sin embargo, existe un gran vacío en el conocimiento sobre la ecología de ambas especies. En particular, se desconoce la fauna de visitantes florales y datos como la hora de antesis o de producción de néctar.

En contraste con la mayoría de especies del género *Tillandsia*, *T. macropetala* y *T. viridiflora* no poseen brácteas coloreadas vistosamente con flores contrastantes, típicas de la polinización por colibríes (Wilmer 2011), en cambio tienen una corola blanquecina y brácteas verdes (Krömer *et al.* 2012). Debido a que su antesis es nocturna, y tiene

estambres y pistilo extendidos, Hietz y Hietz-Seifert (1994) sugirieron para *T. viridiflora* (aun incluyendo a *T. macropetala*) que las polillas de la familia Sphingidae (síndrome floral de esfingofilia; Endress 1994) podían ser los polinizadores más probables de esta especie.

No obstante, observaciones personales de T. Krömer, así como la identificación de un néctar diluido y rico en hexosas (Krömer *et al.* 2008) sugieren que los murciélagos son los polinizadores de esta especie (síndrome de quiropterofilia). Esto pese a que la flor de *T. macropetala* no presenta grandes flores zigomórficas con forma de campana o tubulares, típica de los otros géneros de bromelias en los que sí se ha identificado el síndrome (*Encholirium*, *Guzmania*, *Pitcairnia*, *Puya*, *Vriesea* y *Werauhia*; Krömer *et al.* 2007; Tschapka y von Helversen 2007; Fleming *et al.* 2009).

Además, las flores de *T. macropetala* permanecen abiertas durante la mañana del día siguiente, lo que puede habilitar a otros polinizadores a visitarla. Una antesis extendida permite la polinización de visitantes diurnos y nocturnos (Dar *et al.* 2006; Ortega-Baes *et al.* 2011). De esta forma *T. macropetala* mostraría un sistema de polinización bimodal (Schmid *et al.* 2011a) entre polinizadores nocturnos y diurnos.

La efectividad como polinizadores de visitantes diurnos y nocturnos se ha evaluado en otros trabajos, encontrando que estos visitantes tienen igual importancia para la reproducción de la planta (p.e. Cruden 1973; Jennersten y Morse 1991; Guitian *et al.* 1993; Fleming *et al.*, 1996; Sahley 1996; Miyake y Yahara 1998; Young 2002; Dar *et al.* 2006), o que son los visitantes nocturnos los más efectivos polinizadores (Sazima y Sazima 1988; Sazima *et al.* 1989; Buzato *et al.* 1994; Slauson, 2000; Muchhala 2003; y referencias en Young 2002). Hasta el momento, en México, no se han realizado estudios de polinización con una bromelia que pueda presentar características florales que permitan la polinización por parte de visitantes diurnos y nocturnos.

Las bromelias epífitas son consideradas, en la selva baja y selva alta del sureste de Brasil, como el grupo de plantas más importante y representativa (con el 30% de especies) en dos ensambles de plantas polinizadas por murciélagos (Sazima *et al.* 1999); lugar en el que también hay especies de bromelias con características bimodales que son polinizadas por colibríes (Sazima *et al.* 1999). En un ambiente parecido (“lower montane wet forest”) en Costa Rica, el morfotipo de polen perteneciente a la familia Bromeliaceae, después del morfotipo de *Burmeistera* spp., fue el más frecuente en el pelaje de murciélagos (Muchhala 2003). En la vegetación de sabana de una sierra de 2,000 msnm, en el sureste de Brasil, la bromelia terrestre *Encholirium glaziovii* es polinizada por el murciélago *Lonchophylla bokermanni*, además de ser visitada por polillas Noctuidae, Sphingidae, y colibríes, aunque ninguno de estos últimos la polinizaba (Sazima *et al.* 1989).

El objetivo de este trabajo es conocer la biología floral y reproductiva de *T. macropetala* para identificar a los visitantes florales que constituyen polinizadores efectivos de esta bromelia. Se describirá la fenología floral de esta especie, determinará el patrón de producción de néctar y la concentración de éste, así como se definirá el sistema reproductivo de la bromelia. Esta información servirá para relacionarla con la frecuencia y efectividad en la producción de frutos y semillas de los visitantes florales, diurnos y nocturnos.

Mi hipótesis es que, ya que la antesis en esta especie se inicia en al anochecer pero se extiende hasta el día siguiente (Hietz y Hietz-Seifert 1994; Krömer *et al.* 2012), la bromelia *T. macropetala* recibirá visitas de animales tanto en el horario nocturno como en el diurno. Los nocturnos tendrían la posibilidad de visitar primero a las flores recién abiertas de *T. macropetala*, por lo que sus visitas podrían originar más frutos y semillas, al visitar y polinizar la flor con polen fresco y el estigma receptivo, lo que los volvería mejores polinizadores para la bromelia. Aunado a esto, la antesis crepuscular, la corola blanquecina con brácteas verdes (Krömer *et al.* 2012), los estambres y pistilo extendidos (Hietz y Hietz-Seifert 1994) y un néctar rico en hexosas y diluido (Krömer *et al.* 2008) sugieren una

polinización por murciélagos (Tschapka y Dressler 2002; Wilmer 2011), por lo que suponemos que los murciélagos serán los principales polinizadores de esta especie.

3.1 MÉTODOS

3.1.1 Sitio de estudio

Este estudio se llevó a cabo en dos temporadas, ambas de marzo a abril en 2011 y 2012, en el Municipio de San Andrés Tlalnelhuayocan, ubicado en la zona central del estado de Veracruz, México. Sin embargo, se hicieron visitas al sitio de estudio en los meses de diciembre de 2010 y 2011 y enero de 2011 y 2012 para determinar el inicio de la época de floración de *T. macropetala*.

El sitio de muestreo tiene una altitud entre los 1500 y los 1700 msnm (Mehlreter *et al.* 2005). La precipitación anual es de 1650 mm, con un periodo seco entre noviembre y abril. La temperatura media es de 14°C (Williams-Linera 2002). La vegetación predominante es el bosque mesófilo de montaña (BMM) (Hamilton *et al.* 1995), donde predominan árboles como *Quercus* spp. (Fagaceae), *Liquidambar styraciflua* (Hamamelidaceae) y *Clethra mexicana* (Clethraceae), así como arbustos y enredaderas (Zamora y Castillo-Campos 1997; Williams-Linera 2002). En el municipio, Zamora-Crescencio y Castillo-Campos (1997) registraron 412 especies de plantas vasculares, 78 de ellas epífitas. Posteriormente, Flores-Palacios (2003) incrementó el número a 500 especies de plantas vasculares, de las cuales 78 son epífitas. El BMM está inmerso en una matriz de campos agrícolas, potreros, cafetales y asentamientos (Williams-Linera 1993; Muñoz-Villers y López-Blanco 2007; Cruz-Angón *et al.* 2010; Toledo-Aceves *et al.* 2011). Este ecosistema tiene una prioridad crítica de conservación (CONABIO 2010), debido principalmente al efecto del crecimiento desordenado de las actividades antrópicas (Williams-Linera 2007).

Un fragmento de BMM en el Rancho “La Luciérnaga” (19° 31’ 12.9” N, 96° 59’ 17.9” O, Figura 3.1) fue el sitio elegido para hacer el seguimiento de la fenología de *T. macropetala*, ya que contaba con abundantes individuos de esta especie, muchos de los cuales naturalmente se hallaban a alturas entre 1 y 3 metros sobre los troncos de árboles. Este fragmento era cruzado por sendas, donde los árboles dominantes son el *Liquidambar macrophylla* Oerst y *Quercus* spp.

Debido a que el sitio en donde se inició la investigación se volvió inaccesible para continuar el estudio, se eligió un segundo sitio (19° 31’ 53.71” N, 96° 58’ 46.86” O, Figura 3.1) en la temporada siguiente, una propiedad privada con árboles de *Quercus* spp., cultivo de frutales como plátanos (*Musa* sp.), limones (*Citrus* sp.), macadamias (*Macadamia* sp.) y elementos de bosque secundario, que ofrecía abundante sombra y exposición a una pequeña cañada, en el cual ya se había registrado la presencia de posibles polinizadores para las bromelias, producto de observaciones preliminares. Cerca de este sitio se instaló un vivero tipo “casa sombra” (o umbráculo) para realizar tratamientos de polinización que excluían a los visitantes, y así determinar el sistema reproductivo de la bromelia.



Figura 3.1. Mapa que muestra los dos sitios de estudio en el municipio de San Andrés Tlalnahuayocan. Los sitios están marcados con los números 1 (2011) y 2 (2012).

3.1.2 Especie de estudio

Tillandsia macropetala Wawra (Bromeliaceae) es primordialmente de hábito epífita, no obstante, también puede ser litófila o terrestre (Krömer *et al.* 2012; Figura 3.2), y se le encuentra generalmente en el dosel medio del bosque o en la cercaña de cauces de agua (T. Krömer, com. pers.). Sus hojas forman una roseta sin tallo tipo tanque de hasta 1.2 m de diámetro. Su inflorescencia puede medir entre 55 y 83 cm de largo, por lo que la planta alcanza entre 1.3 y 1.7 m de altura. La inflorescencia está compuesta de entre tres y siete espigas, cada una con entre 15 y 20 flores. Las flores son dísticas y erectas, actinomorfas y con una corola helicoiforme subsésil. Los pétalos son de color verde claro, con forma de cinta, torcidos, de entre 10.7 y 12.3 cm de largo por entre 14 y 17 mm de ancho. Los estambres verdes blanquecinos son subiguales, con filamentos libres de entre 10.4 a 11.7 cm de longitud; las anteras son verde claro o blanco y curvadas, de entre 7.5 y 8 mm de longitud. El estilo es libre, de 11.50 ± 1.77 cm ($n = 8$ flores), y tiene un estigma trilobulado.

La cápsula frutal es verde y fusiforme, tiene entre 5.3 y 6 cm de longitud y 1 cm de diámetro. Las semillas son café oscuro, fusiformes y de cerca de 4.5 mm de longitud, con una coma blanca de cerca de 3 cm de longitud (Krömer *et al.* 2012).



Figura 3.2. Imagen de: A) individuo y flor de *Tillandsia macropetala*; B) flor de *T. macropetala* con un corte longitudinal. Números: 1, estigma; 2, anteras; 3, ovario; 4, nectario. La barra roja representa 1 cm. Foto A por Pedro A. Aguilar-Rodríguez; Foto B por Anina Knauer.

Esta especie puede ser encontrada en el centro y sur de México (Sierra Madre Oriental, Sierra de Juárez y Sierra de Chiapas), en bosques de montaña lluviosos o de pino-encino a elevaciones de entre 1100 y 2500 msnm. Debido a que *T. macropetala* fue recientemente restablecida como especie válida (Krömer *et al.* 2012), ya que anteriormente fue considerada como sinónimo de *T. viridiflora* (Smith y Downs 1977; Espejo *et al.* 2004) probablemente su distribución no se restrinja a México, tal como sucede con *Tillandsia viridiflora* (Krömer *et al.* 2012). La floración de la especie (aún como *T. viridiflora*) abarca

de enero a agosto (Espejo-Serna *et al.* 2005), pero en el sitio de estudio, se observaron unos pocos individuos que comenzaron su floración en diciembre, aunque en su mayoría iniciaron en el mes de marzo (Pedro A. Aguilar-Rodríguez, obs. pers.).

3.1.3 Fenología y antesis floral

Se seleccionaron ejemplares de *T. macropetala* antes del inicio de su floración. Se eligieron ocho individuos adultos próximos a florecer, durante la primera temporada (2011), para seguir su fenología y determinar la duración de la floración de los individuos, el número de flores promedio en una inflorescencia, y la duración de las flores individuales; además, con estos individuos se realizaron experimentos de exclusión para evaluar la polinización de las flores por visitantes diurnos y nocturnos.

Adicionalmente, seis individuos se llevaron a un vivero (tipo “casa sombra”) con el fin de excluir a los potenciales polinizadores y determinar el sistema reproductivo de la bromelia. Ya que durante la primera temporada muchas flores de los individuos en el campo fueron depredadas (ver Capítulo 4), se decidió repetir el trabajo en un segundo sitio (2012), con nueve individuos adicionales, y tratando de forma conjunta los datos ($n = 23$ plantas, seis en vivero y 17 en campo). Debido a que la mayoría de individuos de *T. macropetala* próximos a florecer se encontraban a alturas que dificultaban la manipulación de las flores para los tratamientos (ca. de 3 m), se translocaron plantas de los alrededores y se colocaron a 1.5 m de altura en troncos de diferentes árboles, preferentemente árboles que ya tuviesen bromelias en sus ramas. En el sitio donde se llevó a cabo el trabajo durante la primera temporada tenía individuos a distintas alturas, incluso había bromelias a nivel del suelo y en las bases de los árboles (entre 30 y 40 cm del suelo), por lo que la translocación y reposicionamiento de los individuos a la altura de 1.5 m no se consideró que afectase en las observaciones, además que *T. macropetala* rara vez se encontraba a alturas superiores a los 5 m. Dos de las ocho bromelias usadas en la primera temporada para el seguimiento de la

fenología se dejaron en su árbol y altura original. La exposición al sol de las bromelias translocadas no se modificó, ya que se mantuvieron cubiertas por el dosel.

Cada botón de las bromelias seleccionadas (23 entre las dos temporadas) fue marcado con un plumón indeleble no tóxico en la bráctea, para poder seguir el desarrollo de las flores hasta el fruto. Una vez iniciada la floración, se anotó la condición floral al describir: el alargamiento del botón floral (cuando el botón emerge de la bráctea floral y comienza a crecer; Cascante-Marín *et al.* 2005), el inicio de la antesis (la hora en la que el polen se desprende y el estigma se vuelve receptivo; Kearns e Inouye 1993), la apertura de la corola, el momento en que los pétalos se decoloran y curvan (Cascante-Marín *et al.* 2005), y la marchitez de los pétalos y el estilo (las estructuras pierden turgencia, se vuelven opacos y caen; Escobedo 2007); esto en las flores que se usarían para los tratamientos de todos los individuos seleccionados (Martén-Rodríguez y Fenster 2008).

A los individuos en el vivero se les conservó a temperatura ambiente, en una ubicación cercana al bosque secundario del segundo sitio. Este vivero estaba hecho de malla de nylon tipo mosquitero y a las plantas se les proporcionó sombra y agua frecuente, usando macetas con grava como sustrato.

En el trabajo de Kamke *et al.* (2011) con la bromelia *Aechmea caudata*, se determinó que el polen y el estigma son viables y receptivos durante toda la floración, lo que parece ser común en las bromelias (Canela y Sazima 2003; 2005; Lenzi *et al.* 2006; Nara y Webber 2002; Schmid *et al.* 2011b). En este trabajo se anotó la hora en la que ocurría la dehiscencia de las anteras. La receptividad del estigma se determinó por medio de la observación directa de la presencia de una sustancia mucilaginosa en éste (Escobedo 2007). Como comprobación, se sumergió el estigma de seis flores en peróxido de hidrógeno (H₂O₂) a distintas horas (Martén-Rodríguez y Fenster 2008): 1 hora después de la antesis, 6, 12, 24 y 36 h después. La formación de burbujas indicaba la receptividad del estigma (Sazima *et al.* 1994; Dafni y Motte 1998; Machado *et al.* 1998; Ratnayake *et al.* 2006; Martén-Rodríguez y Fenster 2008).

3.1.4 Sistema reproductivo y efectividad de visitantes

Para determinar el sistema reproductivo de *T. macropetala* y poder evaluar la efectividad en la polinización de los visitantes florales de los horarios diurnos y nocturnos, se llevaron a cabo tratamientos experimentales de polinización en el vivero y en el campo.

Para evaluar el sistema reproductivo se aplicaron los siguientes cuatro tratamientos en los seis individuos en el vivero: El tratamiento de Apomixis consistió en la emasculación de las flores mediante la remoción de las anteras de la flor tratada ($n = 25$ flores), evaluando así si era posible el desarrollo de semillas sin que ocurriese la polinización (Kearns y Inouye 1993). En el tratamiento de Autopolinización espontánea (*sensu* Wendt *et al.* 2001) no se removieron las anteras ni se realizó otra manipulación, con el fin de determinar si la flor posee la capacidad de autopolinizarse ($n = 50$ flores), ya sea porque la arquitectura de la flor permite el contacto entre anteras y estigma o por el cambio de posición de estas estructuras a lo largo de la vida de la flor. En el tratamiento de Xenogamia ($n = 40$ flores) se frotó la antera de un individuo en el estigma de otro individuo previamente emasculado (Tschapka y von Helversen 2007; Martín-Rodríguez y Fenster 2008). El tratamiento de Autogamia (Guitian *et al.* 1993) se realizó para evaluar si el polen de la flor podía fertilizar sus propios óvulos, y para esto se frotó una antera directamente con el estigma de la flor a la que pertenecía la antera ($n = 29$ flores). Todos los tratamientos se aplicaron no más de dos horas después del inicio de la antesis.

Ocho semanas después del periodo de floración se registró la presencia de fruto para cada flor que fue sometida a alguno de los tratamientos. El porcentaje de fructificación se estimó como el número de frutos producidos dividido entre el número de flores a las cuales se les aplicó tratamiento, por 100 (Montalvo y Ackerman 1986; Guitian *et al.* 1993). Posteriormente se contaron manualmente el número de semillas por fruto (Wendt *et al.* 2001; Schmid *et al.* 2011a).

Para establecer la efectividad de los visitantes diurnos y nocturnos se empleó como indicador la producción de semillas y el porcentaje de fructificación por tratamiento de los individuos en el campo (Montalvo y Ackerman 1986; Sahley 2001; Wendt *et al.* 2001), de la misma manera en la que se hizo con los frutos y semillas en el vivero. La efectividad en la producción de semillas y en la formación de frutos se generalizó al horario de los visitantes. Se conoce que, al menos en la bromelia *Werauhia gladioliflora* (Wendland) J.R. Grant, la emasculación de las flores no tiene efecto en el desarrollo de los frutos (Cascante-Marín *et al.* 2005).

Los tratamientos para determinar la efectividad de los visitantes para la producción de semillas y frutos se realizaron en las 17 plantas en el campo, de la siguiente manera: El tratamiento Expuesto Diurno (ED) consistió en cubrir el estigma de la flor tratada con un tubo de plástico (ca. 3 x 0.5 cm) sujeto con algodón, durante la noche, para después destaparlo durante las horas diurnas; de esta forma solamente visitantes diurnos podían polinizar la flor ($n = 33$ flores). En el tratamiento Expuesto Nocturno (EN) se descubrió el estigma de la flor durante la noche y se tapó con el tubo durante las horas diurnas, para que la flor solo pudiese ser polinizada durante la noche ($n = 79$ flores). El tratamiento Expuesto Diurno Emasculado (EDE) se realizó como en el ED, pero también se emasculó la flor al remover las anteras, para que no fuese polinizada por un visitante nocturno ni por polen proveniente de la misma flor ($n = 33$ flores). El tratamiento Expuesto Nocturno Emasculado (ENE) se hizo como el EN, pero emasculando la flor, evitando que visitantes diurnos la polinizaran y que tampoco fuese con polen del mismo individuo tratado ($n = 62$ flores). El tratamiento Control sirvió como testigo al estar expuesto constantemente a los polinizadores de ambos horarios, al dejar destapado el estigma durante toda la vida de la flor ($n = 136$ flores).

