

**BIOLOGÍA FLORAL DE *Pitcairnia nubigena* (BROMELIACEAE)
EN UNA SELVA NUBLADA ANDINA: I. MORFOLOGÍA,
FENOFASES Y AUTOCOMPATIBILIDAD**

**FLORAL BIOLOGY OF *Pitcairnia nubigena* (BROMELIACEAE)
IN AN ANDEAN CLOUD FOREST: I. MORPHOLOGY,
PHENOPHASES AND AUTOCOMPATIBILITY**

Roxiris A. Azuaje R. y ¹*María Elena Naranjo

*¹Laboratorio de Ecología Animal A, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias,
Universidad de Los Andes, Mérida 5101, Venezuela.*

**E-mail: mnaranjo@ula.ve. Fax: 0274 2401290.*

RESUMEN

La polinización cruzada conforma un mecanismo reproductivo en las plantas que incrementa la variabilidad genética de la progenie, aunque mantener la posibilidad de autopolinización podría garantizar la producción de semillas si aquella no ocurre. En este trabajo describimos la morfología y fenofases florales y evaluamos la ornitofilia y la autocompatibilidad en una población de *Pitcairnia nubigena* de la selva nublada en los Andes venezolanos. El perianto alcanzó longitud máxima de 64,5±8,3 mm, mínima de 63,0±3,3 mm, con una abertura lateral que inició a 26,2±5,7 mm desde la base de la flor y distancia antera-estigma de 2,4±2,0 mm. Las flores se desarrollaron en 4 fenofases, desde botones (1 y 2), flores en preantesis (3), hasta flores en antesis (4). El tiempo de antesis fue de 1,5±0,5 días y el tiempo de maduración en las inflorescencias fue de 87 días. La maduración de anteras y estigma fue sincrónica desde la fenofase 3. El 19,4% de las flores fueron fecundadas por autopolinización autónoma y el 7,1% por autopolinización asistida. Los rasgos ornitófilos de *P. nubigena* atrajeron varias especies de aves nectarívoras, potenciales polinizadoras y robadoras. *P. nubigena* es una especie hercogámica autocompatible que emplea tanto mecanismos de polinización cruzada como autopolinización como formas de reproducción sexual.

Palabras clave: Andes, fenofases florales, ornitofilia, polinización, Venezuela

ABSTRACT

Cross-pollination is a reproductive mechanism which increases the progeny's genetic variability, even though self-pollination enables seed production when the former does not occur. In this paper, floral morphology and phenophases are described and ornithophily and self-compatibility evaluated in a *Pitcairnia nubigena* population in a cloud forest of the Venezuelan Andes. The perianth reached maximum and minimum lengths of 64.5±8.3 and 63.0±3.3 mm, respectively, with a lateral opening of 26.2±5.7 mm from the flower's base and an anther-stigma distance of 2.4±2.0 mm. Flowers developed in four phenophases, from flower buds (1 and 2), preanthesis flowers (3), up to anthesis flowers (4). Anthesis duration was 1.5±0.5 days, while inflorescence maturation time was 87 days. Anther and stigma maturation were synchronous starting at phenophase 3. In all, 19.4% of the flowers were fertilized by autonomous self-pollination and 7.1% by assisted self-pollination. Ornithophilic traits of *P. nubigena* attracted several species of nectarivorous birds, potential pollinators as well as nectar robbers. *P. nubigena* is a herkogamic self-compatible species that uses both cross pollination mechanisms as well as autopolinination as means of sexual reproduction.

Key words: Andes, floral phenophases, ornithophily, pollination, Venezuela

INTRODUCCIÓN

Las plantas han desarrollado una serie de caracteres florales que, en conjunto, se conocen como síndromes de polinización, los cuales permiten atraer a polinizadores particulares (Pellmyr 2002, Ortega-Olivencia *et al.* 2005). Los polinizadores vertebrados más abundantes son las aves (Ford 1985, Seres y Ramírez 1995) y los caracteres florales comúnmente asociados a ellas corresponden a los colores rojos y brillantes (incluyendo al naranja, amarillo y blanco), ausencia de coloraciones de guía hacia el nectario (Arizmendi 2001, Pellmyr 2002, Altshuler 2003, Ortega-Olivencia *et al.* 2005, Valois-Cuesta y Novoa-Sheppard 2006, Cronk y Ojeda 2008, Betancourt 2009), forma tubular de la flor, ausencia de aromas y un tamaño del perianto que puede coincidir con la morfología del pico de las potenciales aves polinizadoras (Seres y Ramírez 1995, Pellmyr 2002, Cronk y Ojeda 2008). Estas flores son frecuentemente colgantes u horizontales, lo que permite que las aves puedan percharse, si bien algunos colibríes y familias de Passeriformes permanecen volando alrededor de las flores, sin necesitar perchas (Cronk y Ojeda 2008).