Debido a que las observaciones previas indicaban que la flor de *T. macropetala* se mantiene con la corola abierta durante al menos dos noches, los tratamientos en el campo se prolongaron por 48 h después de la antesis. Durante la segunda temporada (2012) se hicieron solamente tratamientos Expuesto Nocturno, Expuesto Nocturno Emasculado y

Control, ya que la mayoría de frutos de estos tratamientos fueron depredados en la primera temporada.

Para valorar si el porcentaje de fructificación guardaba relación con el tratamiento realizado a la flor, se empleó una prueba de X^2 . La prueba de Kolmogorov-Smirnov probó que los datos referentes al número de semillas por tratamiento, tanto de los efectuados en el vivero como en el campo, no tenían normalidad ($P < 0.05$). Por esto se realizó una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis con comparaciones tipo Tukey, para probar si el tratamiento de polinización influye en el número de semillas (Schmid *et al.* 2011a). Tanto para éstos como para el resto de los análisis estadísticos se fijó como nivel de significancia una $P \leq 0.05$ y se usaron los programas Statistica (ver. 7, StatSoft Inc. 2004) y R 2.14.1 (R Development Core Team 2011).

Para establecer si *T. macropetala* es autocompatible (el polen poliniza óvulos del mismo individuo y se desarrollan en semilla), se obtuvo primero el Índice de Incompatibilidad Autógama (ISI por “Incompatibility Self-Index”) dividiendo el número de semillas promedio del tratamiento del vivero de Autogamia entre el número de semillas promedio del tratamiento del vivero de Xenogamia, donde valores entre 0.30 a 1.00 indican autocompatibilidad. Posteriormente se calculó el Índice de Autopolinización Autógama (IAS por “Index of Autogamy Selfing”) al dividir el número promedio de semillas del tratamiento de Autopolinización espontánea entre el número promedio de semillas del tratamiento de Autogamia. En este índice, valores entre 0.30 y 1.00 indican autogamia (Zapata y Arroyo 1978; Wendt *et al.* 2001; Kamke *et al.* 2011). El IAS se multiplicó por 100 para tener un porcentaje de autocompatibilidad (Martén-Rodríguez y Fenster 2008).

Para determinar si existe limitación de polen en la población, el Índice de limitación de polen (PLI por sus siglas en inglés) se calculó de la siguiente manera: $1 - (\text{número promedio de semillas o porcentaje de fructificación del tratamiento Control} / \text{número promedio de semillas o porcentaje de fructificación del tratamiento Xenogamia})$ (Larson y Barret 2000; Becker *et al.* 2011). En este índice, valores negativos indican un mayor número de semillas

en el tratamiento Control que en el de Xenogamia (Becker *et al.* 2011), que se interpreta como que no hay limitación de polen.

3.1.5 Tasa de producción de néctar

Con el fin de definir el patrón de producción de néctar y conocer el horario en que está disponible el néctar como recompensa para potenciales visitantes, se eligieron 21 flores al azar de los seis individuos en el vivero (al menos tres flores de cada individuo), para que así los visitantes no consumieran el néctar antes de las mediciones. No hubo tratamiento experimental de polinización en ninguna de estas flores, y todas las mediciones de néctar se hicieron en noches sin lluvia.

El néctar producido (volumen) se midió en una misma flor, cada 2 h, utilizando tubos capilares de 80 μ l y 10 μ l. Se prosiguió la extracción hasta la marchitez de la flor muestreada o cuando el volumen llegase a cero del registro. El volumen total de néctar por flor fue calculado como la suma de los valores de la producción entre todos los periodos (Tschapka y von Helversen 2007) para después promediarlo en todas las flores. Éste valor se comparó con el néctar acumulado en 12 h, medido en cinco flores de cuatro individuos, a las que se les excluyó de visitantes florales hasta antes de la medición del volumen.

Durante la extracción de néctar se registró el porcentaje de azúcares contenidos en el néctar (concentración en °Brix), mediante el uso de un refractómetro de campo (Mod. HRT32, rango: 0-32 % Brix, precisión: 0.2%; A. Krüss Optronic, Germany).

Se realizó una correlación de Pearson para determinar la relación entre el volumen y la concentración de azúcares del néctar con el periodo en que se tomaron las mediciones, usando los valores promedio de todas las mediciones, incluyendo cuando los valores fueron de cero.

3.1.6 Observación y grabación de visitantes florales

Para este trabajo, se consideró como visitante floral en el sentido más amplio, como todo animal que tocara la corola de la flor (*sensu* Schmid *et al.* 2011b). Para considerarlos polinizadores potenciales, también se consideró que éstos entraran en la corola de las flores (Muchhala 2006), y que tocaran los órganos reproductores de las flores (Schmid *et al.* 2011b). Ya que la antesis de *T. macropetala* se extiende por periodos tanto nocturnos como diurnos, se usaron grabaciones de video con cámaras infrarrojas en combinación con observaciones directas de visitantes diurnos para documentar la fauna de visitantes. Las grabaciones y observaciones de visitantes se llevaron a cabo en los meses de febrero, marzo y abril en las dos temporadas.

Para la grabación de visitantes nocturnos se usó una cámara de video Sony DCR-SR65 con el modo de visión nocturna (Sony Corporation, Japan) equipada con un flash con luz infrarroja HVL-HILR (Sony Corporation, Japan). Ésta se colocaba en un trípode a 1.3-1.5 m del suelo, dependiendo la altura a la que se encontraba la flor. La cámara se colocaba al menos a una distancia de 1.5 m de la flor.

La grabación nocturna comprendió desde el inicio de la antesis de la flor (cerca del anochecer: 19:00 h) y se prolongó durante 3 h, principalmente por las capacidades del equipo y a las condiciones ambientales. Este periodo de grabación abarcaba el pico de actividad que se conoce en murciélagos filostómidos (Fenton y Kunz 1977), además de ser similar al tiempo usado en otros trabajos (tres a cuatro h en Wendt *et al.* 2001; Quesada *et al.* 2003; Lobo *et al.* 2005). Cuando la bromelia sólo tenía una flor en la noche, se grabó exclusivamente esa, en caso contrario se grabó la inflorescencia completa. Se grabaron 105 flores durante 29 h.

La observación directa de visitantes diurnos se llevó a cabo con binoculares tanto durante el horario matutino (09:00 h a 11:00 h) como en el vespertino (15:00 h a 18:00 h), a una distancia de al menos tres metros del árbol donde estaba la bromelia bajo observación. Esta

observación la llevaron a cabo dos personas que se posicionaban en un sitio donde podían observar simultáneamente no más de tres individuos distintos durante los periodos antes mencionados. Los artrópodos diurnos, que podrían ser desestimados por la distancia a la que se realizaba la observación antes descrita, fueron registrados además por medio de la observación de las flores de las bromelias cada diez minutos durante una h, en dos periodos, justo antes del amanecer y antes del anochecer durante 16 días. Con los dos métodos anteriores se observaron 53 flores durante 78 h.

Tanto en las grabaciones como en las observaciones se registró: la especie (o morfoespecie) de visitante, la hora y duración de la visita (medida con cronómetro y mediante el uso del programa Final Cut Pro 7, Apple Inc. 2009; a 30fps), si consumían alguna parte de la flor, la forma de aproximarse a la flor, el número de flores que visitaba y la recompensa que buscaba el visitante (Martín-Rodríguez y Fenster 2008; Schmid *et al.* 2011b). Las grabaciones se observaron a 3 fotogramas por segundo (10% más lento que la velocidad original) para poder describir la visita de los murciélagos.

Para la cuantificación de las visitas, se tomó el número de veces que el visitante hacía contacto con el interior de la corola de la flor, (Muchhala 2006), haciendo la distinción de si polinizaba (entraba en contacto con los órganos reproductores de la flor) o no, siempre que fuese discernible. La duración de la visita fue registrada como la cantidad de tiempo que las partes bucales de los polinizadores permanecían dentro de la corola (Muchhala 2006). Se consideró una visita diferente aún si un mismo visitante iba y regresaba a la flor. Si en la grabación el visitante movía toda la inflorescencia al introducir su cabeza en la flor filmada, se consideró que estaba realizando contacto con los órganos reproductores de la flor (Slauson 2000).

Con el fin de identificar a los murciélagos nectarívoros que frecuentaban los sitios de estudio, los cuales se sugerían como polinizadores potenciales con base en las características del néctar, el color de los pétalos y de la antesis principalmente nocturna, se llevaron a cabo seis noches de muestreo con redes de niebla de 6x12 m. (Meyer *et al.*

2011). Las redes se disponían a menos de 1 m de la espiga en floración de un individuo de *T. macropetala*, y eran revisadas cada 30 min. Las redes se abrían al anochecer y se cerraban si pasaban 2 h sin capturas. Después de la captura se procedió a la identificación con guías de campo de las especies de murciélagos (Medellín *et al.* 2008; Reid 2009), y siguiendo la taxonomía de Simmons (2005). Se identificó el sexo y edad (por la osificación de la epífisis de las falanges y el desgaste dentario; Edythe 1988; Ortega y Arita 1999) en los organismos capturados. Se determinó la condición reproductiva de las hembras por el procedimiento de palpación abdominal directa (discerniendo si están embarazadas) o por la observación del desarrollo de los pezones (para saber si son lactantes o no; Racey 2009); a los machos se les determinó su condición reproductiva basándose en la condición de los testículos. Además, se midió la longitud del antebrazo con un vernier. El peso corporal se tomó con una pesola de 100 g (precisión: +/- 1 g).

A los individuos capturados se les tomaron muestras de polen en las regiones cefálica, dorsal y ventral, de las extremidades posteriores y de las membranas alares (Caballero-Martínez *et al.* 2009), utilizando un pincel humedecido que se frotaba contra el pelaje de los murciélagos. Las muestras se depositaron en viales de plástico con etanol al 70% para el posterior análisis en laboratorio, donde se compararon con granos de polen provenientes de *T. macropetala* usando un microscopio estereoscópico (40x Carl Zeiss, Germany) (Herrera y Martínez-del-Río 1998; Muchhala y Jarrín-V 2002). Del polen colectado se realizaron seis preparaciones de cada murciélago (18 preparaciones en total) para tomar fotos de los granos de polen (Técnica de Contraste de fases, con objetivo 25 y optovar 2.) y compararlos con muestras acetolizadas (siguiendo a Kearns e Inouye 1993) de polen proveniente de anteras frescas de *T. macropetala*.

Además del porcentaje de fructificación y número de semillas de los tratamientos en el campo, se consideró la frecuencia de visitas de cada visitante (porcentaje de visitas de ese visitante, en relación con el total de visitas registradas; Schmid *et al.* 2011b), el número de visitas en las que los visitantes polinizaban la flor (el porcentaje, de las visitas totales efectuadas por esa especie de visitante, en las que hizo contacto con los órganos

reproductores de la flor), y la conducta de cada visitante durante sus visitas a la flor (p. e. consumo polen o pétalos, forma de aproximarse, el número de flores que visitaba y la recompensa buscada; Montalvo y Ackerman 1986).

3.2 RESULTADOS

3.2.1 Fenología y antesis floral

La floración de *T. macropetala* en el sitio de estudio inició en la tercera semana de diciembre y finalizó en la segunda semana de abril, tanto en 2011 como en 2012. El alargamiento del botón comienza aproximadamente a las 16:00 h. Casi 2 h antes de la antesis sobresale el estigma, y para cuando alcanza su largo máximo (12.90 ± 1.51 cm, $n = 12$ flores) se abren los pétalos, dejando expuestos los estambres con anteras ya cubiertas con polen. La antesis inicia alrededor de las 19:05 h (± 34 min (promedio \pm DS), rango: 18:20-21:40, $n = 71$ flores), coincidiendo con la hora en la que anochece en el sitio de estudio (ca. 18:45-19:00 h). El polen se mantiene en las anteras hasta antes del amanecer (ca. 06:00-07:00h; Figura 3.3). La receptividad del estigma es de ca. 18 h ($n = 12$ flores) (Figura 3.3), aunque la presencia de mucílago se puede detectar incluso en flores que aún no han abierto sus pétalos pero ya cuentan con un estigma visible.

La senescencia inicia cuando las estructuras florales pierden color y turgencia entre 20 y 24 h después ($n = 109$ flores), para constreñir completamente la entrada de su cáliz cerca de 34 h después del inicio de la antesis, momento en el cual comienza a perder partes florales (pétalos y anteras). A 48 h de la antesis, generalmente el estigma y algunos estambres ya opacos son las únicas estructuras florales que prevalecen en el cáliz ya cerrado.

En promedio, la inflorescencia de un individuo tiene una duración de 36.36 d (± 9.51 , $n = 16$ inflorescencias), con un promedio de 0.7 flores diarias ± 0.3 , rango: 0 a 5 flores diarias ($n = 282$ flores en 14 individuos).

3.2.2 Sistema reproductivo y efectividad de visitantes

La mayor fructificación en el vivero se obtuvo en los tratamientos de Autogamia (34.78%) y Xenogamia (34.48%). No se obtuvieron frutos por Apomixis y la fructificación por Autopolinización espontánea fue reducida, de apenas 13% (Cuadro 3.1).

Cuadro 3.1. Resultados de los tratamientos de polinización realizados a las flores de *T. macropetala* para determinar el sistema reproductivo. El número de semillas se muestra con el número promedio \pm su desviación estándar. Semillas promedio seguidas por el mismo símbolo en la columna son diferentes estadísticamente entre sí, a una $P \leq 0.05$. El número de semillas se muestra con el número promedio \pm su desviación estándar. Semillas promedio seguidas por la misma letra en la columna son estadísticamente iguales entre sí, a una $P \leq 0.05$.

Tratamiento	Número de Flores	Número de Frutos	% Fructificación n	Semillas promedio por Fruto
Apomixis	24	0	0	0 a
Auto-polinización espontánea	46	6	13.04	50.63 \pm 138.52 b
Xenogamia	29	10	34.48	154.06 \pm 225.64 b
Autogamia	23	8	34.78	148.00 \pm 215.09 b

En los tratamientos para evaluar la efectividad de los polinizadores diurnos y nocturnos (Expuesto Diurno, Expuesto Nocturno, Expuesto Diurno Emasculado, Expuesto Nocturno Emasculado), sólo las flores expuestas a visitantes nocturnos (Expuesto Nocturno, Expuesto Nocturno Emasculado) desarrollaron fruto, ambos alcanzando alrededor de 40% de fructificación (Cuadro 3.2).

Cuadro 3.2. Resultados de los tratamientos de polinización de *T. macropetala* para determinar la efectividad de los polinizadores. Nombre de los tratamientos: ED: Expuesto Diurno, EN: Expuesto Nocturno, EDE: Expuesto Diurno Emasculado, ENE: Expuesto Nocturno Emasculado. El número de semillas se muestra con el número promedio \pm su desviación estándar. Semillas promedio seguidas por la misma letra en la columna son estadísticamente iguales entre sí, a una $P \leq 0.05$.

Tratamiento	Número de Flores	Número de Frutos	% Fructificación	Semillas promedio por Fruto
ED	33	0	0	0 a
EN	72	25	34.72	184.52 \pm 268.87 b
EDE	31	0	0	0 a
ENE	57	22	38.59	199.36 \pm 284.87 b
Control	126	49	38.88	180.56 \pm 249.92 b

El tratamiento Expuesto Nocturno (EN) tuvo un porcentaje de fructificación similar a los tratamientos de Autogamia y Xenogamia, pero ca. 3% menor al porcentaje de fructificación de los tratamientos Expuesto Nocturno Emasculado (ENE) y Control. Tanto en los tratamientos en el vivero como en el campo, existe una influencia del tipo de tratamiento en el porcentaje de fructificación ($X^2=37.169$, $df=4$, $P<0.05$).

El tratamiento de polinización solo tuvo influencia en el número de semillas producidas en el tratamiento Apomixis, que no desarrolló alguna ($H=15.06$, $df=3$, $P<0.05$; $n = 122$ flores de seis plantas del vivero; Cuadro 3.2). De acuerdo al Índice de Incompatibilidad Autógama y al Índice de Autopolinización Autógama, *T. macropetala* es una especie autocompatible ($ISI=0.96$, $IAS=0.34$ o 34.20%), capaz de desarrollar semillas por polen propio o foráneo.

El número de semillas de los tratamientos en el campo indica que las semillas producidas por los dos tratamientos que permitían la polinización por vectores nocturnos (Expuesto Nocturno y Expuesto Nocturno Emasculado) no fue significativamente diferente al tratamiento Control; sin embargo sí existieron diferencias significativas entre la

polinización natural y los tratamientos Expuesto Diurno y Expuesto Diurno Emasculado, ya que estos no produjeron frutos, y por ende, no tuvieron semillas ($H=22.14$, $df= 4$, $P<0.05$; $n = 319$ flores de 17 plantas; Cuadro 3.2).

El Índice de limitación de polen, usando tanto el número de semillas como variable (-0-17) como porcentaje de fructificación (-0.12) dio valores negativos, lo que indica un mayor número de frutos y semillas en el tratamiento de Cotrol en relación con el tratamiento Xenogamia, lo cual indica que no hay limitación de polen.

3.2.3 Tasa de producción y concentración de néctar

El volumen promedio del néctar de las flores de *T. macropetala* fue de 434.04 μl (± 178.03 , rango: 0 a 314 μl , $n = 21$ flores de seis individuos), y la concentración promedio de azúcares disueltos fue de 7.43 $^{\circ}\text{Brix}$ ($\pm 6.34^{\circ}$, rango: 0° a 18° , $n =21$ flores). La producción de néctar se da por 12 h, a 36 $\mu\text{l}/\text{h}$. El volumen acumulado más alto de néctar ($147.02 \pm 97.38 \mu\text{l}$) se presentó a las 22:00 h, y la producción desciende a casi cero a las 08:00 h ($1.03 \pm 3.90 \mu\text{l}$). La concentración de azúcar disuelto es mayor a las 20:00 h, con 15.26 $^{\circ}\text{Brix}$ (± 1.45) y luego desciende a cero 12 h después (Figura 3.3). En las flores a las que se le midió el néctar acumulado, 12 h después de la antesis, se obtuvo un volumen de $561.49 \pm 56.85 \mu\text{l}$.

Una correlación de Pearson determinó que existe una relación negativa significativa entre la hora a la que se extrajo el néctar (intervalos de 2 h) y el volumen ($r=-0.72$; $P<0.05$), así como entre la hora y la concentración de azúcares disueltos ($r=-0.78$; $P<0.05$).