La polinización mediada por vectores animales permite incrementar la capacidad en el transporte de polen y promover la polinización cruzada (Pellmyr 2002). En adición, las plantas también han desarrollado mecanismos que controlan las tasas de autopolinización y que evitan la endogamia que puede llegar a disminuir notablemente su adecuación biológica o “*fitness*” (Pellmyr 2002). Estos mecanismos pueden ser de tipo temporal con asincronía en la maduración de las estructuras reproductivas de las flores (dicogamia), de tipo morfológico con la separación espacial entre las estructuras reproductivas de la flor (hercogamia) o de tipo fisiológico de reconocimiento químico que inhibe la fecundación (Pellmyr 2002).

Sin embargo, la autopolinización en especies hermafroditas autocompatibles garantiza la producción de semillas cuando no se logra la polinización cruzada (Lloyd y Schoen 1992, Pellmyr 2002, Charlesworth 2006), a través de mecanismos como cleistogamia, geitonogamia, autopolinización autónoma, autopolinización facilitada y autopolinización retardada (Lloyd y Schoen 1992). Algunos de ellos han sido probados en Bromeliaceae, particularmente en

Pitcairnia flammea, *P. albiflos*, *P. corcovadensis*, *P. staminea* y *P. brittoniana*, especies que han resultado autocompatibles (Wendt *et al.* 2002, Matallana *et al.* 2010).

El género *Pitcairnia* es uno de los más ricos en la Familia Bromeliaceae (Holst 1994), con cerca de 336 especies distribuidas en el Neotrópico y 41 especies en Venezuela (Hornung 2006, Hornung y Gaviria 2013). *Pitcairnia nubigena* Planch. & Linden es una especie de hábitos terrestres, endémica de la Cordillera de los Andes venezolanos, que se distribuye en los estados Mérida y Trujillo en una franja altitudinal de 1800 a 4000 msnm, ocupando selvas nubladas, subpáramos y páramos (Oliva-Esteva y Steyermark 1987, Hornung 1998, Hornung y Gaviria 2013, Morillo *et al.* 2009). Hornung (1998) y Hornung y Gaviria (1999, 2013) describen su inflorescencia como terminal, erecta, simple, de tipo racimo y sus flores como polísticas, con pedicelos que doblan el tamaño de las brácteas, sépalos rojo anaranjados, alados, quillados y soldados en la base, pétalos rojos, libres y oblongos, enteros con un sólo ápice y márgenes dentados. Cada flor incluye 6 estambres con dos verticilos no diferenciados, ovario súpero, estilos largos y delgados igualando a los estambres y anteras con dehiscencia lateral. De acuerdo con esta descripción, pareciera no existir hercogamia en las flores de *P. nubigena*, lo cual sería importante determinar en el contexto de las estrategias reproductivas de esta especie.

En este trabajo describimos la morfología floral y las fenofases florales y evaluamos la ornitofilia y la autocompatibilidad en una población de *Pitcairnia nubigena* de la selva nublada en los Andes venezolanos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

Este estudio fue realizado en la Estancia La Bravera, localizada a 10 km SE de La Azulita, en el Municipio Campo Elías, Estado Mérida, Venezuela (coordenadas 8°38'29"N y 71°23'00" W), a 2357 msnm, lo que corresponde a la unidad ecológica selva nublada montana alta (Ataroff y Sarmiento 2003).

La precipitación promedio anual en localidades de selva nublada dentro de esta cuenca alcanzan 1463mm en un patrón bimodal con dos picos máximos de precipitación durante los meses de

abril, mayo y septiembre y con una temperatura promedio mensual de 12,6 °C (Engwald 1999). La selva ubicada en La Bravera ha sufrido la extracción de especies maderables y ha estado sujeta al enriquecimiento con especies autóctonas ornamentales, entre las que destaca *Pitcairnia nubigena*. En esta localidad, se han registrado 121 especies de plantas vasculares pertenecientes a 71 géneros en 41 Familias, entre las que destacan Podocarpaceae, Sapindaceae, Lauraceae, Melastomataceae, Myrtaceae, Piperaceae, Orchidaceae y Rubiaceae (Ely *et al.* 2012). En localidades cercanas a La Bravera con vegetación propia de selva nublada sin intervención, como la selva nublada de La Carbonera (San Eusebio), se ha registrado la presencia de *P. nubigena* como componente del sotobosque (Engwald *et al.* 2000). La Estancia cuenta con bebederos artificiales para colibríes que diariamente son recargados con una solución azucarada que atrae una gran cantidad y variedad de especies de Trochilidae. Rengifo *et al.* (2005) reportaron 18 especies de colibríes

(Familia Trochilidae) para la porción de selva nublada en la localidad de La Azulita, mientras que Bastidas (2012) encontró 10 especies de Trochilidae asociados a *Psammisia hookeriana* (Rubiaceae) en la Estancia.