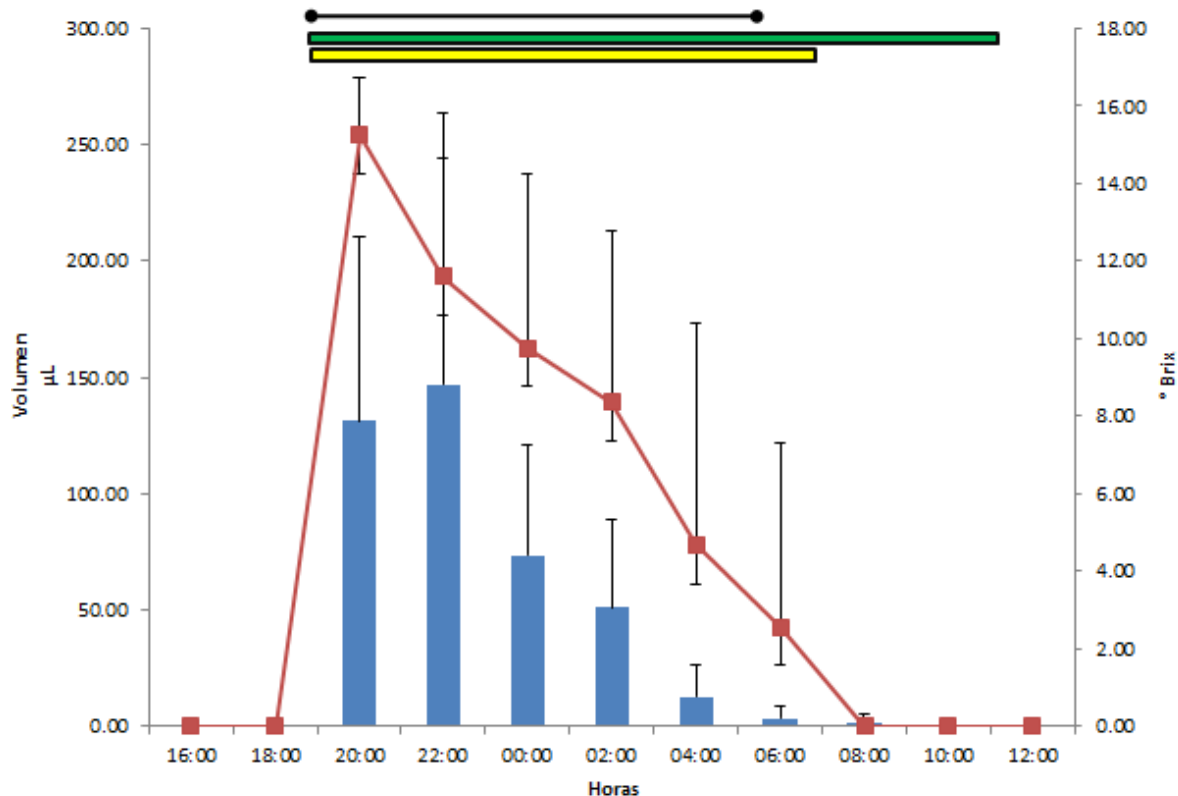


Figura 3.3. Volumen en µl (barras) y concentración de azúcares ° Brix (línea) producido en las flores de *T. macropetala*. Las líneas grises sobre ellas representan el error estándar. La barra verde indica la duración de la receptividad del estigma. La barra amarilla muestra la dehiscencia de las anteras y el tiempo que se encuentra el polen en éstas. La línea negra marca la duración aproximada de la noche en el sitio de estudio.

3.2.4 Observaciones y grabación de visitantes florales

Se llevaron a cabo 107 h de observación (29 durante el horario nocturno y 78 en el diurno) en 158 flores de *T. macropetala* (53 en la noche y 105 durante el día), en las cuales se registraron 210 visitas (170 durante la noche, 40 en el día) de nueve especies de visitantes florales.

3.2.4.1 Visitantes nocturnos

Se muestrearon murciélagos con redes cercanas a las inflorescencias de las bromelias en seis noches no consecutivas, con un total de 1326 h/red, en las cuales se capturaron 33 individuos de seis especies: *Anoura geoffroyi* Gray, *Artibeus lituratus* Olfers, *Carollia sowelli* Baker, Solari y Hoffmann, *Diphylla ecaudata* Spix, *Myotis volans* Allen y *Sturnira ludovici* Anthony. Los únicos murciélagos con polen en el pelaje fueron tres individuos de *A. geoffroyi* (Phyllostomidae: Glossophaginae). Esta especie cargaba polen en el hocico, en la frente, antebrazos y membranas alares. *A. geoffroyi* también fue discernible en las grabaciones, siendo la única especie de murciélago que se registró realizando visitas a *T. macropetala*.

Todos los granos de polen encontrados en las preparaciones de polen provenientes del pelaje de los *A. geoffroyi* capturados correspondieron a polen de bromelia de la subfamilia Tillandsioideae (Halbritter 1992) (Figura 3.4).

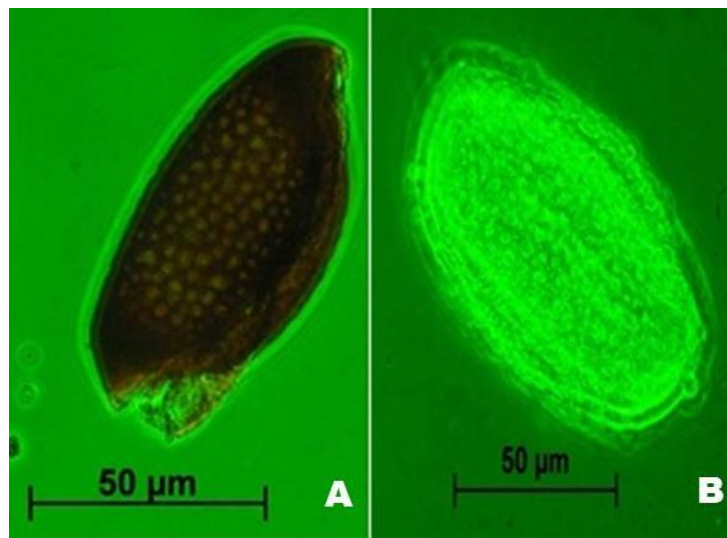


Figura 3.4. Imagen de: A) grano de polen acetolizado de una antera de *T. macropetala*; B) grano de polen obtenido del pelaje de *A. geoffroyi*. Técnica de Contraste de fases, con Objetivo 25, Optovar 2.

Con respecto a las grabaciones, se filmaron 29 h, en las cuales se registraron 170 visitas de tres especies, el murciélago *A. geoffroyi*, un ratón *Peromyscus* sp. y una polilla nocturna (Noctuidae) (Cuadro 3.3).

Anoura geoffroyi realizó 158 visitas de aproximadamente 0.17 ± 0.08 seg ($n = 10$ visitas) de duración. Las visitas iniciaban entre 30 min y una hora después del anochecer, y continuaban durante todo nuestro periodo de grabación (3 h), no obstante, la mayoría se concentró entre las 19:30 h y las 21:30 h. En todas las visitas, los murciélagos introducían su cabeza en la flor, y en 152 ocasiones (96.20%) contactaron el estigma y el estambre, moviendo la espiga entera por la fuerza con la que hacía contacto (Figura 3.5). Las seis visitas en las que se observó que no polinizó la flor, fueron visitas a flores no frescas (al menos 24 h después de su antesis). Las anteras hacían contacto con la cabeza, hombros y alas del murciélago; el estigma tocaba el cuerpo del murciélago en las mismas zonas, debido al largo similar entre el gineceo y el androceo (12.90 ± 1.51 cm el primero y 11.51 ± 1.30 cm el segundo, $n = 12$ flores). En las grabaciones típicamente se observó acercamientos a las flores, frescas o de la noche anterior, que precedían a las visitas de las flores frescas, típico del forrajeo tipo “trap-lining”. Sólo se registraron intentos de visita a flores no frescas en la segunda temporada (2012). Durante la primera temporada hubo 2.62 visitas/h o 8.8 visitas/planta, y en la segunda 43.5 visitas/h o 9.66 visitas/planta.

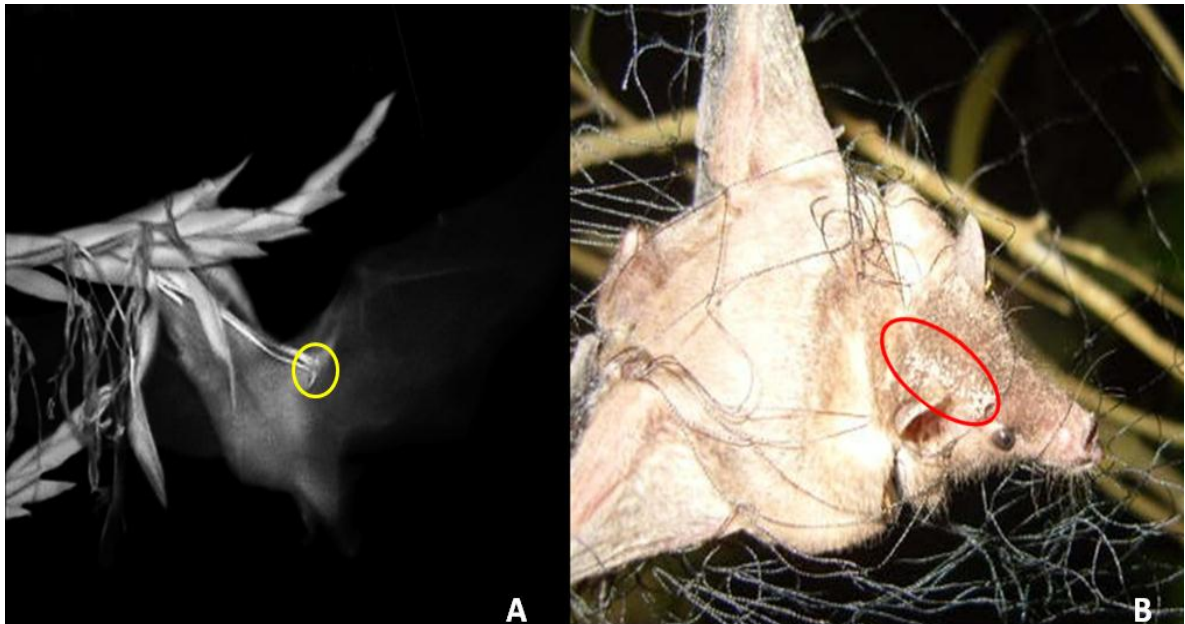


Figura 3.5. Imagen de: A) murciélago haciendo contacto con las anteras de *T. macropetala* durante su visita (círculo amarillo); B) granos de polen de *T. macropetala* en el pelaje de un *A. geoffroyi* capturado con una red de niebla (círculo rojo). Fotos por Pedro A. Aguilar-Rodríguez.

Un individuo de *Peromyscus* sp. fue registrado una noche en video, realizando 10 visitas a al menos seis flores del individuo bajo grabación, repartidas en dos momentos distintos en la noche con ca. de 30 min entre la primera ronda de visitas (ocho visitas) y la segunda (dos visitas; ver Capítulo 4).

Una polilla (Noctuidae) también se registró en la corola de *T. macropetala* en dos ocasiones, pero en ninguna se registró que usara algún recursos floral o polinizara la flor.

3.2.4.2 Visitantes diurnos

En 78 h de observación diurna se registraron 40 visitas (Cuadro 3.3). El visitante diurno más frecuente fue el colibrí *Lampornis amethystinus*, que realizó 32 visitas a las flores de *T. macropetala*. 28 de estas visitas ocurrieron entre las 06:30 h y 09:15 h, y cuatro visitas entre 18:00 h y 19:00 h. Típicamente el colibrí llegaba volando a la flor de *T. macropetala*

desde arriba de ésta, introducía su pico entre los pétalos, y retrocedía para alejarse de la flor. La duración de la visita fue de alrededor de 14 ± 5 seg ($n = 7$ visitas). La forma de aproximación y de la visita, así como la posición de las anteras y el estigma, hacían que difícilmente *L. amethystinus* contactara los órganos reproductivos de la flor. La visita del colibrí no provocaba movimiento en la espiga y tampoco en alguna otra parte de la flor.

Se registró a la especie de mariposa *Dismorphia* sp. en dos ocasiones tomando néctar de las flores, introduciendo su espiritrompa en el espacio entre pétalos. También se observó a una larva de lepidóptero tomando néctar derramado de los pétalos de la flor. Una abeja, un abejorro, una avispa, una especie de hormiga, dos especies de grillos, dos especies de chinches (Lygaeoidea), una larva de coleóptero y una cucaracha también fueron registrados consumiendo néctar de la flor de *T. macropetala* sin tocar las anteras ni el estigma.

Los arácnidos eran frecuentes en las espigas y flores de *T. macropetala*, representados por cinco especies de arañas y al menos dos especies de Opiliones. Además, un gran número de ácaros eran encontrados en las anteras y estilo a la mañana siguiente de la apertura de la flor.

Cuadro 3.3. Principales visitantes florales de *T. macropetala* registrados durante la observación con cámaras de video y la observación directa. Las especies con (*) fueron registradas fuera de los periodos de observación estandarizada descrita en la metodología.

Periodo de actividad	Especie	Frecuencia Relativa (N) %	Recompensa/Objetivo visita	Categoría de Visitante
Nocturno	<i>Anoura geoffroyi</i> (Murciélago)	(158) 75.24	Néctar	Polinizador
Nocturno	<i>Peromyscus</i> sp. (Ratón)	(2) 0.99	Polen	Ladrón de polen
Diurno	<i>Lampornis amethystinus</i> (Colibrí)	(32) 15.84	Néctar	Ladrón de néctar
Diurno	<i>Dismorphia</i> sp. (Mariposa)	(2) 0.99	Néctar	Ladrón de néctar
Nocturno	Noctuidae sp.1 (Polilla)	(1) 0.49	-	-
Diurno	Larva sp.1* (Larva lepidóptero)	-	Néctar	Ladrón de néctar
Nocturno	Dermaptera sp.1* (Tijereta)	-	Polen	Ladrón de polen
Nocturno	Dermaptera sp.2* (Tijereta)	-	Polen	Ladrón de polen y néctar
Diurno	<i>Apis mellifera</i> (Abeja)	(2) 0.99	-	-
Diurno	<i>Bombus</i> sp.1 (Abejorro)	(2) 0.99	Néctar	Ladrón de néctar
Diurno	Vespidae sp.1 (Avispa)	(1) 0.49	Néctar	Ladrón de néctar
Diurno	Formicidae sp.1* (Hormiga)	-	Néctar	Ladrón de néctar
Diurno	Gryllidae sp.1*	-	Néctar	Ladrón de néctar

	(Grillo)			
Diurno	Gryllidae sp.2* (Grillo)	-	Néctar	Ladrón de néctar
Diurno	Larva sp.1* (Larva coleóptero)	-	Néctar	Ladrón de néctar
Diurno	Lygaeoidea sp.1* (Chinche)	-	Néctar	Ladrón de néctar
Diurno	Lygaeoidea sp.2* (Chinche)	-	Néctar	Ladrón de néctar
Diurno	Blattaria sp.1 (Cucaracha)	(1) 0.99	Néctar	Ladrón de néctar

3.3 DISCUSIÓN

Los resultados indican que *T. macropetala* en el sitio de estudio es una especie autocompatible que, aun cuando cuenta con una antesis que abarca un periodo nocturno y diurno, tiene un sistema de polinización especializado que se basa únicamente en la polinización por visitantes nocturnos, destacando el papel del murciélago como el único polinizador nocturno confirmado durante este estudio.

Aunque esta bromelia es capaz de polinizarse con polen foráneo o propio (produciendo igual número de semillas en cualquier caso), característica que está extendida en las bromelias (Matallana *et al.* 2010), la diferencia en la fructificación entre el tratamiento de Autopolinización espontánea (13%) y el de Xenogamia y Autogamia (34.48% y 34.78%) indica que aunque cuenta con el potencial de autopolinizarse, desarrolla más frutos cuando un agente externo transfiere el polen al estigma, probablemente por lo infrecuente de las circunstancias que pueden permitir la autopolinización, especialmente considerando la disposición de las estructuras reproductoras de la flor (Figura 3.2). Además, en ninguno de los tratamientos, tanto en el vivero como en el campo, *T. macropetala* alcanzó el 100% de

fructificación. Lo anterior parece indicar que incluso con polen foráneo aplicado directamente en el estigma y con el servicio de los polinizadores naturales, *T. macropetala* tiene un porcentaje de fructificación bajo.

Esto hace suponer entonces que esta bromelia en vida libre requiere de la transferencia de polen por un vector para lograr mayor fructificación. Los tratamientos en el campo mostraron que *T. macropetala* sólo produce frutos por la visita de animales nocturnos, aun cuando la flor dura al menos 24 horas con la mayoría de sus órganos florales con coloración y turgencia similar a la del inicio de la antesis. La duración de la receptividad del estigma (ca. de 18 h, de las cuales nueve transcurren durante la noche) y el típico periodo en el cual el polen se encuentra cubriendo las anteras (ca. de 11 h, de las cuales nueve transcurren durante la noche) hace más factible que de ocurrir la polinización, ésta se lleve a cabo durante el periodo nocturno.

En lo que respecta a los murciélagos, solamente la especie *Anoura geoffroyi* fue grabada haciendo visitas que polinizaron la flor de *T. macropetala*, al menos en 152 ocasiones (el 96.20% de sus visitas); en total, esta especie visitó 158 veces los individuos de bromelia en observación, acumulando el 75.24% del total de visitas a *T. macropetala*. Cabe recordar que los individuos capturados de esta especie de murciélago cargaban polen de *T. macropetala* (Figura 3.5), determinado así porque se identificó como polen de Tillandsioideae y esta especie de bromelia era la única con antesis nocturna durante este trabajo (*T. heterophylla* florece meses después, ver Capítulo 2). Cargar polen de un solo tipo es una evidencia de la tendencia de un animal a visitar repetidamente una sola especie de planta, una característica importante en un polinizador (“constancia floral”, Wilmer 2011). Tanto por visitarla en horario nocturno y que, salvo en seis visitas en la segunda temporada, todas las visitas hayan sido a flores frescas (que abrieron en esa noche), el murciélago tenía la oportunidad de polinizar la flor cuando había polen disponible y el estigma estaba receptivo (Figura 3.3), algo importante al momento de atribuir la polinización de una flor a un visitante floral (Wilmer 2011).

El patrón de producción de néctar, tanto en volumen como en la concentración, es mayor en las primeras horas de la noche y desciende hasta su mínimo entre 06:00 h y 08:00 h. Así, la mayor recompensa está disponible principalmente durante la noche, un rasgo identificado en bromelias visitadas por murciélagos (Tschapka y von Helversen 2007). La excepción sería en aquellas flores que no hayan recibido visitas en este periodo. *T. macropetala* parece que no reabsorbe el néctar (como sí lo hace *Ananas ananassoides* al no recibir visitas; Stahl *et al.* 2012) y, en ausencia de visitantes nocturnos, éste se acumula hasta derramarse entre los pétalos. Al comparar el néctar acumulado 12 h luego de la antesis ($561.49 \pm 56.85 \mu\text{l}$; $n = 5$ flores, de 4 individuos), éste fue similar al obtenido como promedio para la bromelia, usando las mediciones por intervalos de hora ($434.04 \pm 178.03 \mu\text{l}$), lo que parece apoyar el supuesto de que no hay reabsorción de néctar.

Vuelos y acercamientos de reconocimiento, previos a la visita, se han identificado en otros murciélagos (Sazima y Sazima 1988), probablemente con el fin de evaluar la condición de la flor antes de la visita (Sazima *et al.* 1989). La duración de la visita de los murciélagos a las flores, tal como ha sido reportado en otros trabajos (p.e. Muchhala 2006, Tschapka y von Helversen 2007), es menor a 1 seg. Previamente se ha reportado la visita de *A. geoffroyi* a *Vriesea longiscapa* en la selva baja del sureste de Brasil (Sazima *et al.* 1999), y a *Thecophyllum irazuense* Mez y Wercklé en dos sitios de Costa Rica, por arriba de los 1800 msnm (Salas 1973).

Observaciones en las bromelias en el campo, temprano en la mañana, demostraron que en las ocasiones en las que había visitas de murciélagos grabadas por la cámara de video, era frecuente encontrar polen en el estigma de las flores filmadas y las anteras sin polen remanente. De esta manera, los visitantes que forrajeasen en las flores de *T. macropetala*, ya visitadas por *A. geoffroyi*, probablemente tendrían poco o ningún efecto directo en la producción de semillas (Montalvo y Ackerman 1986). Por esto, sólo *A. geoffroyi* fue considerado como polinizador de *T. macropetala*, y se le atribuyeron a esta especie los frutos y semillas derivados de los tratamientos en el campo Expuesto Nocturno, Expuesto Nocturno Emasculado y Control.

El predominio de los visitantes nocturnos en *T. macropetala* queda manifiesto en la baja frecuencia de visitas que en conjunto tienen los visitantes diurnos, un 19.05% de las visitas (51 visitas), de al menos cinco especies de grupos dispares (Cuadro 3.3), con sólo un vertebrado, el colibrí *Lampornis amethystinus* Swainson. Tanto estos como el resto de visitantes diurnos que se registraron –matutinos y vespertinos-, conforman una amplia gama de ladrones de néctar (*sensu* Irwin *et al.* 2010) (Cuadro 3.3), ya que ningún visitante diurno realizó contacto con las anteras y/o el estigma al tomar el néctar.

La morfología de la flor, actinomorfa y con corola helicoiforme y subsésil (Krömer *et al.* 2012; Figura 3.2), facilita que muchos animales accedan a la recompensa de la flor sin tocar sus órganos reproductivos. Los filamentos y estilo libres impiden que un artrópodo, por sus dimensiones, pueda realizar en una sola visita contacto tanto con las anteras como con el estigma; el colibrí tiene la talla suficiente como para hacerlo, pero es su forma de aproximación y de visitar a la flor lo que impide la polinización (ver Muchhala 2006). Con una corola ancha, los colibríes transfieren menos polen que otros visitantes, como los murciélagos (Muchhala 2007). Tal sería el caso de una flor actinomorfa con una corola como la de *T. macropetala*. Existen ejemplos de flores actinomorfas que tienen una polinización generalista y que son polinizadas tanto por colibríes como por murciélagos (Buzato *et al.* 1994; Sahley 1996; Fleming *et al.* 2001; Dar *et al.* 2006), sin embargo, en ninguna de las observaciones de colibríes se vio que éstos polinizara a *T. macropetala*.

Para el colibrí, el néctar de *T. macropetala* es más abundante y diluido ($7.43^{\circ} \pm 6.34^{\circ}$ Brix) que el néctar típico de bromelia que consumen estas aves (p.e. *Tillandsia multicaulis*: 2 a 12 μ l de volumen y 18% a 8% de azúcar; Ordano y Ornelas 2004), además de ser dominante en hexosas, a diferencia del presente en bromelias troquilófilas, que son dominantes en sucrosa (Krömer *et al.* 2008). Aun cuando es sabido que los colibríes pueden cambiar la preferencia de azúcares en el néctar que consumen de acuerdo a la concentración de éste, tomando néctares más ricos en hexosas en concentraciones bajas (Schondube y Martínez-del-Río 2003), los colibríes no pueden aumentar su ingesta de

néctar lo suficiente para mantener su balance energético, cuando se alimentan de néctar muy diluido (Fleming *et al.* 2004). *T. macropetala* produce un promedio de $1.02 \pm 3.90 \mu\text{l}$ a las 08:00 h ($n = 21$ flores), momento que incluye el rango de horas de visitas de *L. amethystinus* a las plantas observadas (ca. 07:00 h a 09:00 h), sin embargo, con un néctar tan diluido, es más probable que las flores de la bromelia hayan sido más atractivas en ocasiones en las que la flor no recibiese visitas en la noche, de esta forma habría más néctar para compensar la reducida cantidad de azúcares diluido en éste.

En cuatro ocasiones se observaron visitas de *L. amethystinus* en horario vespertino, justo antes de anochecer (18:00 h a 19:00 h) y casi al inicio de la antesis de *T. macropetala* (ca. 18:20 h a 21:40 h). Aunque no se tomaron datos de néctar inmediatamente después de la antesis (si no dos horas luego de ésta), se observó pequeñas cantidades de néctar ya presente en el cáliz de la flor en el momento en que se separaban los pétalos. Este néctar, aunque en menor cantidad al presente a las 20:00 h ($131.40 \pm 78.40 \mu\text{l}$), podría tener mayor concentración de azúcares ($15.26^\circ \pm 1.45^\circ$ Brix) que el valor presente a las 20:00 h, ya que se comprobó que la concentración, a diferencia del volumen que tiene un pico más tarde en la noche (a las 22:00 h), va disminuyendo con el paso de las horas. Las visitas vespertinas de colibríes a flores de antesis nocturna, pueden obligar a que las flores abran antes (Sazima *et al.* 1994); esto también fue observado en dos de las cuatro visitas vespertinas de colibríes. Patrones similares de visita de matutina y vespertina de colibríes, a flores de floración nocturna, se han encontrado en otros trabajos (p.e. Ramírez *et al.* 1984; Sazima y Sazima 1988; Sazima *et al.* 1989; Buzato *et al.* 1994; Gribel y Hay 1993; Kay 2001; Muchhala 2003; Tschapka y von Helversen 2007; Martén-Rodríguez y Fenster 2008).

La predicción de las polillas como polinizador de *T. macropetala* puede explicarse porque las características que asociaron con el síndrome para polillas también pueden servir para caracterizar el síndrome quiropterófilo (Tschapka y Dressler 2002; von Helversen y Winter 2003; Wilmer 2011).

Aunque la morfología floral de *T. macropetala* no concuerda con la flor grande, zigomórfica y acampanada del síndrome de quiropterofilia (Tschapka y Dressler 2002), que sí es encontrada en *Werauhia* (Cascante-Marín *et al.* 2005; Krömer *et al.* 2007) o en *Vriesea* (Vogel 1969), la antesis primordialmente nocturna, las características y el patrón de la producción de néctar (Ramírez *et al.* 1984; Tschapka y von Helversen 2007), los estambres y estilo extendidos, el color de los pétalos, y la fenología y despliegue floral (floración anual, con una flor por noche por varias noches; Sazima *et al.* 1999; Wilmer 2011) sí coinciden con lo esperado en una planta con flores quiropterófilas. En particular, *T. macropetala* se ajusta a lo predicho por Krömer *et al.* (2008), cuando la clasificaron –aún como *T. viridiflora*– como una bromelia quiropterófila por la concentración y composición de su néctar.

En comparación con otras bromelias quiropterófilas, el volumen acumulado de *T. macropetala* es mayor ($434.04 \mu\text{l} \pm 178.03$) al registrado por Sazima *et al.* 1999 para *Vriesea longiscapa* Ule y *Vriesea bituminosa* Wawra (116 a 235 μl), además de tener mayor concentración de azúcares (7.43°Brix) que *Encholirium glaziovii* Mez (4.6°Brix ; Sazima *et al.* 1989). *Werauhia gladioliflora* tiene 17% de azúcar en el néctar y en promedio 1129 μl de volumen (Tschapka y von Helversen 2007), mayor que los valores en *T. macropetala*. A su vez, *Tillandsia heterophylla* E. Morren produce menos néctar ($82.21 \mu\text{l} \pm 48.13$) que *T. macropetala*, y más diluido en azúcares ($6.33^\circ \pm 4.90^\circ\text{Brix}$) (Capítulo 2). De manera general, la concentración de azúcares del néctar de *T. macropetala* es menor a la que se encuentra en miembros del género *Guzmania*, *Vriesea* y la mayoría de las especies del género *Werauhia* que fueron clasificadas como quiropterófilas de acuerdo a Krömer *et al.* (2008). Hay que hacer notar que, aunque se ha reportado un olor fuerte y desagradable en el néctar de plantas con flores quiropterófilas (p.e. Sazima *et al.* 1989; Sazima *et al.* 1999), el néctar de *T. macropetala* tiene un olor que no resulta fácilmente distinguible – para el humano–, pero en las primeras horas de la noche, con un mayor volumen de néctar, se puede apreciar un aroma dulce muy tenue (P. A. Aguilar-Rodríguez, obs. pers.).

Los murciélagos, como polinizadores, son legítimos, eficientes y efectivos (*sensu* Fleming y Sosa 1994), por lo cual, es posible que la fructificación reducida en esta bromelia pueda derivarse de otros factores distintos a la eficiencia en la transferencia de polen en el estigma. Una posibilidad, al menos en los individuos en el campo, es la infestación de avispas, que ovopositaban en las flores antes del desarrollo de los frutos. Las larvas se comían las semillas de los frutos ya en desarrollo, por lo que se conservaba la cápsula frutal pero no las semillas; esto contribuyó a que se repitieran los tratamientos en el campo en una segunda temporada. La florivoría por avispas puede reducir el éxito reproductivo de las bromelias, hasta en un 70% (Cascante-Marín *et al.* 2009).

La bromelia *Werauhia gladioliflora* (H. Wendland) J.R. Grant es una especie que ha sido catalogada como quiropterófila en la selva de Costa Rica. Su morfología floral, características nectarías y antesis nocturna (Cascante-Marín *et al.* 2005; Tschapka y von Helversen 2007) concuerdan con el esperado síndrome de polinización de murciélagos (Tschapka y Dressler 2002). Aunque la morfología, el volumen y concentración del néctar no sean iguales a los de *T. macropetala*, otras características son similares. La antesis de *W. gladioliflora* es primordialmente nocturna, pero ésta dura 14 horas y abarca las primeras horas de la mañana siguiente a la antesis, momento en el que el estigma sigue receptivo (Cascante-Marín *et al.* 2005), lo que ofrecería una posibilidad también para ser polinizada por visitantes florales diurnos. Cascante-Marín *et al.* (2005) y Tschapka y von Helversen (2007) indican que, por sus observaciones en el campo, es poco factible esto, aun cuando Tschapka y von Helversen registraron regularmente la visita del colibrí *Amazilia tzacatl* De la Llave, tanto en horas vespertinas como matutinas. Tal es el caso de *T. macropetala*, aunque en los trabajos de *W. gladioliflora* no se evaluó el potencial como polinizador de los visitantes diurnos.

Para *W. gladioliflora* (Cascante-Marín *et al.* 2005), al igual que para la mayoría de los tratamientos que dieron frutos en *T. macropetala* no existen diferencias significativas entre el número de semillas de los tratamientos con el Control, lo que significa que sin importar el origen del polen (foráneo o propio), ambas bromelias desarrollan igual número de

semillas, aun cuando el número de semillas naturalmente producidas por *W. gladioliflora* es más de 10 veces el número que produce *T. macropetala* (1871-2018 semillas en la primera, contra un promedio de 180 semillas en la segunda). Ambas especies desarrollan menos del 100% de sus frutos posibles, pero *W. gladioliflora* tiene un gran potencial para autopolinizarse (Cascante-Marín *et al.* 2005). El total de fructificación natural en el campo, para *W. gladioliflora* en un bosque tropical húmedo, puede deberse a una combinación tanto de la polinización por murciélagos, de al menos cuatro especies (Tschapka y von Helversen 2007), como del mismo potencial de autopolinización de la bromelia. En *T. macropetala*, la fructificación natural es debida solamente a la visita de una especie de murciélago (pese a que al menos tres murciélagos nectarívoros han sido registrados en la zona; Sosa *et al.* 2008), lo que podría explicar las diferencias no sólo en la fructificación, sino también en el número de semillas en comparación con *W. gladioliflora*.

Es importante evaluar en un mayor número de años, y dentro de cada temporada, el cambio en el ensamble de polinizadores o en la conducta de éstos. La fluctuación de la abundancia de los visitantes florales provoca que un carácter fenotípico se beneficie unos años y otros no, dependiendo de su efecto sobre los polinizadores (Gómez 2002). Cascante-Marín *et al.* (2005) descubrieron que hay un efecto significativo entre el número de frutos y la época de fructificación, siendo mayor en la segunda temporada de su estudio; además, Tschapka y von Helversen (2007) indican que al principio de la temporada de floración, los murciélagos encuentran rápidamente las plantas que recién inician la floración, y al avanzar en la temporada, usan de manera más frecuente las flores de los individuos restantes.

El sistema reproductivo de *T. macropetala*, en el que es autocompatible pero requiere de un vector para lograr un mayor número de frutos, hace que aunque tenga el potencial de establecerse en hábitats de sucesión secundaria (Opler *et al.* 1980), aún dependa de la presencia de su polinizador para lograr un mayor éxito en la polinización (mayor número de frutos). *T. macropetala* puede beneficiarse de la capacidad de los murciélagos de mover material genético entre fragmentos (Young *et al.* 1996), especialmente en un paisaje tan

antropizado como lo es el BMM del centro de Veracruz (Cruz-Angón *et al.* 2010; Toledo-Aceves *et al.* 2011).

Los cambios en la estructura del paisaje se considera que es una de las causas que limita el servicio de la polinización (Viana *et al.* 2012), y la disminución y fragmentación en la cobertura de la vegetación se ve ligada a efectos negativos en la polinización, fructificación y semilleo de las especies nativas (Quesada *et al.* 2003; Aguilar *et al.* 2006). Por lo tanto, entender la dinámica entre esta planta y su polinizador puede aportar datos útiles para estrategias de conservación en la zona, especialmente por la fuerte presión humana a la que se ven sometidas las bromelias (Ticktin 2004; Flores-Palacios y Valencia-Díaz 2007; Haeckel 2008). Las bromelias epífitas que forman tanques tienen importantes funciones ecosistémicas (como atenuar cambios medioambientales abruptos en el dosel y mantener un rango de condiciones de humedad y recursos favorables, así como acumular materia orgánica en descomposición y humedad), que además incrementan la biodiversidad del dosel (Benzing 1995; Richardson 1999; Wittman 2000; Kalko y Handley Jr. 2001; Nieder *et al.* 2001; Armbruster *et al.* 2002; Castaño 2002; Hernández-Sánchez y García-Franco 2006), por lo que es importante mantener sus poblaciones y las interacciones ecológicas, muchas de ellas desconocidas (como la florivoría, ver Capítulo 4), y que permiten la subsistencia de estas plantas y todos los organismos asociados a ellas.

CAPÍTULO 4



4 CONSUMO DE POLEN DE *Tillandsia macropetala* POR RATONES

El polen es un gametofito masculino producido en las anteras de los estambres, que además de su papel esencial en la reproducción sexual de las plantas espermatofitas, constituye una parte importante en la dieta de una gran variedad de animales (Kearns e Inouye, 1993), como insectos (e. g. Coleoptera, Hymenoptera, Lepidoptera, Collembola, Tettigoniidae, Thysanoptera y Diptera) (Labandeira 2002), marsupiales (Bradshaw y Bradshaw 1999; Bradshaw y Bradshaw 2001) y murciélagos (Caballero-Martínez *et al.* 2009; MacSwiney *et al.* 2012). En el caso de los mamíferos, es frecuente la ingestión completa de las flores (v. gr. néctar, polen, y estructuras florales) sin importar su papel como polinizadores o depredadores de la planta (van Tets, 1997; van Tets y Nicolson, 2001).

Pese a que es conocido que el polen ofrece nutrientes importantes a los visitantes florales (insectos y aves principalmente) por su contenido de proteínas, nitrógeno, aminoácidos, almidones, esteroides, lípidos solubles en agua (van Tets, 1997; Roulston y Cane 2000; van Tets y Nicolson 2001), el polen ha sido desestimado como una recompensa importante para los mamíferos, sugiriéndose que lo ingieren primordialmente durante el aseo, una vez que se han alimentado del néctar (Wiens *et al.* 1983; Richardson *et al.* 1986). Además, se considera difícil que el animal ingiera suficiente polen para que obtenga suficientes nutrientes y que el polen puede ser deficiente en uno o más aminoácidos esenciales (Martínez-del-Río 1994), o que la pared celular sea indigerible e impida la digestión del citoplasma rico en nutrientes (Stanley y Linskens 1974).

Sin embargo, otras investigaciones indican que, por ejemplo, el polen es una parte importante del balance nutricional del marsupial australiano *Tarsipes rostratus* (Tarsipedidae) (Bradshaw y Bradshaw 1999; Bradshaw y Bradshaw 2001), en el cual, la digestión de los granos de polen se incrementa al aumentar el tiempo que éstos pasan en el tracto digestivo, principalmente en el intestino (Richardson *et al.* 1986). La importancia nutricional del polen para suplementar una dieta nectarívora, baja en proteínas y en nitrógeno, quizá se deba a los requerimientos de nitrógeno menores que presentan los

animales primordialmente nectarívoros (Bradshaw y Bradshaw 2001; Tsahar *et al.* 2005; Tsahar *et al.* 2006). El polen puede ser un recurso de nitrógeno importante para las aves nectarívoras y algunas de estas especies pueden alcanzar su balance de nitrógeno mediante el consumo de polen (p.e. *Nectarinia chalybea*, Nectariniidae; van Tets y Nicolson 2000); en mamíferos, el polen puede satisfacer las necesidades de nitrógeno incluso mejor que una dieta constituida por insectos (*Cercartetus nanus*, Burramyidae; van Tets y Hulbert 1999).

Los roedores son el orden de mamíferos más numeroso y ampliamente distribuido, por lo cual poseen una extensa dieta, que les confiere diferentes papeles ecológicos como depredadores de frutos, semillas y plántulas (Rey *et al.* 2002; Schnurr *et al.* 2004; López-Barrera *et al.* 2005); hongos, moluscos e insectos (Golley *et al.* 1975; Mangan y Adler 2000; Hernández-Betancourt *et al.* 2005), degradadores de materia acumulada en el suelo (Golley *et al.* 1975), dispersores de semillas (Rey *et al.* 2002, Li y Zhang 2003) y polinizadores (Lumer 1980, Lumer y Schoer 1986; Johnson *et al.* 2001; Kleisen *et al.* 2008).

Se sabe que los roedores consumen partes florales y polen, pero no siempre actúan como polinizadores (Rourke y Wiens, 1977; Richards *et al.* 1984). En el sur de África se ha comprobado que las flores son un elemento importante de la dieta de los roedores (van Tets y Nicolson 2001; Fleming y Nicolson 2002). Hasta hace poco, el conocimiento del consumo de polen por roedores se ha basado en la presencia de éste en las excretas, quedando aún la duda si el consumo es accidental al comer otras partes florales, o bien, si es consumido durante el aseo (p.e. Wester *et al.* 2009) o incluso mientras forrajeen insectos en las flores (Fleming y Nicolson 2003). Fleming y Nicolson (2002) descubrieron que la dieta de *Acomys subspinosus* (Muridae) durante el invierno sudafricano estaba constituida casi completamente de polen (de $33.5 \pm 27.5\%$ y hasta 80% del volumen de las heces, el resto constituido por bacterias, cebo, y materia vegetal). En este trabajo presentamos evidencia de que los roedores buscan y consumen el polen de una bromelia como un recurso adicional a su dieta en vida libre.