Métodos

Morfología floral

Colectamos 61 flores en antesis de *P. nubigena* ubicadas en el ápice, medio y base del escapo de las inflorescencias y medimos 10 variables morfológicas con un vernier analógico marca Helios® (0,05 mm de precisión): longitud máxima del perianto, longitud mínima del perianto, diámetro basal del perianto, diámetro apical del perianto, profundidad del perianto medida desde la base hasta la abertura por la cara interna de la flor, distancia base–abertura del perianto, longitud del estilo, longitud de las anteras, longitud de los filamentos y distancia antera–estigma medida desde el ápice de la antera hasta el ápice del estigma (Figura 1).

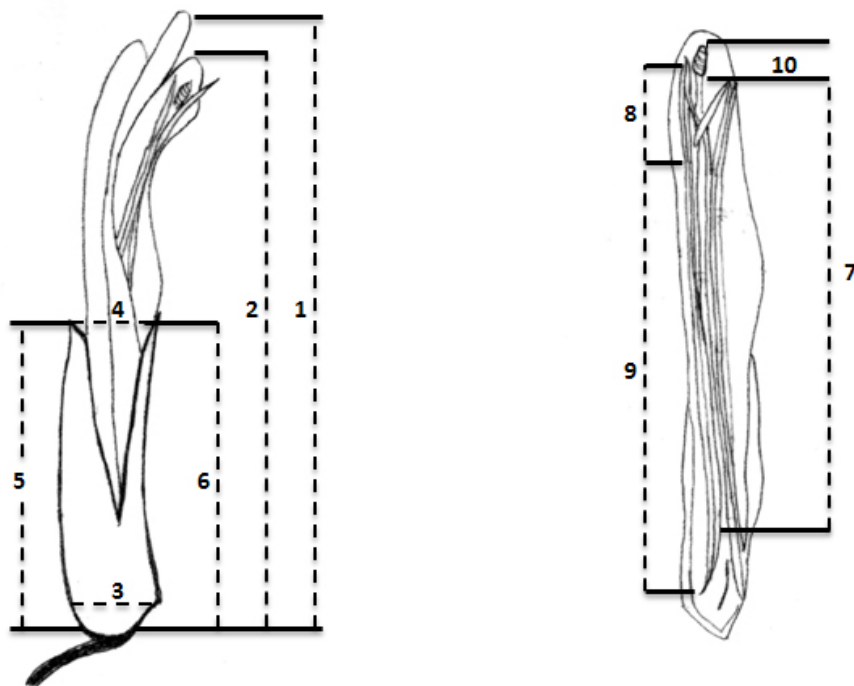


Figura 1. Variables morfológicas medidas en las flores de *Pitcairnia nubigena*: 1- longitud máxima del perianto, 2- longitud mínima del perianto, 3- diámetro basal del perianto, 4- diámetro apical del perianto, 5- profundidad del perianto medida desde la base hasta la abertura por la cara interna de la flor, 6- distancia base–abertura del perianto, 7- longitud del estilo, 8- longitud de las anteras, 9- longitud de los filamentos y 10- distancia antera–estigma, medida desde el ápice de la antera hasta el ápice del estigma.

Para determinar si existían diferencias en el tamaño de las flores con respecto a su ubicación en el escapo, empleamos las variables longitud máxima del perianto (transformada con la función logarítmica), diámetro basal y apical del perianto, profundidad y distancia base-abertura, evaluamos la normalidad con el test Shapiro-Wilk, la homocedasticidad de las varianzas con el test de Levene y aplicamos un MANOVA con la prueba post hoc de la diferencia mínima significativa, DMS (Zar 1999, SPSS 1993).

Fenofases de botón a flor

Caracterizamos los cambios fenológicos o fenofases que atraviesan los botones florales a lo largo de su maduración considerando cambios en el tamaño y color del perianto, forma de los sépalos, despliegue y visibilidad de pétalos, características que reflejan el desarrollo de los botones, aun cuando no comprueben específicamente la diferenciación de las estructuras reproductivas durante este proceso. Para ello seleccionamos 23 inflorescencias inmaduras y marcamos en cada una de 2 a 6 botones florales alternando las porciones basal, media y apical del escapo, lo que resultó en un total de 150 botones. Cada semana hasta la antesis floral, medimos la longitud, diámetro apical y diámetro basal del perianto de los botones marcados, registramos los cambios en su forma y color y verificamos la secuencia en la que ocurrió su maduración dentro de las inflorescencias. Calculamos el tamaño promedio mínimo para cada fenofase, considerando los datos de aquellos botones en lo que se observó en campo el cambio desde la fenofase anterior a la actual.

Seleccionamos 48 flores en pre-antesis, reconocidas por presentar sépalos semi-abiertos y pétalos sobresalientes sin desplegar. Excluimos 18 de ellas de los visitantes florales usando mallas de tul con orificios de 0,14 mm de diámetro, un tamaño suficiente como para evitar el ingreso del pico de las aves y de algunos insectos. En ambos tratamientos, flores expuestas y excluidas, registramos la duración de la antesis y aplicamos una prueba de U de Mann-Whitney (Zar 1999, SPSS 1993) con el objeto de evaluar si la ausencia de visitantes florales prolonga el tiempo de apertura de las flores.