El trabajo de campo se realizó de febrero a abril de 2011 en un fragmento de bosque mesófilo de montaña que era cruzado por sendas, donde los árboles dominantes son *Liquidambar macrophylla* y *Quercus* spp., ubicado en el Rancho “La Luciérnaga” (19°31’12.9” N, 96°59’17.8” O), localizado en el pueblo “Rancho Viejo”, municipio de San Andrés Tlalnahuayocan, Veracruz, México. El municipio se encuentra a una altitud entre 1500-1700 msnm, con una precipitación anual de 1650 mm y con 16°C como temperatura promedio anual (Williams-Linera *et al.* 2002).

Se realizó un estudio de biología reproductiva en una población en floración de *Tillandsia macropetala* Wawra, una bromelia con antesis nocturna (para la descripción de la especie ver Krömer *et al.* 2012). Se grabaron los visitantes florales nocturnos entre el 9 de marzo y el 16 de abril del 2011, utilizando una cámara de video Sony DCR-SR65 con el modo de visión nocturna (Sony Corporation, Japan), equipada con un flash con luz infrarroja HVL-HILR (Sony Corporation, Japan) y colocada en un tripié a 1.3-1.5 m del suelo, dependiendo de la altura de la flor. Las bromelias se encontraban a alturas variables en el sitio de estudio, e incluso había individuos en las bases de los árboles y al nivel del suelo, entre la hojarasca. Se translocaron individuos en floración a una altura de 1.5 m para facilitar la grabación con la cámara de video, pero en árboles que ya contaban con individuos de esta especie de bromelia.

Durante el curso de esta investigación, los siete individuos de *T. macropetala* que eran grabados mostraron signos de herbivoría, tanto en flores maduras como en botones florales (Figura 4.1). Las primeras observaciones, aproximadamente la primera semana de abril, revelaron a las anteras como la única parte de la flor depredada, mostrando los filamentos con marcas de mordidas y quedando tanto anteras como sus fragmentos sin polen debajo de la flor o en las hojas de las bromelias. Este patrón se repitió incluso en los botones, donde la depredación se registró en la parte de los pétalos que cubría a las anteras, aún a 12 h antes de que estos abriesen (Figura 4.1).



Figura 4.1. Estructuras florales de *T. macropetala*, comparando una flor no comida con aquellas que sufrieron las señales más comunes de florivoría. (A) Flor intacta. (B) Flor con las anteras depredadas, mostrando solo los filamentos. (C) Botones florales con mordidas y las anteras removidas.

Durante una videograbación realizada el 7 de abril se observó a un ratón *Peromyscus* sp. trepando la inflorescencia del individuo de *T. macropetala* bajo observación. Durante el periodo de grabación (de las 19:30 h a las 22:40 h), el ratón realizó dos visitas a las espigas de la inflorescencia (Figura 4.2), pudiéndose observar que aunque consumía parte de los filamentos, la mayoría de éstos eran descartados como alimento una vez que el ratón consumía el polen de las anteras (Figura 4.1). El ratón no consumió el néctar de las flores que visitó aunque es abundante ($61.6 \pm 78.4 \mu\text{L}$, $n=21$ flores). Las marcas dejadas por el ratón en las flores fueron consistentes con aquellas observadas en flores que sufrieron

florivoría en las noches anteriores a esta grabación; así como en las que la presentaron en noches subsiguientes (hasta el final del estudio el 16 de abril).



Figura 4.2. *Peromyscus* sp. alimentándose de las anteras de *T. macropetala*. Se aprecia un filamento en las patas delanteras del roedor.

Para registrar las especies de roedores presentes en la localidad, se colocaron 12 trampas Sherman en dos noches (9 y 15 de abril de 2011). Las trampas fueron cebadas con avena y esencia de vainilla y colocadas al pie de los árboles donde se ubicaron las plantas más severamente depredadas. Se capturaron 10 individuos (cinco en cada noche), de al menos cuatro especies: *Reithrodontomys mexicanus* Saussure 1860 ($n=1$), *Peromyscus fuvvus* Allen y Chapman 1897 ($n=1$), *P. leucopus* Rafinesque 1818 ($n=1$) y *P. beatae* Thomas 1903 ($n=7$). Ejemplares de cada especie fueron depositados en la Colección Zoológica del Instituto de Investigaciones Biológicas, Universidad Veracruzana, México. Una hembra juvenil de *P. beatae* fue capturada al pie de un árbol donde se encontraba una bromelia que registró florivoría en esa misma noche.

Con la finalidad de obtener mayor evidencia del consumo de polen, se colectaron muestras del contenido gástrico y excretas del individuo de *P. beatae* para buscar rastros de polen (Richards et al., 1984) y compararlo con muestras obtenidas de las anteras de una flor de *T. macropetala*. Tanto las excretas como el contenido gástrico fueron preservadas en etanol al 70% (Kleizen et al. 2008), para después realizar preparaciones y observarlas bajo un microscopio a 40x (Carl Zeiss, Germany). Se revisaron 12 preparaciones (seis de cada tipo de muestra) y no se encontraron granos de polen en alguna de estas preparaciones.

Se conoce que especies del género *Peromyscus* son polinizadores de *Blakea* spp. (Melastomataceae) que buscan el néctar como recompensa (Lumer y Schoer 1986). En contraste, en el presente estudio, el ratón no poliniza a la bromelia ya que en la grabación no se aprecia el contacto con el estigma y, la mayoría de los registros de consumo de anteras fue en botones florales. Esto refuerza la idea que el ratón sólo consume el polen como recurso temporal.

Aunque se conoce que los animales cuya dieta incluye polen de forma regular pueden digerir más eficientemente su contenido que aquellos en los cuales su consumo es más infrecuente (Mancina et al. 2005), varios autores concuerdan en la alta eficiencia de los roedores para extraer el citoplasma del polen, oscilando de un 50 a más de 80% (Roulston y Cane 2000). Esta eficiencia está ligada a la especie de planta a la que pertenece el polen (Bell et al. 1983) y a la composición de aminoácidos del mismo (van Tets y Nicolson 2001). Se cree que en roedores, marsupiales y murciélagos, la extracción del citoplasma del polen se debe a la combinación de una acción enzimática y un shock osmótico (Richardson et al. 1986; van Tets 1997). La ausencia de polen en el estómago o en las heces del *P. beatae* capturado pudo deberse a que todo grano consumido fue digerido por el ratón antes de su colecta, a que el individuo colectado no fue quien consumió el polen de la flor depredada esa noche, o que en esta especie el polen no es un elemento frecuente en la dieta.

La floración de *T. macropetala* en el sitio de estudio (de mediados de diciembre a principios de abril; P. A. Aguilar-Rodríguez, obs. pers.) ocurre durante la época seca y fría

del año (Williams-Linera 1997). Este patrón fenológico también se presenta en otras especies de plantas cuyas flores sirven de alimento a roedores (p.e. *Protea humiflora* y *Massonia depressa* van Tets 1997; Johnson *et al.* 2001; Fleming y Nicolson 2002). De hecho, los roedores africanos (p.e. *Aethomys namaquensis* y *Rhabdomys pumilio*) que polinizan a *Protea* spp. (Proteaceae) son nectarívoros estacionales ya que se alimentan de follaje y semillas durante la mayor parte del año (van Tets y Nicolson 2001), pero utilizan el polen como recurso para mejorar su condición corporal antes de la temporada de cría (Fleming y Nicolson 2002).

La floración *T. macropetala* en el sitio de estudio se extiende por varias semanas, generalmente abriendo una flor por noche (ver Capítulo 3), lo que la convierte en una fuente de recursos atractiva para ratones oportunistas. Las plantas con antesis nocturna, como *T. macropetala*, coinciden con el patrón de actividad de especies de roedores, además, que la flor cuenta con un olor conspicuo que podría ayudar a su detección a larga distancia (Kleizen *et al.* 2008).

El reconocimiento del polen como parte de la dieta de los vertebrados se ha incrementado (Grant 1996; van Tets 1997; Herrera y Martínez-del-Río 1998; van Tets y Nicolson 2001; Caballero-Martínez *et al.* 2009), aunque en particular para los roedores, falta evaluar la importancia del polen como recurso en ecosistemas ajenos a los africanos. En México, el bosque mesófilo de montaña ocupa menos del 1% de la superficie del país (Challenger 1998), pero contiene más del 10% de las especies de angiospermas conocidas (Rzedowski 1993), por ello es necesario conocer la importancia que el polen y otros recursos florales tienen en la dieta de roedores durante las épocas de baja productividad y/o durante la reproducción y desarrollo de las crías. De igual forma, es necesario conocer el impacto que la florivoría puede tener en el éxito reproductivo de las plantas, ya que el consumo del polen puede afectar su disponibilidad para la polinización (Bustamante *et al.* 2010), así como la destrucción de los botones puede impactar en el despliegue y visitas de los polinizadores (Cruden 2000) y reducir la fecundidad de las bromelias (Winkler *et al.* 2005).

CAPÍTULO 5

5 DISCUSIÓN GENERAL

En este trabajo se buscaba conocer la biología floral y reproductiva de las bromelias epífitas *Tillandsia heterophylla* y *T. macropetala*, con énfasis en la efectividad de sus visitantes florales como polinizadores, en San Andrés Tlanelhuayocan, centro de Veracruz, México. La efectividad en la polinización se analizó a nivel de grupos designados por sus horarios de actividad (visitantes diurnos y nocturnos), y se hizo considerando cinco características para medir el éxito de la polinización: frecuencia relativa de visita, número de visitas en las que el visitante polinizaba, la conducta demostrada en la flor, porcentaje de fructificación y número de semillas desarrolladas. Siendo las últimas dos, los indicadores más empleados en trabajos de ecología de polinización que tratan sobre efectividad de polinizadores.

Las hipótesis planteadas fueron las siguientes: 1) El síndrome floral de ambas especies es bimodal para visitantes diurnos y nocturnos, pero con anthesis predominantemente nocturna. 2) Los visitantes nocturnos serán más frecuentes y fungirán como polinizadores más efectivos. 3) Los visitantes nocturnos más efectivos serán los murciélagos.

Usando la información obtenida sobre la fenología floral (época de floración, número de flores por día, hora de anthesis, dehiscencia y presencia de polen en las anteras, duración de la receptividad del estigma) y características del néctar (volumen y concentración), se concluyó que es durante las horas nocturnas cuando es más probable que ambas especies sean polinizadas, además de que en este horario las flores son más atractivas para los visitantes florales, ya que ambas bromelias tienen pétalos de color pálido, el néctar se secreta principalmente de noche y el olor que se identificó en el néctar de ambas especies fue percibido durante la noche.

T. heterophylla es una bromelia autocompatible que es polinizada por visitantes nocturnos y diurnos con similar efectividad. Esto cumple con lo esperado para un síndrome de polinización bimodal, en el cual dos especies no relacionadas –o en este caso gremios de visitantes con distinto horario de actividad- pueden polinizar efectivamente a la flor

(Schmid *et al.* 2011a), gracias a características de su síndrome floral que pueden considerarse intermedias (antesis, producción de néctar y receptividad de estigma que se prolongan hasta la mañana siguiente), o compartidas entre síndromes (p. e. las características en común entre la falenofilia y quiropterofilia). Esto cumpliría con la hipótesis **1**. Sin embargo, con las observaciones hechas en este trabajo no se puede decir que los visitantes nocturnos (hipótesis **2**) sean más efectivos que los diurnos, porque el porcentaje de fructificación y el número de semillas es similar (Cuadro 2.2). Una mayor fructificación en el campo, en contraste con la obtenida en el vivero, indica una buena deposición de polen por parte de los polinizadores naturales (Larson y Barret 2000) de la bromelia *T. heterophylla*. No obstante, gran parte de la producción de frutos/semillas es debida a la alta capacidad que tiene *T. heterophylla* de ser polinizada por polen propio, y a la facilidad de la flor de autopolinizarse con casi cualquier movimiento de su corola.

Sin embargo, hay que recordar que es durante la noche cuando es más probable que sea polinizada *T. heterophylla*, ya que la mayor parte de su antesis transcurre durante la noche. Los visitantes diurnos (colibríes y abejas *Euglossa*) tienen un reducido margen de horas (ca. de 4 h) para efectuar la polinización antes de que la corola se cierre al marchitarse durante la mañana siguiente (ver Capítulo 2), y esto los catalogaría como polinizadores secundarios funcionales. Además, la visita matutina de colibríes y abejas propiciaría la autogamia, la polinización con cargas de polen de distintas especies de bromelias que fueron previamente visitadas, y la pérdida de polen por la colecta de las abejas. Más información sería necesaria para determinar con precisión la efectividad de los visitantes como polinizadores, incluyendo otros indicadores del éxito reproductivo, como el porcentaje de germinación, o incluso analizar la distancia de transferencia de polen, o la diversidad genética de las semillas producidas por un grupo u otro de polinizadores.

De los visitantes nocturnos, el murciélago *Anoura geoffroyi* fue el visitante más frecuente, y que polinizó las flores en todas sus visitas, por lo que a nivel general, lo haría el visitante nocturno más efectivo (hipótesis **3**), lo cual que confirma que las características florales de *T. heterophylla* atraían murciélagos. Este sería un ejemplo en el cual la composición y

concentración del néctar en bromelias pueden predecir el visitante más frecuente (Krömer *et al.* 2008), aún mejor que otras características morfológicas (Gardner 1986) que pueden ser compartidas entre distintos síndromes.

En el caso de *T. macropetala*, sería posible suponer un escenario similar al visto en *T. heterophylla*. Incluso, a diferencia de la última, *T. macropetala* ofrece una mejor recompensa (mayor néctar) y posee una morfología floral que no restringe las visitas durante toda la vida de la flor (*T. macropetala* no cierra sus pétalos hasta marchitarse después de ca. 18 h) y deja expuesto el néctar (Figura 3.2). Estas características favorecieron que incluso con menos horas de observación (107 h para *T. macropetala* vs. 167 h en *T. heterophylla*), las visitas registradas hayan sido al menos el doble que en *T. heterophylla* (210 visitas en *T. macropetala* vs. 99 visitas en *T. heterophylla*).

Sin embargo, *T. macropetala* no es polinizada con igual efectividad por los dos gremios de visitantes diurnos y nocturnos evaluados (en contraposición a la hipótesis **1**), aun cuando otras características sugieran un síndrome bimodal (ver Krömer *et al.* 2012; Capítulo 3). De hecho, *T. macropetala* solamente fue polinizada por visitantes nocturnos (como lo demuestran los frutos y semillas de los tratamientos en el campo), y sólo una especie de murciélago (*A. geoffroyi*) realizó esta polinización en las 29 h de grabación analizadas (lo que sí corresponde a lo planteado en las hipótesis **2** y **3**). Los visitantes diurnos no la polinizan porque la morfología floral, en combinación con la conducta de aproximación y visita (colibríes) o la talla corporal (insectos), les permite obtener néctar sin tocar los órganos reproductores de la flor; además, las visitas diurnas suceden en horas en las que poco o nada de polen se encuentra en las anteras, o en las que el estigma ya puede encontrarse con polen en su superficie.

Hay que recordar también que los tratamientos en el vivero señalan que, aunque autocompatible, el potencial de *T. macropetala* de autopolinizarse es limitado (ver Cuadro 3.1), a diferencia de lo que ocurre en *T. heterophylla* (ver Cuadro 2.1), o incluso con otra bromelia quiropterófila (*Werauhia gladioliflora*; Cascante-Marín *et al.* 2005; Tschapka y

von Helversen 2007). Así, al menos en *T. macropetala*, los visitantes nocturnos son, no sólo los más efectivos, si no los únicos polinizadores para esta bromelia, mientras que los diurnos solamente constituyen ladrones de néctar. Además, al ser polinizada solo por una especie de murciélago, *T. macropetala* puede ser descrita entonces como una especie con un sistema de polinización especializado (M. Quesada, com. pers.), al menos en la región de este estudio, en contraposición a *T. heterophylla*, una especie con un sistema de polinización generalista.

La bromelia *W. gladioliflora* también recibe visitas de colibríes en antes del anochecer y en la mañana, pero Cascante-Marín *et al.* (2005) y Tschapka y von Helversen (2007) coincidieron que, por la morfología y forma de aproximación a la flor, era poco probable que los colibríes polinizaran las flores, este puede ser también el caso de *T. macropetala*, pero a diferencia de *W. gladioliflora*, *T. macropetala* no cierra su corola. Quizá en otros sitios, con otra fauna de polinizadores, esta característica sea útil para ser polinizada por más animales (Thompson 1994).

Al igual que con *T. heterophylla*, las características del néctar (Krömer *et al.* 2008) determinaron mejor que los caracteres morfológicos (Hietz y Hietz-Seifert 1994) el visitante más frecuente y polinizador de *T. macropetala*. Esto supone que, como algunos autores sugieren (p. e. Gregory 1963; Waser 1978; San Martín-Gajardo y Sazima 2005; Nicolson y Thornburg 2007; Martín-Rodríguez y Fenster 2008), los síndromes de polinización deben ser estudiados con cautela y ser respaldados por observaciones de los visitantes, y el empleo de medidas adecuadas del éxito reproductivo en la planta estudiada (Wendt *et al.* 2001). Hay que recordar que ambas especies de bromelias tienen néctar con aroma, siendo éste más conspicuo en el caso de *T. heterophylla*, y este es otro rasgo que debe ser investigado. Se sabe que las plantas quiropterófilas tienen fragancias con constitución química particular que atrae a los murciélagos (von Helversen y Winter 2003).

Incluso si se comprobara que otros murciélagos nectarívoros presentes en la zona de estudio también visitan y polinizan a *T. macropetala*, constituiría el único caso hasta ahora

de una bromelia totalmente quiropterófila en este ecosistema (excluyendo quizá a su especie hermana simpátrica *Tillandsia viridiflora*; T. Krömer, com. pers.). Por esto, es más dependiente de la abundancia de murciélagos de lo que es *T. heterophylla*, y puede ser una causa que explique las diferencias en la presencia y abundancia de ambas especies de bromelias. Plantas con sistemas de polinización generalistas pueden ser más resistentes a la pérdida de algunos polinizadores (Johnson y Steiner 2000). La autopolinización, una gama de polinizadores generalistas, la reproducción vegetativa, y otros mecanismos compensatorios, aseguran la permanencia de las plantas con flor en hábitats en los que los servicios de los polinizadores son impredecibles (Bond 1994). Probablemente esto ha contribuido al éxito que tiene *T. heterophylla* para establecerse exitosamente en hábitats con vegetación secundaria, plantaciones (p. e. cafetales y rodales), e incluso en parques públicos dentro de la ciudad, siendo muy abundante en los sitios en los que se ha establecido (P. A. Aguilar-Rodríguez, obs. pers.).

Aunque *T. macropetala* es abundante en los sitios cercanos al área de estudio, principalmente en bosque con dosel abundante y en vegetación cercana a corrientes de agua (P. A. Aguilar-Rodríguez, obs. pers.), no es observada cerca de caminos o cultivos, donde sí es común *T. heterophylla*. Con el cambio de uso de suelo que se da en el municipio y en los alrededores de la ciudad de Xalapa (Toledo-Aceves *et al.* 2011), la vegetación original, donde *T. macropetala* mantiene sus poblaciones se encuentra amenazada. Los cambios en la estructura del paisaje tiene una gran influencia en la sobrevivencia y en la capacidad de dispersión de muchos polinizadores, ya que determina la disponibilidad de recursos y la conectividad funcional del paisaje (Viana *et al.* 2012 y referencias en éste).

En conjunto, la floración consecutiva de *T. macropetala* (diciembre a abril) y *T. heterophylla* (mayo a julio) ofrece néctar con concentración y composición típica de bromelias quiropterófilas (Krömer *et al.* 2008) por al menos ocho meses cada año. Esto puede constituir un recurso alimenticio importante para la población de *A. geoffroyi* en la zona. La evaluación del néctar (patrón de producción, volumen y concentración) de una especie de bromelia quiropterófila (*W. gladioliflora*) se ha realizado, pero en un ecosistema

de selva tropical en Costa Rica (Tschapka y von Helversen 2007), en el cual se pudo determinar que el comportamiento de visita de los murciélagos (principalmente *Glossophaga commissarisi*) parece estar moldeado por una combinación de factores fisiológicos intrínsecos a los murciélagos nectarívoros y por la disponibilidad de néctar a lo largo de la noche.

El presente trabajo constituye dos estudios de caso que no son generalizables en el tiempo y espacio para otras poblaciones de estas mismas especies de bromelias que, por ejemplo, también ocurren en la región de Los Tuxtlas, Veracruz (*T. macropetala*) y en el estado de Puebla (*T. heterophylla*) (Krömer *et al.* 2012). Mientras que para el sitio de estudio se han reportado al menos 26 especies de murciélagos, de las cuales tres son nectarívoros (*A. geoffroyi*, *Glossophaga soricina*, y *Choeroniscus godmani*; Sosa *et al.* 2008), para la región de Los Tuxtlas al menos existen 38 especies, y cuatro de éstas son nectarívoras (*G. soricina*, *C. godmani*, *Hylonycteris underwoodi* y *Leptonycteris yerbabuena*; Galindo González 2004).

Incluso hay que considerar que la fauna de visitantes en el sitio de estudio puede variar entre años y entre estaciones (Gómez 2002). También es posible que el traslado y reubicación de los individuos pudieran tener algún impacto en la fauna de visitantes. No obstante, este último punto se intentó remediar al translocar bromelias a sitios donde previamente había individuos en floración a alturas similares a las utilizadas para las bromelias translocadas.

Pese a lo anterior, este estudio constituye la primera investigación de este tema, ya que no existen otros trabajos publicados sobre la biología floral y reproductiva de especies de *Tillandsia* con antesis nocturna. Con este trabajo se confirma que la quiropterofilia en bromelias también está presente en el género *Tillandsia*, e incrementa lo reportado por Fleming *et al.* (2009), que sólo menciona a los géneros *Encholirium*, *Guzmania*, *Pitcairnia*, *Puya*, *Vriesea* y *Werauhia* como aquellos con especies quiropterófilas. Es también la

primera vez que se realiza un estudio de este tipo con bromelias que presenten una floración principalmente nocturna, en México. Y especialmente en el ecosistema del BMM.

Esta investigación puede ser la línea base para trabajos ecológicos más complejos en alcance, que involucren otras especies similares (como las especies hermanas de las bromelias estudiadas, *Tillandsia grandis* y *T. viridiflora*; Krömer *et al.* 2012) que ayuden a explicar la ecología reproductiva de las bromelias con floración nocturna, que hasta el presente son muy poco estudiadas.

LITERATURA CITADA

1. Aguilar, R., Ashworth, L., Galetto, L., Aizen, M. A. 2006. Plant reproductive susceptibility to habitat fragmentation: review and synthesis through a meta-analysis. *Ecology Letters*. 9(8), 968-980.
2. Aigner, P. A. 2001. Optimality modeling and fitness trade-offs: When should plants become pollinator specialist? *Oikos*. 95(1), 177-184.
3. Aigner, P. A. 2006. The evolution of specialized floral phenotypes in a fine-grained pollination environment. In: Waser, N. M., Ollerton, J. (Eds.), *Plant-Pollinator interactions. From Specialization to generalization*. The University of Chicago Press, Chicago & London, pp. 19-46.
4. Aldrich, M., Buba, P., Hostettler, S., Van de Wiel, H. 2000. Bosques nublados tropicales montanos. *Tiempo para la acción*. WWF International/IUCN The World Conservations Union. Cambridge. Inglaterra.
5. Araujo, A., Fischer, E., Sazima, M. 1994. Floracao sequencial e polinizacao de tres especies de *Vriesea* (Bromeliaceae) na regio de Jur´eia, sudeste do Brasil. *Revista Brasileira de Botanica*. 17, 113–118.
6. Arita, H. T., Santos-del-Prado, K. 1999. Conservation biology of nectar-feeding bats in Mexico. *Journal of Mammalogy*. 80(1), 31-41.
7. Armbruster, P., Hutchinson, R. A., Cotgreave, P. 2002. Factors influencing community structure in a South American tank bromeliad fauna. *Oikos*. 96(2), 225-234.
8. Armbruster, W. S. 2006. Evolutionary and ecological perspectives on specialization: from the arctic to the tropics. In: Waser, N. M., Ollerton, J. (Eds.), *Plant-Pollinator interactions. From Specialization to generalization*. The University of Chicago Press, Chicago & London, pp. 260-282.
9. Ashman, T. L., Stanton, M. 1991. Seasonal variation in pollination dynamics of sexually dimorphic *Sidalcea oregano* ssp. *Spicata* (Malvaceae). *Ecology*. 72(3), 993-1003.
10. Baker, H. G., Baker I. 1983. Floral nectar sugar constituents in relation to pollinator type. In: Jones, C. E., Little, R. J. (Eds.), *Handbook of experimental pollination biology*. New York, Van Nostrand Reinhold, pp. 117-141.

11. Baker, H. G., Baker, I. 1982. Chemical constituents of nectar in relation to pollination mechanisms and phylogeny. In: Nitecki, M. H. (Ed.), Biochemical aspects of evolutionary biology. University of Chicago Press, Chicago, Illinois, USA, pp. 131-171.
12. Becker, T., Voss, N., Durkas, W. 2011. Pollen limitation and inbreeding depression in an 'old rare' bumblebee-pollinated grassland herb. *Plant Biology*. 13(6), 857-864.
13. Bell, R. R., Thornber, E. J., Seet, J. L. L., Groves, M. T., Ho, N. P., Bell, D. T. 1983. Composition and protein quality of honeybee-collected pollen of *Eucalyptus marginata* and *Eucalyptus calophylla*. *Journal of Nutrition*. 113, 2479-2484.
14. Benzing, D. H. 1990. Vascular epiphytes: general biology and related biota. Cambridge University Press, Cambridge, England.
15. Benzing, D. H. 1995. Vascular epiphytes. In: Lowman, M. D., Nadkarni, N. M. (Eds.), Forest canopies. Academic Press, San Diego, California, pp. 225-254.
16. Benzing, D. H. 2000. Bromeliaceae. Profile of an adaptive radiation. Cambridge University Press, Cambridge, England.
17. Bernardello, L., Galetto, L., Juliani, H. R. 1991. Floral nectar, nectary structure and pollinators in some Argentinian Bromeliaceae. *Annals of Botany*. 67(5), 401-411.
18. Bond, W. J. 1994. Do mutualisms matter? Assessing the impact of pollinator and disperser disruption on plant extinction. *Philosophical Transactions of The Royal Society of London B*. 344(1307), 83-90.
19. Bradshaw, F. J., Bradshaw, S. D. 2001. Maintenance nitrogen requirement of an obligate nectarivore, the Honey possum, *Tarsipes rostratus*. *Journal of Comparative Physiology B*. 171(1), 59-67.
20. Bradshaw, S. D., Bradshaw, F. J. 1999. Field energetics and the estimation of pollen and nectar intake in the marsupial honey possum, *Tarsipes rostratus*, in heathland habitats of South-Western Australia. *Journal of Comparative Physiology B*. 169(8), 569-580.
21. Brody, A. K. 1997. Effects of pollinators, herbivores, and seed predators on flowering phenology. *Ecology*. 78(6), 1624-1631.
22. Bush, S. P., Beach, J. H. 1995. Breeding systems of epiphytes in a tropical montane wet forest. *Selbyana*. 16(2), 155-158.

23. Bustamante, E., Casas, A., Búrquez, A. 2010. Geographic variation in reproductive success of *Stenocereus thurberi* (Cactaceae): effects of pollination timing and pollinator guild. *American Journal of Botany*. 97(12), 2020-2030.
24. Buzato, S., Franco, A. L. M. 1992. *Tetrastylis ovalis*: a second case of bat-pollinated passionflower (Passifloraceae). *Plant Systematics and Evolution*. 181(3-4), 261-267.
25. Buzato, S., Sazima, M., Sazima, I. 1994. Pollination of three species of *Abutilon* (Malvaceae) intermediate between bat and hummingbirds flowers syndromes. *Flora*. 189(4), 327-334.
26. Caballero-Martínez, L. A., Rivas- Manzano, I. V., Aguilera- Gómez, L. I. 2009. Hábitos alimentarios de *Anoura geoffroyi* (Chiroptera: Phyllostomidae) en Ixtapa del Oro, Estado de México. *Acta Zoológica Mexicana (n.s.)*. 25(1), 161-175.
27. Cach-Pérez, M. J. 2008. Influencia ambiental sobre la fisiología y anatomía foliar de *Tillandsia heterophylla*, bromelia endémica de México. Tesis de maestría. Instituto de Ecología A. C. Xalapa, Veracruz.
28. Canela, M. B. F., Sazima, M. 2003. *Aechmea pectinata*: a hummingbird-dependent bromeliad with inconspicuous flowers from the rainforest in South-eastern Brazil. *Annals of Botany*. 92(5), 731-737.
29. Canela, M. B. F., Sazima, M. 2005. The pollination of *Bromelia antiacantha* (Bromeliaceae) in Southeastern Brazil: Ornithophilous versus Melittophilous features. *Plant Biology*. 7(4), 411-416.
30. Carranza-Quiceno, J. A., Estévez-Varón, J. V. 2008. Ecología de la polinización de *Bromeliaceae* en el dosel de los bosques neotropicales de montaña. *Boletín científico Centro de museos. Museo de historia natural*. 12(1), 38-47.
31. Cascante-Marín, A., Oostermeijer, J. G. B., Wolf, J. H. D., Dennijs, J. C. M. 2005. Reproductive biology of the epiphytic bromeliad *Werauhia gladioliflora* in a premontane tropical forest. *Plant Biology*. 7(2), 203–209.
32. Cascante-Marín, A., Wolf, J. H. D., Oostermeijer, J. G. B. 2009. Wasp florivory decreases reproductive success in an epiphytic bromeliad. *Plant Ecology*. 203(1), 149-153.

33. Castaño, M. R. G. 2002. Estructura de la comunidad de artrópodos epifitos y su papel en el crecimiento de *Tillandsia violácea* (Bromeliaceae) en un bosque templado de Hidalgo, México. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias. UNAM. México, D.F.
34. Castillo, C. G., Medina, A., Ma. E., Dávila, A. P. D., Zavala, H. J. A. 2005. Contribución al conocimiento del endemismo de la flora vascular en Veracruz, México. *Acta Botánica Mexicana*. 73, 19-57.
35. Challenger, A. 1998. Utilización y conservación de los ecosistemas terrestres de México. Pasado, presente y futuro. CONABIO. México, D.F.
36. CONABIO. 2010. El Bosque Mesófilo de Montaña en México: Amenazas y Oportunidades para su Conservación y Manejo Sostenible. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México D.F., México.
37. Cruden, R. W. 1973. Reproductive biology of weedy and cultivated *Mirabilis* (Nyctaginaceae). *American Journal of Botany*. 60(8), 802-809.
38. Cruden, R. W. 2000. Pollen grains: Why so many? *Plant Systematics and Evolution*. 222(1-4), 143-165.
39. Cruz-Angón, A., Escobar-Sarria, F., Gerez-Fernández, P., Muñiz-Castro, M. A., Ramírez-Ramírez, F., Williams-Linera, G. 2010. Región V. Centro de Veracruz. In: CONABIO, El Bosque Mesófilo de Montaña en México: Amenazas y Oportunidades para su Conservación y Manejo Sostenible. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México D.F., México, pp. 80-87.
40. Dafni, A., Motte, M. M. 1998. A rapid and simple procedure to determine stigma receptivity. *Sexual plant reproduction*. 11(3), 177-180.
41. Dar, S., Arizmendi, M. S., Valiente-Banuet, A. 2006. Diurnal and Nocturnal Pollination of *Marginatocereus marginatus* (Pachycereeae: Cactaceae) in Central Mexico. *Annals of Botany*. 97(3), 423-427.
42. Doumenge, C. H., Gilmour, D., Ruiz-Pérez, M., Blockhubs, J. 1995. Tropical montane cloud forests: conservation status and management sigues. In: Hamilton, L. S., Juvik, J. O., Scatena, F. N. (Eds.), *Tropical montane cloud forests*. Ecological Studies 110, Springer Verlag, New York, pp. 24-37.

43. Edythe, L. P. 1988. Age determination in bats. In: Kunz, T. H. (Eds.), Ecological and behavioral methods for the study of bats. Washington, DC. Smithsonian Institution Press. Washington D.C., pp. 47-58.
44. Endress, P. K. 1994. Diversity and evolutionary biology of tropical flowers. Cambridge University Press, Inglaterra.
45. Escobedo, S. G. J. 2007. Biología de la Reproducción de *Tillandsia prodigiosa* (Lem.) Baker Bromeliaceae. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional. Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca, México.
46. Espejo-Serna, A., López-Ferrari, A. R., Ramírez- Morillo, I. 2005. Bromeliaceae. Flora de Veracruz. Fascículo 136. Instituto de Ecología, A. C., Xalapa.
47. Espejo-Serna, A., López-Ferrari, A. R., Ramírez-Morillo, I., Holst, B. K., Luther, H. E., Till, W., 2004. Checklist of Mexican Bromeliaceae with notes on species distribution and levels of endemism. *Selbyana*. 25(1), 33-86.
48. Faegri, K., Van der Pijil, L. 1979. The principles of pollination ecology. Pergamon Press, Oxford, Inglaterra.
49. Feinsinger, P., Colwell, R. K. 1978. Community organization among neotropical nectar-feeding birds. *American Zoologist*. 18(4), 779-795.
50. Fenster, C.B., Armbruster, W. S., Wilson, P., Dudash, M.R., Thomson, J.D. 2004. Pollination syndromes and floral specialization. *Annual Review of Ecology & Systematics*. 35, 375–403.
51. Fenton, M. B., Kunz, T. H. 1977. Movements and behavior. In: Baker, R. J., Jones, J. K. Jr., Carter, D. C. (Eds.), *Biology of bats of the New World Family Phyllostomidae*, part 2. Texas Tech University press, Lubbock, Texas, pp. 351-364.
52. Fleming, P. A., Hartman, B. B., Lotz, C. N., Nicolson, S. W. 2004. Concentration and temperature effects on sugar intake and preferences in a sunbird and a hummingbird. *Functional Ecology*. 18(2), 223-232.
53. Fleming, P. A., Nicolson, S. W. 2002. How important is the relationship between *Protea humiflora* (Proteaceae) and its non-flying mammal pollinators? *Oecologia*. 132(3), 361-368.

54. Fleming, P. A., Nicolson, S. W. 2003. Arthropod fauna of mammal-pollinated *Protea humiflora*: ants as an attractant for insectivore pollinators? *African Entomology*. 11(1), 9-14.
55. Fleming, T. H., Geiselman, C., Kress, W. J. 2009. The evolution of bat pollination: a phylogenetic perspective. *Annals of Botany*. 104 (6), 1017-1043.
56. Fleming, T. H., Muchhala, N. 2008. Nectar-feeding bird and bat niches in two worlds: Pantropical comparisons of vertebrate pollination systems. *Journal of Biogeography*. 35(5), 764-780.
57. Fleming, T. H., Sahley, C. T., Holland, J. N., Nason, J. D., Hamrick, J. L. 2001. Sonoran Desert columnar cacti and the evolution of generalized pollination systems. *Ecological Monographs*. 71(4), 511– 530.
58. Fleming, T. H., Sosa, V. J. 1994. Effects of nectarivorous and frugivorous mammals on reproductive success of plants. *Journal of Mammalogy*. 75(4), 845-851.
59. Fleming, T. H., Tuttle, M. D., Horner, M. A. 1996. Pollination biology and the relative importance of nocturnal and diurnal pollinators in three species of Sonoran desert columnar cacti. *The Southwestern Naturalist*. 41(3), 257–269.
60. Flores-Palacios, A., García-Franco, J. G. 2001. Sampling methods for vascular epiphytes. Their effectiveness in recording species richness and frequency. *Selbyana*. 22(2), 181-191.
61. Flores-Palacios, A., Valencia-Díaz, S. 2007. Local illegal trade reveals unknown diversity and involves a high species richness of wild vascular epiphytes. *Biological Conservation*. 136(3), 372-387.
62. Fumero-Cabán, J. J., Meléndez-Ackerman, E. J. 2007. Relative pollination effectiveness of floral visitors of *Pitcairnia angustifolia* (Bromeliaceae). *American Journal of botany*. 94(3), 419-424.
63. Galindo-González, J. 2004. Clasificación de los murciélagos de la región de Los Tuxtlas, Veracruz, respecto a su respuesta a la fragmentación del hábitat. *Acta Zoológica Mexicana*. 20(2), 239-243.
64. García-Franco, J. G., Castillo-Campos, G., Mehltreter, K., Martínez, M. L., Vázquez, G. 2008. Composición florística de un Bosque Mesófilo del Centro de Veracruz, México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 83, 37-52.

65. García-Franco, J. G., Toledo-Aceves, T. 2008. Epífitas vasculares: Bromelias y orquídeas. In: Manson, R. H., Hernández-Ortíz, V., Gallina, S., Mehlreter, K. (Eds.), Agroecosistemas cafetaleros de Veracruz biodiversidad, manejo y conservación. Instituto de Ecología A. C., Instituto Nacional de Ecología. INECOL INE-SEMARNAT, pp. 69-82.
66. Gardner, C. S. 1986. Inferences about pollination in *Tillandsia* (Bromeliaceae). *Selbyana*. 9(1), 76–87.
67. Gentry, A. H., Dodson, C., 1987. Diversity and biogeography of Neotropical vascular epiphytes. *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 74(2), 205-233.
68. Givnish, T. J., Barfuss M. H. J., Van Ee, B., Riina, R., Schulte, K., Horres, R., Gonsiska, P. A., Jabaily, R. S., Crayn, D. M., Smith, J. A. C., Winter, K., Brown, G. K., Evans, T. M., Holst, B. K., Lutter, H., Till, W., Zizka, G., Berry, P. E., Sytsma K. J. 2011. Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography in Bromeliaceae: insights from an eight-locus plastid phylogeny. *American Journal of Botany* 98(5), 872-895.
69. Golley, F. B., Ryszkowski, L., Sokur, J. T. 1975. The role of small mammals in temperate forest, grasslands and cultivated fields. In: Golley, F. B., Petruszewicz, K., Ryszkowski, L. (Eds.), *Small mammals: their productivity and populations dynamics*, Cambridge University Press, pp. 223-242.
70. Gómez, J. M. 2002. Generalización en las interacciones entre plantas y polinizadores. *Revista Chilena de Historia Natural*. 75(1), 105-116.
71. Gómez, J. M., Zamora, R. 1999. Generalization vs. specialization in the pollination system of *Hormathophylla spinosa* (Cruciferae). *Ecology*. 80(3), 796-805.
72. Gómez, J. M., Zamora, R. 2006. Ecological Factors that promote the evolution of generalization in pollination systems. In: Waser, N. M., Ollerton, J. (Eds.), *Plant-Pollinator interactions. From Specialization to generalization*. The University of Chicago Press, Chicago & London, pp. 145-166.
73. Gottsberg, G., Schrauwen, J., Linskens, H. F. 1984. Amino acids and sugar in nectar, and their putative evolutionary significance. *Plant Systematics and Evolution*. 145(1-2), 55-77.
74. Grant, P. R. 1996. Pollen digestion by Darwin's finches and its importance for early breeding. *Ecology*. 77(2), 489-499.