Pruebas de compatibilidad en *P. nubigena*

Determinación de la madurez de las estructuras reproductivas: Colectamos 49 botones florales y 61 flores en antesis para observar la madurez de las

estructuras reproductivas. Sumergimos los estigmas frescos en una gota de peróxido de hidrógeno al 3% durante 3 minutos (Kearns e Inouye 1993, Ramos *et al.* 2008) y consideramos que la presencia de burbujas indicaba la receptividad estigmática por la reacción del peróxido de hidrógeno con las enzimas peroxidasa presentes en la superficie del estigma (Kearns e Inouye 1993). Consideramos como anteras maduras aquellas que presentaban evidencia de dehiscencia y coloración amarillo claro.

Autopolinización autónoma: Seleccionamos 36 flores en pre-antesis provenientes de diferentes inflorescencias, las excluimos empleando tela de tul y verificamos la producción de frutos.

Autopolinización asistida: Luego de probar que las flores en pre-antesis presentan anteras dehiscentes y estigmas receptivos, excluimos 28 flores en pre-antesis ubicadas en diferentes inflorescencias y ejecutamos la polinización manual aplicando su polen sobre el estigma con un pincel fino (Kearns e Inouye, 1993), repitiendo este procedimiento 2 a 3 veces.

Relaciones ornitófilas

Para establecer el funcionamiento de la ornitofilia en *P. nubigena*, realizamos 48 horas de observación de las visitas de aves nectarívoras en plantas reproductivas con flores en antesis, empleando binoculares Pentax (10x40) y la guía de aves de Venezuela para la identificación (Hilty 2003).

Adicionalmente, contamos el número de flores en antesis y marchitas con evidencia de perforaciones en el perianto en 38 inflorescencias provenientes de plantas diferentes, como indicio del robo de néctar. Este método permite conocer el porcentaje de flores visitadas por robadores primarios, que son los responsables de la perforación de la corola; sin embargo, no permite conocer la cantidad de néctar extraída por este medio ni el número de visitas de robadores primarios y/o secundarios.

RESULTADOS

Morfología floral

Las flores de *P. nubigena* presentan rasgos claramente ornitófilos, con pétalos y sépalos de color uniforme rojo oscuro a rosado oscuro, no fusionados entre sí y dispuestos en forma tubular. El perianto alargado alcanzó longitudes máximas de $64,5 \pm 8,3$ mm y mínimas de $63,0 \pm 3,3$ mm, con una abertura lateral producto de la separación existente entre los pétalos, que se inicia a una

distancia de $26,2 \pm 5,7$ mm medida por la cara interna de la flor (Tabla 1).

Las flores de *P. nubigena* presentaron valores similares de longitud máxima, diámetro basal y profundidad independientemente de su posición en el escapo ($F=1,053$; $2,552$; $2,331$ resp.; $P>0,05$). Sin embargo, el diámetro apical y la distancia base-abertura cambió de acuerdo con la ubicación de la flor ($F=3,261$; $3,481$; $P<0,05$), pues las flores de la base mostraron mayor diámetro apical respecto a las del medio ($F=-0,0809$; $P<0,05$) y las del ápice ($F=-0,0746$; $P<0,05$), mientras que las flores localizadas hacia la porción media del escapo, mostraron una mayor distancia base-abertura respecto a las de la base ($F=0,03396$; $P<0,05$) y las del ápice ($F=0,3225$; $P<0,05$) (Tabla 1).

La separación espacial entre los ápices de las anteras y el estigma de las flores fue de $2,4 \pm 2,0$

mm. La mayoría de los botones florales y flores evaluadas en las distintas fenofases, presentaron el estigma a una altura superior a la de las anteras, aunque también encontramos algunas flores en preantesis y flores en antesis con este patrón de disposición en forma inversa. Aunque el 28% de las flores en antesis examinadas presentó las anteras de una longitud superior a la del estigma, no encontramos diestilia en esta especie.

La quilla en los sépalos fue un carácter determinante para distinguir a *P. nubigena* de *Pitcairnia meridensis*, especies que no pueden ser distinguidas en estado vegetativo y que aun en condición reproductiva muestran flores bastante similares. Adicionalmente, en los ejemplares colectados en la localidad bajo estudio encontramos diferencias en la coloración y en la longitud del perianto: *P. meridensis* con un

Tabla 1. Características morfológicas de las flores de *P. nubigena*.