75. Gregory, D. P. 1963. Hawkmoth pollination in the genus *Oenothera*, introduction. *Aliso*. 5(3), 357-384.
76. Gribel, R., Hay, J. D. 1993. Pollination ecology of *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae) in Central Brazil cerrado vegetation. *Journal of Tropical Ecology*. 9(2), 199–211.
77. Guitian, P., Guitian, J., Navarro, L. 1993. Pollen transfer and diurnal versus nocturnal pollination in *Lonicera etrusta*. *Acta Oecologica*. 14(2), 219-227.
78. Haeckel, I. 2008. The “Arco Floral”: Ethnobotany of *Tillandsia* and *Dasyilirion* spp. in a Mexican religious adornment. *Economic Botany*. 62(1), 90-95.
79. Halbritter, H. 1992. Morphologie und systematische Bedeutung des Pollens der Bromeliaceae. *Grana*. 31(3), 197-212.
80. Hamilton, L. S., Juvik, J. O., Scatena, F. N. 1995. Tropical montane cloud forests. *Ecological studies* 110. Springer Verlag, New York.
81. Hernández-Betancourt, S. F., Gómez-González, J., Cimé-Pool, J. A., Medina-Peralta, S., Euan-Canul, C. M. 2005. First report of use of land snails for *Heteromys gaumeri* (Rodentia: Heteromyidae) in a subdeciduous forest in Yucatán, México. *Acta Zoológica Mexicana*. 21(2), 155-156.
82. Hernández-Sánchez, A. A., García-Franco, J. G. 2006. Invertebrados asociados a la epífita *T. heterophylla* (Bromeliaceae) en ambientes estacionales y contrastantes del Centro de Veracruz. *Entomología Mexicana*. 5(2), 1026-1031.
83. Herrera, C. M. 1987. Components of pollinator “quality”: comparative analysis of a diverse insect assemblage. *Oikos*. 50(1), 79-90.
84. Herrera, L. G. M., Martínez-del-Río, C. 1998. Pollen digestion by New World bats: effects of processing time and feeding habits. *Ecology*. 79(8), 2828-2838.
85. Hietz, P., Hietz–Seifert, U. 1994. Epífitas de Veracruz. Guía ilustrada para las regiones de Xalapa y Los Tuxtlas, Veracruz. Instituto de Ecología, A.C. Xalapa, Veracruz.
86. Hietz, P., Hietz–Seifert, U. 1995. Composition and ecology of vascular epiphyte communities along an altitudinal gradient in central Veracruz, México. *Journal of Vegetation Science*. 6(4), 487-498.

87. Irwin, R. E., Bronstein, J. L., Manson, J. S., Richardson, L. 2010. Nectar robbing: ecological and evolutionary perspectives. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics*. 41, 271-292.
88. Jaramillo, M. A., Cavellier, J. 1998. Fenología de dos especies de *Tillandsia* (Bromeliaceae) en un bosque montano alto de la cordillera oriental colombiana. *Selbyana*. 19(1), 44-51.
89. Jennersten, O., Morse, D. H. 1991. The quality of pollination by diurnal and nocturnal insects visiting common milkweed, *Asclepias syriaca*. *American Midland Naturalist*. 125(1), 18-28.
90. Johnson, S. A., Tets, I. G. V., Nicolson, S. W. 1999. Sugar preferences and xylose metabolism of a mammal pollinator, the namaqua rock mouse (*Aethomys namaquensis*). *Physiological and Biochemical Zoology*. 72(4), 438-444.
91. Johnson, S. D., Pauw, A., Midgley, J. 2001. Rodent pollination in the African Lily *Massonia depressa* (Hyacinthaceae). *American Journal of Botany*. 88(10), 1768-1773.
92. Johnson, S. D., Steiner, K. E. 2000. Generalization versus specialization in plant pollination systems. *Trends in Ecology and Evolution*. 15(4), 140-143.
93. Kaehler, M., Varassin, I. G., Goldenberg, R. 2005. Polinização em uma comunidade de bromélias em Floresta Atlântica Alto-montana no Estado do Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*. 22(2), 219-228.
94. Kalko, E. K. V., Handley Jr. 2001. Neotropical bats in the canopy: diversity, community, structure, and implications for conservations. *Plant Ecology*. 153(1-2), 319-333.
95. Kamke, R., Schmid, S., Zillikens, A., Cortés-Lopes, B., Steiner, J. 2011. The importance of bees as pollinators in the short corolla bromeliad *Aechmea caudata* in Southern Brazil. *Flora*. 206(8), 749-756.
96. Kay, E. 2001. Observations on the pollination of *Passiflora penduliflora*. *Biotropica*. 33(4), 709-713.
97. Kearns, C. A., Inouye, D. W. 1993. Techniques for pollination biologists. Niwot, University of Colorado Press.
98. Kessler, M., Krömer, T. 2000. Patterns and ecological correlates of pollination modes among bromeliad communities of Andean forests in Bolivia. *Plant Biology*. 2(6), 659-669.

99. Kleizen, C., Midgley, J., Johnson, S. D. 2008. Pollination systems of *Colchicum* (Colchicaceae) in Southern Africa: Evidence for rodent pollination. *Annals of Botany*. 102(5), 747-755.
100. Kress, W. J. 1983. Self-incompatibility in Central American *Heliconia*. *Evolution*. 37(4), 735-744.
101. Krömer, T., Espejo, A., López-Ferrari, A. R., Acebey, A. 2007. *Werauhia noctiflorens* (Bromeliaceae), una nueva especie del sureste de México y Belice. *Novon*. 17(3), 336-340.
102. Krömer, T., Espejo-Serna, A., López-Ferrari, A., Ehlers, R., Lautner, J., 2012. Taxonomic and nomenclatural status of the Mexican species in the *Tillandsia viridiflora* complex (Bromeliaceae). *Acta Botánica Mexicana*. 99, 1-20.
103. Krömer, T., Kessler, M., Herzog, S. K. 2006. Distribution and flowering ecology of bromeliads along two climatically contrasting elevational transects in the Bolivian Andes. *Biotropica*. 38(2), 183-195.
104. Krömer, T., Kessler, M., Lohaus, G., Schmidt-Lebuhn, A. N. 2008. Nectar sugar composition and concentration in relation to pollination syndromes in Bromeliaceae. *Plant Biology*. 10(4), 502–511.
105. Labandeira, C.C. 2002. The history of associations between plants and animals. In: Herrera, C. M., Pellmyr, O. (Eds.), *Plant-Animal Interactions. An Evolutionary Approach*. Blackwell Publishing, pp. 26-74.
106. Larson, B., Barrett, S. C. H. 2000. A comparative analysis of pollen limitation in flowering plants. *Biological Journal of the Linnean Society*. 69(4), 503-520.
107. Larson, B., Frank, J. H. 2000. Mexican Bromeliad Weevil (suggested common name), *Metamasius callizona* (Chevrolat) (Insecta: Coleoptera: Curculionidae). University of Florida IFAS Extension. EENY161, 1-9.
108. Lenzi, M., Matos, J. Z., Orth, A. I. 2006. Variação morfológica e reprodutiva de *Aechmea lindenii* (E. Morren) Baker var. *Lindenii* (Bromeliaceae). *Acta Botánica Brasilica*. 20(2), 487-500.
109. Linhart, Y. B. 1973. Ecological and behavioral determinants of pollen dispersal in hummingbird-pollinated *Heliconia*. *American Naturalist*. 107(956), 511-523.

110. Lloyd, D. G., Barret, S. C. H. 1996. Floral biology: studies on floral evolution in animal-pollinated plants. Chapman y Hall. Nueva York, Nueva York.
111. Lobo, J. A., Quesada, M., Stoner, K. E. 2005. Effects of pollination by bats on the mating system of *Ceiba pentandra* (Bombacaceae) populations in two tropical life zones in Costa Rica. American Journal of Botany. 92(2), 370-376.
112. López-Barrera, F., Newton, A., Manson, R. 2005. Edge effects in a tropical montane forest mosaic: experimental tests of post-dispersal acorn removal. Ecological Research. 20(1), 31–40.
113. Lumer, C. 1980. Rodent pollination of *Blakea* (Melastomataceae) in Costa Rican cloud forest. Brittonia. 32(4), 512-517.
114. Lumer, C., Schoer, R. D. 1986. Pollination of *Blakea austin-smithii* and *B. penduliflora* (Melastomataceae) by small rodents in Costa Rica. Biotropica. 18(4), 363-364.
115. Lunau, K. 2004. Adaptative radiation and coevolution-pollination biology case studies. Organisms, Diversity & Evolution. 4(3), 207-224.
116. Machado, I. C. S., Sazima, I., Sazima, M. 1998. Bat pollination of the terrestrial herb *Irlbachia alata* (Gentianaceae) in northeastern Brazil. Plant Systematics and Evolution. 209(3-4), 231-237.
117. MacSwiney, G. M. C., Bolívar-Cimé, B., Clarke, F. M., Racey, P. A. 2012. Transient yellow colouration of the bat *Artibeus jamaicensis* coincides with pollen consumption. Mammalian Biology. 77(3), 221-223.
118. Mancina, C. A., Balseiro, F., Herrera, M. L. G. 2005. Pollen digestion by nectarivorous and frugivorous Antillean bats. Mammalian Biology. 70(5), 282–290.
119. Mangan, S. A., Adler, S. H. 2000. Consumption of arbuscular mycorrhizal fungi by terrestrial and arboreal small mammals in a Panamanian cloud forest. Journal of Mammalogy. 81(2), 563-570.
120. Martín-Rodríguez, S., Fenster, C. B. 2008. Pollination Ecology and Breeding Systems of Five Gesneria Species from Puerto Rico. Annals of Botany. 102(1), 23–30.
121. Martinez Del Rio, C. 1994. Nutritional ecology of fruit-eating and flower visiting birds and bats. In: Chivers, D. J., Langers, P. (Eds.), The digestive system in mammals: Food, form and function. Cambridge, Cambridge University Press, pp. 103-127.

122. Martínez-Meléndez, N., Martínez-Camilo, R., Pérez Farrera, M. A., Martínez Meléndez, J. 2011. Las epífitas de la Reserva El Triunfo, Chiapas: Guía ilustrada de las especies más notables. Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas.
123. Matallana, G., Godinho, M. A. S., Guilherme, F. A. G., Belisario, M., Coser, T. S., Wendt, T. 2010. Breeding systems of Bromeliaceae species: evolution of selfing in the context of sympatric occurrence. *Plant systematics and evolution*. 289(1-2), 57-65.
124. Mayfield, M. M., Waser, N. M., Price, M. V. 2001. Exploring the “most effective pollinator principle” with complex flowers: bumblebees and *Ipomopsis aggregata*. *Annals of Botany*. 88(4), 591-596.
125. Medellín, R. A., Arita, H. T., Sánchez, O. 2008. Identificación de los murciélagos de México, clave de campo. Segunda edición. Instituto de Ecología, UNAM, México D.F.
126. Mehlreter, K., Flores-Palacios, A., García-Franco, J. G. 2005. Host preferences of low-trunk vascular epiphytes in a cloud forest of Veracruz, Mexico. *Journal of Tropical Ecology*. 21(6), 651–660.
127. Meyer, C. F. J., Aguiar, L. M. S., Aguirre, L. F., Baumgarten, J., Clarke, F. M., Cosson, J. F., Estrada-Villegas, S., Fahr, J., Faria, D., Furey, N., Henry, M., Hodgkison, R., Jenkins, R. K. B., Jung, K. G., Kingston, T., Kunz, T. H., MacSwiney, G., M. C. Moya, I., Patterson, B. D., Pons, J. M., Racey, P. A., Rex, K., Sampaio, E. M., Solari, S., Stoner, K. E., Voigt, C. C., Von Staden, D., Weise, C. D., Elisabeth, K. V. Kalko. 2011. Accounting for detectability improves estimates of species richness in tropical bat surveys. *Journal of Applied Ecology*. 48(3), 777-787.
128. Miyake, T., Yahara, T. 1998. Why does the flower of *Lonicera japonica* open at dusk? *Canadian Journal of Botany*. 76(10), 1806-1811.
129. Montalvo, A. M., Ackerman, J. D. 1986. Relative pollinator effectiveness and evolution of floral traits in *Spathiphyllum friedrichsthali* (Araceae). *American Journal of Botany*. 73(12), 1665-1676.
130. Muchhala, N. 2003. Exploring the boundary between pollination syndromes: bats and hummingbirds as pollinators of *Burmeistera cyclostigma* and *B. tenuiflora* (Campanulaceae). *Oecologia*. 134(3), 373-380.

131. Muchhala, N. 2006b. The pollination biology of *Burmeistera* (Campanulaceae): specialization and syndromes. *American Journal of Botany*. 93(8), 1081-1089.
132. Muchhala, N. 2007. Adaptive Trade-Off in Floral Morphology Mediates Specialization for Flowers Pollinated by Bats and Hummingbirds. *The American Naturalist*. 169(4), 494-504.
133. Muchhala, N., Jarrín-V., P. 2002. Flower visitation by bats in cloud forests of Western Ecuador. *Biotropica*. 34(3), 387-395.
134. Muchhala, N., Thomson, J. D. 2010. Fur versus feathers: Pollen delivery by bats and hummingbirds and consequences for pollen production. *The American Naturalist*. 175(6), 717-726.
135. Muñoz-Villers, L. E., López-Blanco, J., 2008. Land use/cover changes using Landsat TM/ETM images in a tropical and biodiverse mountainous area of central-eastern Mexico. *International Journal of Remote Sensing*. 29(1), 71-93.
136. Murcia, C. 2002. Ecología de la polinización. In: Guariguata, Kattan (Eds.), *Ecología y conservación de bosques neotropicales*. LUR. Costa Rica, pp. 493-530.
137. Nara, A. K., Webber, A. C. 2002. Biología floral e polinização de *Aechmea beeriana* (Bromeliaceae) em vegetação de baixio na Amazônia Central. *Acta Amazonica*. 32(4), 571-588.
138. Nicolson, S. W., Fleming, P. A. 2003. Nectar as food for birds: the physiological consequences of drinking dilute sugar solutions. *Plant Systematics and Evolution*. 238(1-4), 139-153.
139. Nicolson, S. W., Thornburg R. W. 2007. Nectar chemistry. In: Nicolson, S. W., Nepi, M., Pacini, E. (Eds.), *Nectaries and Nectar*. Springer, pp. 215-263.
140. Nieder, J., Prosperi, J., Michaloud, G. 2001. Epiphytes and their contribution to canopy diversity. *Plant Ecology*. 153(1-2), 51-63.
141. Ohashi, K., Thomson, J. D. 2005. Efficient harvesting of renewing resources. *Behavioral Ecology*. 16(3), 592-605.
142. Olsen, J., Jordano, P. 2002. Geographic patterns in plant-pollinator mutualistic networks. *Ecology*. 83(9), 2416-2424.

143. Opler, P. A., Baker, H. G., Frankie, G. W. 1980. Plant reproductive characteristics during secondary succession in Neotropical lowland forest ecosystems. *Biotropica*. 12(Suppl. 1), 40-46.
144. Ordano, M., Ornelas, J. F. 2004. Generous like flowers: nectar production in two epiphytic bromeliads and a meta-analysis of removal effects. *Oecologia*. 140(3), 495-505.
145. Ortega, J. R., Alarcón, D. I. 2008. *Anoura geoffroyi* (Chiroptera: Phyllostomidae). *Mammalian species*. 818, 1-7.
146. Ortega, J. R., Arita, T. H. 1999. Structure and social dynamics of harem groups in *Artibeus jamaicensis* (Chiroptera: Phyllostomidae). *Journal of Mammalogy*. 80(1), 117-1185.
147. Ortega-Baes, P., Saravia, M., Sühning, S., Godínez-Álvarez, H. Zamar, M. 2011. Reproductive biology of *Echinopsis terscheckii* (Cactaceae): the role of nocturnal and diurnal pollinators. *Plant Biology*. 13 (Suppl. 1), 33-40.
148. Perfectti, F., Gómez, J. M., Bosch, J. 2009. The functional consequences of diversity in plant-pollinator interactions. *Oikos*. 118(9), 1430-1440.
149. Perret, M., Chautems, A., Spichiger, R., Peixoto, M., Savolainen, V. 2001. Nectar sugar composition in relation to pollination syndromes in Sinningieae (Gesneriaceae). *Annals of Botany*. 87(2), 267-273.
150. Pettersson, M. W. 1991. Pollination by guild of fluctuating moth populations: options for unspecialization in *Silene vulgaris*. *Journal of Ecology*. 79(3), 591-604.
151. Porsch, O. 1932. Das Problem Fledermausblume. *Anzeiger der Akademie der WissenschaftWien, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Klasse*. 69, 27-28.
152. Quesada, M., Rosas, F., Herrerias-Diego, Y., Aguilar, R., Lobo, J., Sánchez-Montoya, G. 2009. Evolutionary Ecology of Pollination and Reproduction of Tropical Plants. In: *Encyclopedia of Life support systems (EOLSS)*. International Commission on Tropical biology and Natural resources. UNESCO. Eolss Publishers, Oxford, UK, pp. 1-19.
153. Quesada, M., Stoner, K. E., Rosas-Guerrero, V., Palacios-Guevara, C., Lobo, J. A. 2003. Effects of habitat disruption on the activity of nectarivorous bats (Chiroptera: Phyllostomidae) in a dry tropical forest: implications for the reproductive success of the neotropical tree *Ceiba grandiflora*. *Oecologia*. 135(3), 400-406.