Variable morfológica	Promedio \pm DE (mm)	Rango de variación (mm)
Longitud máxima del perianto	$64,5 \pm 8,3$	53,9 – 75,9
Longitud mínima del perianto	$63,0 \pm 3,3$	56,9 – 69,8
Diámetro apical del perianto	Ápice $6,5 \pm 1,1$	4,1 – 8,9
	Medio $6,6 \pm 1,1$	5,1 – 8,6
Diámetro basal del perianto	Base $7,3 \pm 1,1$	5,3 – 9,0
	$8,0 \pm 0,7$	6,1 – 9,7
Profundidad del perianto	$26,2 \pm 5,7$	16,5 – 40,3
	Ápice $32,5 \pm 4,9$	24,3 – 40,9
Distancia base-abertura del perianto	Medio $35,7 \pm 4,7$	29,4 – 45,7
	Base $32,3 \pm 4,2$	26,0 – 41,0
Longitud del estilo	$46,1 \pm 4,5$	36,9 – 53,8
Longitud de las anteras	$9,8 \pm 0,8$	4,5 – 20,6
Longitud de los filamentos	$46,5 \pm 3,9$	26,6 – 59,2
Distancia antera–estigma	$2,4 \pm 2,0$	0,2 – 18,0

perianto más anaranjado y de mayor longitud, mientras que las flores de *P. nubigena* fueron más rojizas y de menor longitud.

Fenofases de botón a flor

Distinguimos 4 fenofases basadas en diferencias de forma y color de los sépalos, despliegue de los pétalos y tamaño del perianto (Tabla 2). Las fenofases Botón 1 y Botón 2 están representadas por botones florales, que se distinguen por tener los sepalos curvos en la fenofase más inmadura y los sépalos rectos en la segunda fenofase. La fenofase 3 corresponde a flores en pre-antesis y la 4 a las flores en antesis. Cabe destacar que el pronunciado cambio de longitud en el perianto de la fenofase 3 a la 4 es producto del despliegue de los pétalos durante la antesis.

El 39% de los botones florales marcados inicialmente murieron, por lo que sólo en 92 de ellos pudimos registrar algún cambio de fenofase y en una porción de ellos más de un cambio de fenofase. El tiempo acumulado de maduración en las inflorescencias desde la fenofase 1 a la 4 fue de aproximadamente 87 días (Figura 2), lo que indica que los botones florales pueden permanecer cerrados y en crecimiento cerca de 3 meses antes de alcanzar la antesis. La fenofase de

mayor tiempo de duración fue la 2, con un tiempo promedio de 55 días, mientras que la fenofase más corta fue la 3 (pre-antesis), la cual duró menos de una semana. Por tal motivo, no fue posible detectar en las flores marcadas el cambio a la fenofase 4, ya que los botones de fenofase 2 eran detectados en fenofase 4 en el muestreo siguiente.

El tiempo de antesis para las flores excluidas de los visitantes florales fue de 2,0±0,5 días, mientras que para las flores expuestas la antesis duró 1,0±0,5 días, sin que hubiesen diferencias significativas entre ambos tratamientos (t=-1,036; P>0,05), por lo cual resultó un tiempo de antesis de 1,5±0,5 días.

La secuencia de maduración de los botones florales dentro de las inflorescencias fue basal-apical; los botones ubicados en la base de las inflorescencias alcanzaron primero la antesis, posteriormente los botones ubicados en el medio y finalmente los del ápice. Considerando que el número de botones que permanecen vivos en la inflorescencia una vez que las flores basales alcanzaron la antesis fue de 33,2, que el número de flores en antesis sincrónica por inflorescencia fue de 3±1 (datos no publicados) y que el tiempo de antesis fue de 1,5±0,5 días, estimamos que la inflorescencia marchita en aproximadamente 17 días luego de que las primeras flores alcanzan la antesis.

Tabla 2. Descripción morfológica de las fenofases florales en *P. nubigena* (promedios y desviación estándar).

Fenofase	Despliegue de los pétalos	Forma de los sépalos	Color de los sépalos	Longitud del perianto (mm)	Diámetro basal (mm)	Diámetro apical (mm)	n
Botón 1	No visibles	Curva	Verde claro a pardo claro	13,0 ± 4,6	2,7 ± 0,6	0,9 ± 0,3	44
Botón 2	No visibles	Recta	Pardo, naranja a rosa oscuro	30,6 ± 4,6	5,3 ± 0,9	1,3 ± 0,3	81
Preantesis	Visibles y plegados	Recta	Rojo o rosa oscuro	37,3 ± 5,5	6,9 ± 0,7	3,1 ± 0,7	16
Antesis	Desplegados	Recta	Rojo o rosa oscuro	65,5 ± 3,5	8,0 ± 0,7	6,8 ± 1,1	61

Nota: los datos numéricos corresponden a los tamaños mínimos registrados para cada fenofase, salvo en la antesis que muestra el tamaño promedio.

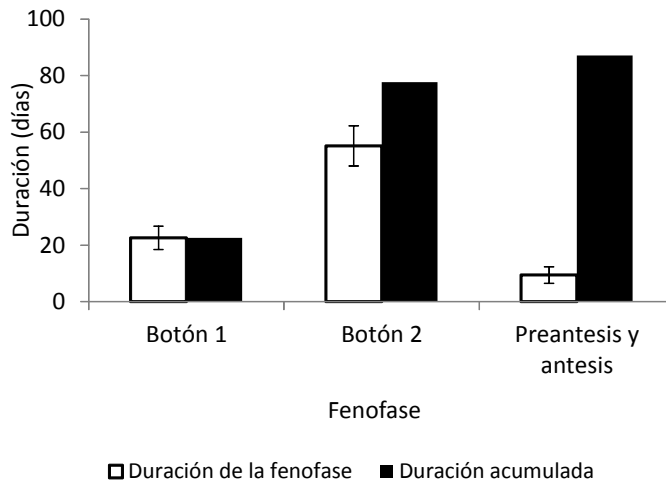


Figura 2. Duración de las fenofases florales en *P. nubigena*.

Autocompatibilidad en *P. nubigena*

Observamos sincronía en la maduración de las anteras y el estigma en el 100% de los botones evaluados desde la fenofase 3 hasta la 4, que constituye la antesis (14 flores en preantesis y 61 en antesis). Todos los botones evaluados en fenofase 2 (35) mostraron estigmas receptivos, con anteras inmaduras en el 59% de ellos.

Por otra parte, un bajo porcentaje de flores tratadas por autopolinización autónoma y autopolinización asistida logró producir frutos: el 19,4% de las flores fueron fecundadas por autopolinización autónoma y el 7,1% por autopolinización asistida. Aunque es mayor el porcentaje de frutos producidos por autopolinización autónoma en comparación con la asistida, la suma de ambas sugiere que 26,5% de los botones que producen frutos son producto de autopolinización.

Relaciones ornitófilas

Encontramos que las flores de *Pitcairnia nubigena* fueron visitadas por cinco especies de colibríes y una especie de ave de percha. *Adelomyia melanogenys*, *Coeligena torquata*, *Heliangelus mavors* y *Colibri coruscans* (Trochilidae) realizaron visitas frontales a las flores y podrían fungir como polinizadores potenciales de *P. nubigena*. *Agelaiocercus kingi* (Trochilidae) y *Diglossa albilatera* (Thraupidae) realizaron acercamientos laterales a las flores actuando como robadores de néctar.

Finalmente, la incidencia de robo de néctar en flores de *P. nubigena* fue muy baja, con un valor

promedio de 1 ± 2 flores robadas por inflorescencia, lo que indica que del total de botones y flores presentes por inflorescencia, sólo de 3,4 a 6,9% de las flores son robadas.

DISCUSIÓN

Morfología floral en *Pitcairnia nubigena*

Las flores de *P. nubigena* presentaron una longitud del perianto de 64,5 mm, estando entre las más largas de las especies ornitófilas del mismo género que se distribuyen en Los Andes venezolanos, entre 50 y 75 mm (Hornung y Gaviria 2013). Aunque ha sido reportado un valor de tamaño de corola similar para *P. meridensis* de 64mm (Hornung 1998), la comparación cualitativa en ejemplares de la localidad bajo estudio parece indicar que *P. nubigena* tendría una corola más pequeña.

Las flores de *P. nubigena* presentaron tamaños variables en función de su posición en el escapo, siendo aquellas basales las de mayor diámetro apical, lo cual les permitiría albergar una mayor cantidad de néctar con respecto a otras flores ubicadas dentro de las inflorescencias. En la especie *Aechmea beeriana*, otra Bromeliaceae ornitófila, Nara y Webber (2002) encontraron una mayor producción de néctar en las flores basales de las inflorescencias. Por ser las flores basales las primeras que maduran, una cantidad cuantiosa de néctar podría determinar rutas de forrajeo de potenciales polinizadores, que una vez que descubren el recurso provisto por una inflorescencia nueva, siguen realizando visitas mientras encuentren flores en antesis.

Los caracteres ornitófilos de las flores de *P. nubigena* lograron atraer aves nectarívoras pertenecientes a la Familia Trochilidae (Colibríes) y a la Familia Thraupidae (Pinchaflores); la primera de ellas considerada como especialista en extracción de néctar y polinización (Ornelas 1996, Cronk y Ojeda 2008) y la segunda como robadora de néctar (Inouye 1980, Maloof e Inouye 2000, Rojas 2007). Ambos grupos de aves nectarívoras se han registrado visitando otras especies de plantas ornitófilas localizadas en selvas nubladas venezolanas (Valois-Cuesta y Novoa-Sheppard 2006, Betancourt 2009) y particularmente en la Estancia La Bravera (Bastidas 2012).