154. Racey, P. A. 2009. Reproductive assessment of bats. In: Kunz, T. H., Parsons, S. (Eds.), Ecological and behavioral methods for the study of bats. The Johns Hopkins University Press, pp. 249-264.
155. Ramírez, N., Sobrevila, C., Deenrech, N. X., Ruiz-zapata, T. 1984. Floral biology and breeding system of *Bauhinia enthamiana* (Leguminosae), a bat-pollinated tree in Venezuelan llanos. American Journal of Botany. 71(2), 273–280.
156. Ratnayake, R. M. C. S., Gunatilleke, I. A. U. N., Wijesundara, D. S. A., Saunders, R. M. K. 2006. Reproductive biology of two sympatric species of *Polyalthia* (Annonaceae) in Sri Lanka. I. Pollination by curculionid beetles. International Journal of Plant Sciences. 167(3), 483-493.
157. Reid, F., 2009. A Field Guide to the Mammals of Central America and Southeast Mexico. Oxford University Press, USA.
158. Rey, P. J., Garrido, J. L., Alcántara, J. M., Ramírez, J. M., Aguilera, A., Farcía, L., Manzaneda, A. J., Fernández, R. 2002. Spatial variation in ant and rodent post-dispersal predation of vertebrate-dispersed seeds. Functional Ecology. 16(6), 773-781.
159. Richards, C. G. J., White, A. C., Hurrell, E., Price, F. E. F. 1984. The food of the common dormouse, *Muscardinus avellanarius*, in South Devon. Mammal Review. 14(1), 19-28.
160. Richardson, B. A. 1999. The bromeliad microcosm and the assessment of fauna diversity in a Neotropical forest. Biotropica. 31(2), 321-336.
161. Richardson, K. C., Wooller, R. D., Collins, B. G. 1986. Adaptations to a diet of nectar and pollen in the marsupial *Tarsipes rostratus* (Marsupialia: Tarsipedidae). Journal of Zoology (London). 208(2), 285–297.
162. Roulston, T. H., Cane, J. H. 2000. Pollen nutritional content and digestibility for animals. Plant Systematics and Evolution. 222(1-4), 187-209.
163. Rourke, J. P., Wiens, D. 1977. Convergent floral evolution in South African and Australian Proteaceae and its possible bearing on pollination by nonflying mammals. Annals of the Missouri Botanical Garden. 64, 1–17.
164. Rzedowski, J. 1978. La vegetación de México. Limusa. México.

165. Rzedowski, J. 1993. Diversity and origins of the fanerogamic flora of Mexico. In: Ramamoorthy, T. P., Bye, R., Lot, A., Fa, J. (Eds.), Biological diversity of Mexico: Origins and distribution. Oxford University Press, Nueva York, pp. 139-144.
166. Rzedowski, J. 1996. Análisis preliminar de la flora vascular de los bosques mesófilos de montaña de México. Acta Botánica Mexicana. 35, 25-44.
167. Rzedowski, J., 2006. Vegetación de México. Primera Edición digital, CONABIO. México.
168. Sahali, H. F., Conner, J. K. 2007. Visitation, effectiveness, and efficiency of 15 genera of visitors to wild radish *Raphanus raphanistrum* (Brassicaceae). 94(2), 203-209.
169. Sahley, C. T. 1996. Bat and hummingbird pollination of an autotetraploid columnar cactus, *Weberbauerocereus weberbaueri* (Cactaceae). American Journal of Botany. 83(10), 1329–1336.
170. Sahley, C. T. 2001. Vertebrate pollination, fruit production, and pollen dispersal of *Stenocereus thurberi* (Cactaceae). The Southwestern Naturalist. 46(3), 261-271.
171. Salas, D. 1973. Una Bromeliácea costarricense polinizada por murciélagos. Brenesia. 2, 5-10.
172. Saleh, N., Chittka, L. 2007. Traplining in bumblebees (*Bombus impatiens*): a foraging strategy's ontogeny and the importance of spatial reference memory in short-range foraging. Oecologia. 151(4), 719–730.
173. San Martín-Gajardo, I., Sazima, M. 2005. Chiropterophily in Sinningieae (Gesneriaceae): *Sinningia brasiliensis* and *Paliavana prasinata* are bat-pollinated, but *P. sericiflora* is not. Not yet? Annals of Botany. 95(7), 1097–1103.
174. Sazima, I., Buzato, S., Sazima, M. 1996. An assemblage of hummingbird-pollinated flowers in a montane forest in southeastern Brazil. Botanica Acta. 109(2), 149-160.
175. Sazima, I., Vogel, S., Sazima, M. 1989. Bat pollination of *Encholirium glaziovii*, a terrestrial bromeliad. Plant Systematics and Evolution. 168(3-4), 167–179.
176. Sazima, M., Sazima, I., Buzato, S., 1994. Nectar by day and night: *Siphocampylus sulfureus* (Lobeliaceae) pollinated by hummingbirds and bats. Plant Systematics and Evolution. 191(3-4), 237–246.
177. Sazima, M., Buzato, S., Sazima, I., 1995. Bat pollination of *Vriesea* in southeastern Brazil. Bromelia. 2(4), 29-37.

178. Sazima, M., Buzato, S., Sazima, I., 1999. Bat-pollinated Flower Assemblage and Bat Visitors at Two Atlantic Forest Sites in Brazil. *Annals of Botany*. 83(6), 705-712.
179. Sazima, M., Sazima, I. 1988. *Helicteres ovata* (Sterculiaceae), pollinated by bats in southeastern Brazil. *Botanica Acta*. 101(3), 269– 271.
180. Schmid, S., Schmid, V. S., Zillikens, A., Harter-Marques, B., Steiner, J. 2011a. Bimodal pollination system of the bromeliad *Aechmea nudicaulis* involving hummingbirds and bees. *Plant Biology*. 13(1), 41-50.
181. Schmid, S., Schmid, V. S., Zillikens, A., Steiner, J. 2011b. Diversity of flower visitors and their role for pollination in the ornithophilous bromeliad *Vriesea friburgensis* in two different habitats in southern Brazil. *Ecotropica*. 17(1), 91-102.
182. Schnitzler, H. U., Kalko, E. K. V. 1998. How echolocation bats search and find food. In: Kunz, T. H., Racey, P. A. (Eds.), *Bat Biology and Conservation*. Smithsonian Institution Press, Washington, D. C, pp. 183-196.
183. Schnurr, J. L., Canham, C. D., Ostfeld, R. S., Iouye, R. S. 2004. Neighborhood analyses of small-mammal dynamics: impacts on seed predation and seedling establishment. *Ecology*. 85(3), 741-755.
184. Schondube, J. E., Martínez-del-Río, C. 2003. Concentration-dependent sugar preferences in nectar-feeding birds: mechanisms and consequences. *Functional Ecology*. 17(4), 445-453.
185. SEMARNAT. 2010. Norma Oficial Mexicana NOM-59-ECOL-2010. Protección ambiental. Especies nativas de México de flora y fauna silvestres. Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio. Lista de especies en riesgo. Diario Oficial de la Federación. Segunda sección. Jueves 30 de diciembre de 2010. pp. 1-78.
186. Simmons, N. B. 2005. Order Chiroptera. In: Wilson, D. E., Reeder, D. M. (Eds.), *Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference*. Johns Hopkins University Press, 3rd edition, pp. 312-529.
187. Slak, N. G. 1976. Host specificity of *Bryophytic epiphytes* in eastern North America. *Journal of the Hattori Botanical Laboratory*. 41, 107-132.
188. Slauson, L. A. 2000. Pollination biology of two chiropterophilous agaves in Arizona. *American Journal of Botany*. 87(6), 825-836.

189. Sosa, V. J., Hernández-Salazar, E., Hernández-Conrique, D., Castro-Luna, A. A. 2008. Murciélagos. In: Manson, R. H., Hernández-Ortíz, V., Gallina, S., Mehltreter, K. (Eds.), Agroecosistemas cafetaleros de Veracruz biodiversidad, manejo y conservación. Instituto de Ecología A. C. INECOL INE-SEMARNAT. México, pp. 181-192.
190. Stahl, J. M., Nepi, M., Galetto, L., Guimarães, E., Rodrigues, M. S. 2012. Functional aspects of floral nectar secretion of *Ananas ananassoides*, an ornithophilous bromeliad from the Brazilian savanna. *Annals of Botany* 109(7), 1243–1252.
191. Stanley, R. G., Linskens, H. F. 1974. Pollen: Biology, biochemistry and management. Berlin, Springer.
192. Stebbins, G. L. 1970. Adaptative radiation of reproductive characteristics in angiosperms I: Pollination mechanisms. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 1, 307-326.
193. Stefano, M., Papini, A., Brighigna, L. 2007. A new quantitative classification of ecological types in the bromeliad genus *Tillandsia* (Bromeliaceae) based on trichomes. *Revista de Biología Tropical (International Journal of Tropical Biology and Conservation ISSN-0034-7744)*. 56(1), 191-203.
194. Stiles, F. G. 1975. Ecology, flowering phenology and hummingbird pollination of some Costa Rican *Heliconia* species. *Ecology*. 56(2), 285-301.
195. Théry, M., Stevens, A. D., Hoppe, J. R., Charles-Dominique, P., Schuchmann, K. L. 1998. Angiosperm pollination and seed dispersal, a review. *Ecotropica*. 4(1), 69–92.
196. Thompson, J. N. 1994. The coevolutionary process. University of Chicago Press. Chicago, Illinois, USA.
197. Ticktin, T. 2004. Review: The ecological implications of harvesting non-timber forest products. *Journal of Applied Ecology*. 41(1), 11-21.
198. Till, W. 1992. Systematics and evolution of the tropical–subtropical *Tillandsia* subgenus *diaphoranthema* (Bromeliaceae). *Selbyana*. 13, 88–94.
199. Toledo-Aceves, T., Meave, J. A., González-Espinosa, M., Ramírez- Marcial, N. 2011. Tropical montane cloud forests: current threats and opportunities for their conservation and sustainable management in Mexico. *Journal of Environmental Management*. 92(3), 974-81.

200. Tsahar, E., Arad, Z., Izhaki, I., Martínez-del-Río, C. 2006. Do nectar- and fruit-eating birds have lower nitrogen requirements than omnivores? An allometric test. *The Auk*. 123(4), 1004-1012.
201. Tsahar, E., Martínez-del-Río, C., Arad, Z., Jeannine, P. J., Izhaki, I. 2005. Are the low protein requirements of nectarivorous birds the consequence of their sugary and watery diet? A test with an omnivore. *Physiological and Biochemical Zoology*. 78(2), 239-245.
202. Tschapka, M., Dressler, S. 2002. Chiropterophily: on bat-flowers and flower bats. *Curtis Botanical Magazine (Series 6)*. 19(2), 114-125.
203. Tschapka, M., Von Helversen, O. 2007. Phenology, nectar production and visitation behaviour of bats on the flowers of the bromeliad *Werauhia gladioliflora* in Costa Rican lowland rain forest. *Journal of Tropical Ecology*. 23(4), 385-395.
204. Van Dulmen, A. 2001. Pollination and phenology of flowers in the canopy of two contrasting rain forest types in Amazonia, Colombia. *Plant Ecology*. 153(1-2), 73-85.
205. Van Tets, I. G. 1997. Extraction of nutrients from *Protea* pollen by African rodents. *Belgian Journal of Zoology*. 127(Suppl.), 59-65.
206. Van Tets, I. G., Hulbert, A. J. 1999. A comparison of the nitrogen requirements of the eastern pygmy possum, *Cercartetus nanus*, on a pollen and on a mealworm diet. *Physiological and Biochemical Zoology*. 72(2), 127-137.
207. Van Tets, I. G., Nicolson, S. W. 2000. Pollen and the nitrogen requirements of the lesser double-collared sunbird. *The Auk*. 117(3), 826-830.
208. Van Tets, I. G., Nicolson, S. W. 2001. Nutritional ecology of *Protea* pollination by rodents. In: Denys, C., Granjon, L., Poulet, A. (Eds.), *African small mammals. Colloques et Séminaires - Editions de l'IRD, Paris*, pp. 311-320.
209. Varadarajan, G. S., Brown, G. K. 1988. Morphological variation of some floral features of the subfamily Pitcairnioidae (Bromeliaceae) and their significance in pollination biology. *Botanical Gazette*. 149(1), 82-91.
210. Vázquez, D. P., Aizen, M. A. 2006. Community-wide Patterns of specialization in plant-Pollinator interactions revealed by null models. In: Waser, N. M., Ollerton, J. (Eds.), *Plant-Pollinator interactions. From Specialization to generalization*. The University of Chicago Press, Chicago & London, pp. 200-219.

211. Vázquez, D. P., Morris, W. F., Jordano, P. 2005. Interaction frequency as a surrogate for the total effect of animal mutualists on plants. *Ecology Letters*. 8(10), 1088-1094.
212. Viana, B. F., Boscolo, D., Neto, E. M., Lopes, L. E., Lopes, A. V., Ferreira, P. A., Pigozzo, M. C., Primo, M. L. 2012. How well do we understand landscape effects on pollinators and pollination services? *Journal of Pollination Ecology*. 7(5), 31-41.
213. Viera, M. F., Carvalho-Okano, R. M. 1996. Pollination biology of *Mabaea fistulifera* (Euphorbiaceae) in southeastern Brazil. *Biotropica*. 28(1), 61-68.
214. Villegas, A. C. 2001. Spatial and temporal variability in clonal reproduction of *Aechmea magdalenae*, a tropical understory herb. *Biotropica*. 33(1), 48-59.
215. Vogel, S. 1969. Chiropterophilie in der neotropischen Flora-Neue Mitteilungen III. *Flora*. 158, 289-323.
216. Von Helversen, O. 1993. Adaptations of flowers to the pollination by glossophagine bats. In: Barthlott, W., Naumann, C. M., Schmidt-Loske, K., Schuchmann, K. L. (Eds.), *Animal-Plant Interactions in tropical environments. Results of the Symposium of the German Society for Tropical Ecology held at Bonn, February 13-16, 1992*. Museum Koenig, Bonn, pp. 41-59.
217. Von Helversen, O., Winkler, L., Bestmann, H. J. 2000. Sulphur-containing 'perfumes' attract flower-visiting bats. *Journal of Comparative Physiology A*. 186(2), 143-153.
218. Von Helversen, O., Winter, Y. 2003. Glossophagine bats and their flowers: costs and benefits for plants and pollinators. In: Kunz, T. H., Fenton, M. B. (Eds.), *Bat Ecology*. The University of Chicago Press, pp. 346-397.
219. Waser, N. M. 1978. Competition for hummingbird pollination and sequential flowering in two Colorado wildflowers. *Ecology*. 59(5), 934-944.
220. Waser, N. M., Chittka, L., Price, M.V., Williams, N. M., Ollerton, J. 1996. Generalization in pollination systems, and why it matters. *Ecology*. 77(4), 1043-1060.
221. Waser, N. M., Price, M. F. 1990. Pollination efficiency and effectiveness of bumblebee and hummingbirds visiting *Delphinium nelsonii*. *Collectanea Botanica*. 19, 9-20.
222. Webb, C. J., Bawa, K. S. 1983. Pollen dispersal by hummingbirds and butterflies: a comparative study of two lowland tropical plants. *Evolution*. 37(6), 1258-1270.

223. Wendt, T., Ferreira, C. M. B., Gelli de Faria, A. P., Iglesias- Rios, R. 2001. Reproductive biology and natural hybridization between two endemic species of *Pitcairnia* (Bromeliaceae). *American Journal of Botany*. 88 (10), 1760-1767.
224. Wester, P., Stanway, R., Pauw, A. 2009. Mice pollinate the Pagoda Lily, *Whiteheadia bifolia* (Hyacinthaceae)-First field observations with photographic documentation of rodent pollination in South Africa. *South African Journal of Botany*. 75(4), 713-719.
225. Wiens, D., Rourke, J. P., Casper, B. B., Rickart, E. A., LaPine, T. R., Peterson, C. J., Channing, A. 1983. Nonflying mammal pollination of southern African *Proteas*. *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 70(1), 1-31.
226. Williams-Linera, G. 1993. Bordes de bosque nublado en el parque ecológico Clavijero, Xalapa, Veracruz, México. *Revista de Biología Tropical*. 41(1), 107-117.
227. Williams-Linera, G. 1997. Phenology of deciduous and broadleaved-evergreen tree species in a Mexican tropical montane cloud forest. *Global Ecological and Biogeography Letters*. 6(2), 115-127.
228. Williams-Linera, G. 2002. Tree species richness complementarity, disturbance and fragmentation in a Mexican tropical montane cloud forest. *Biodiversity and Conservation*. 11(10), 1825–1843.
229. Williams-Linera, G. 2007. El bosque de niebla del centro de Veracruz: Ecología, historia y destino en tiempos de fragmentación y cambio climático. INECOL-CONABIO, Xalapa, Ver.
230. Williams-Linera, G., Manson, R. H., Vera, E. I. 2002. La fragmentación del Bosque Mesófilo de montaña y patrones de uso del suelo en la región oeste de Xalapa, Veracruz, México. *Madera y Bosques*. 8(1), 73-89.
231. Wilmer, P. 2011. *Pollination and floral ecology*. Princeton University Press, Princeton & Oxford.
232. Winkler, M., Hülber, K., Mehlreter, K., García-Franco, J., Hietz, P. 2005. Herbivory in epiphytic bromeliads, orchids and ferns in a Mexican montane forest. *Journal of Tropical Ecology*. 21(2), 147-154.
233. Wittman, P. K. 2000. The animal community associated with Canopy bromeliads of the lowland Peruvian amazon rain forest. *Selyana*. 21(1-2), 48-51.

234. Wolff, D. 2006. Nectar sugar composition and volume of 47 species of Gentianales from a southern ecuadorian montane forest. *Annals of Botany*. 97(5), 767-777.
235. Young, A., Boyle, T., Brown, T. 1996. The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. *Trends in Ecology and Evolution*. 11(10), 413-418.
236. Young, H. J. 2002. Diurnal and nocturnal pollination of *Silene alba* (Caryophyllaceae). *American Journal of Botany*. 89(3), 433,440.
237. Zamora, P., Castillo-Campos, G. 1997. *Vegetación y flora del municipio de Tlalnelhuayocan, Veracruz*. Universidad Veracruzana, Xalapa, México.
238. Zamora, R. 2000. Functional equivalence in plant-animal interactions: ecological and evolutionary consequences. *Oikos*. 88(2), 442-447.
239. Zanella, M. C., Janke, A., Palma-Silva, C., Kaltchuk-Santos, E., Pinheiro, F. G., Paggi, G. M., Soares, L. E. S., Goetze, M., Büttow, M. V., Bered, F. 2012. Genetics, evolution and conservation of Bromeliaceae. *Genetics and molecular Biology*. 35(4 suppl.), 1020-1026.
240. Zapata, T. R., Arroyo, M. T. K. 1978. Plant reproductive ecology of a secondary deciduous tropical forest in Venezuela. *Biotropica*. 10(3), 221-230.

CURRICULUM VITAE

CURRICULUM VITAE

Pedro Adrián Aguilar Rodríguez (15 de enero de 1988) cursó sus estudios profesionales en la Facultad de Biología de la Universidad Veracruzana, campus Xalapa, de agosto de 2006 a julio de 2010. Ese mismo año ingresó al programa de Maestría en Ecología Tropical, periodo 2010-2012, en el Centro de Investigaciones Tropicales de la Universidad Veracruzana. En la actualidad ha concluido este programa.

Él también ha tomado cursos sobre el estudio de fauna, particularmente de murciélagos y de ecología floral y polinización. También ha participado en el XI Congreso Nacional de Mastozoología con una ponencia sobre la polinización de bromelias por murciélagos. También ha colaborado en la Exposición Profesiográfica de la Universidad Veracruzana, en la celebración del XXXVIII Día Mundial del Medio Ambiente, en la XIII Feria de Aves y Humedales, y participó en el Primer Foro de Intercambio de Experiencia Estudiantil del proyecto US-México TIES Partnership Program.

Ha dado pláticas a estudiantes de la Universidad Veracruzana y de educación básica (Kínder, Primaria y Secundaria) sobre el medio ambiente, ecología de polinización, animales en peligro y ecosistemas costeros. También ha sido capacitador de la Jornada Académica del Diplomado de Desarrollo de Competencias para la Docencia en la Escuela Primaria, de la Universidad Pedagógica Veracruzana. También ha publicado dos artículos de divulgación sobre bromelias y murciélagos.