Las flores de *P. nubigena* fueron visitadas de manera frontal por especies de colibríes con longitudes de picos variados; desde *Coeligena torquata* con 33mm hasta *Adelomyia melanogenys* con 13mm (Hilty 2003). La visita frontal de especies de pico corto en las flores puede ocurrir puesto que los pétalos no son rígidos, no se encuentran soldados y el perianto tiene una abertura lateral, lo que permite a los colibríes de pico corto acceder al nectario localizado en el fondo de las flores. Sin embargo, especies como *Agelaiocercus kingi* prefieren realizar visitas laterales a las flores, pese a que la longitud de su pico es similar al de *A. melanogenys*.

Esta morfología particular en las flores de *P. nubigena*, que les permite recibir visitas frontales o legítimas de especies tanto de pico largo como corto, podría ser ventajosa para su reproducción, ya que incrementa su espectro de polinizadores potenciales, tal y como ocurre en especies ornitófilas de corola corta y especies que pueden comprimir su corola ante la visita de colibríes de pico corto como *Aphelandra runcinata* (Acanthaceae) (Rengifo *et al.* 2005). Un mayor número de especies visitantes podría traducirse en un incremento de la frecuencia de visitas, lo que a su vez podría incrementar las probabilidades de polinización en las flores.

Adicionalmente, esta misma característica de la abertura lateral podría contribuir a la disminución de la incidencia del robo de néctar, resultando en valores relativamente bajos (3,4 a 6,9% de flores por inflorescencia) e incluso menores a los de otras especies ornitófilas de corola corta como *Psammisia hookeriana*, en la cual se ha registrado un robo de 19 a 74% para la misma localidad (Bastidas 2012). En general, la incidencia de robo de néctar en flores de corola larga suele ser

mayor respecto a las flores de corola corta, dada la dificultad de las aves nectarívoras de pico corto para acceder frontalmente al nectario de los periantos más largos (Stiles *et al.* 1992, Arizmendi 2001, Rojas 2007), por lo que la existencia de la abertura lateral estaría eliminando este impedimento. Por otro lado, McDade y Weeks (2004) indican que las aves nectarívoras tienden a visitar un amplio rango de recompensas, acorde con la disponibilidad de los recursos estacionales ofrecidos por las plantas, por lo cual es posible que el patrón de alimentación de las aves robadoras se alterne entre el néctar producido por las flores de *P. nubigena* y el de otras especies ornitófilas encontradas en La Bravera (Ely *et al.* 2012). La baja producción de inflorescencias de *P. nubigena* durante el año de muestreo (Obs. Pers.), pudo favorecer el que los robadores de néctar optaran por consumir otras especies ornitófilas con una mayor disponibilidad de recursos para ese periodo.

Asimismo, una baja incidencia de robo puede deberse a migraciones estacionales de las aves nectarívoras (Lasso y Naranjo 2003). No obstante, no conocemos el ensamble completo de aves asociado a *P. nubigena* ni sus patrones de migración para poder establecer una conexión entre estos. Adicionalmente, encontramos que algunas flores robadas presentaron daños en sus estilos (Azuaje 2013), lo cual podría tener efectos sobre la posterior producción de frutos de esas flores, de modo que el robo estaría efectivamente afectando el éxito reproductivo de la planta, tal como se ha encontrado en otros trabajos (Traveset *et al.* 1998, Navarro 1999). Sin embargo, debe realizarse un estudio más detallado al respecto para conocer el verdadero efecto de estos daños sobre la reproducción de las flores robadas.

Fenofases florales

La maduración de los botones florales dentro de las inflorescencias de *P. nubigena* ocurrió en una secuencia basal-apical, tal como ocurre en otras especies de Bromeliaceae (Smith y Downs 1974, Hornung 2006). Esta secuencia resulta de la expresión de la arquitectura vegetal propia de este grupo de especies, la cual está determinada genéticamente y sólo puede ser afectada por condiciones ecológicas extremas (Perreta y Vegetti 2005).

El tiempo de maduración de las inflorescencias de *P. nubigena* fue de 87 días, mientras que otras especies como *Pitcairnia flammea* var *pallida* y *Pitcairnia heterophylla* requieren sólo 15 y 52

días respectivamente. Es posible encontrar gran variación entre estos tiempos, sin que exista una correlación aparente entre subfamilias o géneros; no obstante, el tiempo de maduración de los botones florales en las Bromeliaceae suele ser un proceso lento comparado con el tiempo de duración de la antesis de las flores en general (Smith y Downs 1974).

La duración de la antesis en las flores de *P. nubigena* fue de $1,5 \pm 0,5$ días, intervalo de tiempo similar al registrado en la mayoría de las especies de Bromeliaceae, en las que se han reportado valores de 1 a 3 días (Machado y Semir 2006). Las flores de *P. nubigena* aisladas con mallas de tul no incrementaron este tiempo con respecto a las flores expuestas a los visitantes florales, lo que indica que el tiempo de antesis no es afectado por la falta de visitas florales. Aunque mantener las flores en antesis hasta que ocurran las visitas por un polinizador podría incrementar la probabilidad de polinización cruzada, esta estrategia puede ocasionar pérdidas energéticas que podrían afectar la viabilidad del polen de las flores y su posterior producción de frutos, dada la inversión de energía necesaria para mantener la respiración, transpiración y la producción de néctar (Ashman y Schoen 1997); por tanto, mantener el tiempo de antesis independientemente de las visitas florales podría, en este caso, evitar una pérdida energética.

Mecanismos de compatibilidad de *P. nubigena*

La distancia existente entre las estructuras reproductivas de la flor permite describir a esta especie como hercogámica, aunque puede considerarse como una hercogamia relativamente débil, puesto que la parte apical de las anteras puede solaparse con la porción basal del estigma. De esta forma, las flores de *P. nubigena* son hercogámicas, en su mayoría de tipo proximal (72%) ya que el estigma sobrepasa las anteras, aunque también es posible encontrar hercogamia reversa por una disposición inversa en estas estructuras (*sensu* Webb y Lloyd 1986). A pesar de la variabilidad en la hercogamia y en la posición de la antera respecto al estigma, no ocurre diestilia en esta especie.

El grado de hercogamia puede influir en las tasas de autopolinización de las flores y se espera que cuanto mayor es la distancia antera-estigma haya una menor capacidad para autopolinizarse (Lloyd y Schoen 1992). La existencia de hercogamia podría ser la explicación para que sólo el 19,4%

de las flores de *P. nubigena* generara frutos en los experimentos de autopolinización autónoma. Este mecanismo, por una parte, podría ser ventajoso ya que disminuye la probabilidad de endogamia en la población, aunque también podría ser perjudicial para aquellas flores que no reciban visitas de los polinizadores al disminuir en ellas la probabilidad de autopolinización autónoma. En contraste, para otras especies del género *Pitcairnia* con distancias antera-estigma superiores a las de *P. nubigena*, se ha registrado una mayor proporción de flores autofecundadas: 35,5% en *P. flammea* y 28,5% en *P. albiflos* (Wendt *et al.* 2002), lo cual pareciera contradecir la hipótesis de que a mayor distancia, menores tasas de autopolinización. Es importante mencionar que aunque descartamos la presencia de dicogamia en las flores, no podemos asumir que en *P. nubigena* no puedan existir mecanismos fisiológicos que inhiban la autofecundación y que estén contribuyendo a la baja proporción de autopolinización registrada. No obstante, no encontramos estudios que demuestren la presencia de estos mecanismos fisiológicos en otras especies del género *Pitcairnia* o en otros géneros de Bromeliaceae.

Por otro lado, sólo el 7,1% las flores de *P. nubigena* produjo frutos luego de la autopolinización asistida, en contraste a 19,4% de autopolinización autónoma y a 73,3 y 28,5% de autofecundación facilitada en *P. flammea* y *P. albiflos* respectivamente (Wendt *et al.* 2002). Nuestros resultados indican que en *P. nubigena* la autopolinización es posible, aunque con un éxito en baja proporción, de forma que la autocompatibilidad parece ser un rasgo frecuente en la Familia Bromeliaceae, tal como lo señalan Matallana *et al.* (2010), quienes lo interpretan como un mecanismo de aislamiento reproductivo en presencia del flujo de polen entre especies congénicas simpátricas. Sin embargo, otros autores señalan que se trata de un mecanismo ventajoso que permite asegurar la producción de frutos cuando hay una baja densidad de población ó deficiencia de polinizadores (Charlesworth 2006). En nuestra experiencia, la emasculación de botones en *P. nubigena* para realizar ensayos de polinización cruzada no resulta factible, pues los botones florales se marchitan al quedar expuestos a la humedad y a los hongos. La emasculación en flores de fenofases inmaduras evita que el perianto ejerza su función de protección al pistilo y los estambres hasta completar la madurez (Hopkins 2006). Para la especie *Canistrum aurantiacum*

(Bromeliaceae) también se ha encontrado que la acumulación de humedad dentro de las flores ha favorecido el desarrollo de hongos que han dañado parte de las flores en anthesis (Siqueira-Filho y Machado 2001). En todo caso, la realización de experimentos de polinización cruzada en *P. nubigena* vía emasculación, debe considerar que los estigmas pueden impregnarse con polen maduro de la misma flor desde la fenofase 3. Algunas técnicas alternativas que se pueden utilizar incluyen observar la germinación del polen y verificar el crecimiento de tubos polínicos a través de los estilos u observar los óvulos al remover una porción del ovario y esperar el desarrollo de los frutos (Kearns e Inouye 1993). Sin embargo, dada su complejidad, estas técnicas no pueden ser realizadas en campo.

Pese a que no pudimos comprobar la eficacia de la polinización cruzada en *P. nubigena*, sabemos que sus plantas pueden producir inflorescencias con 3 ± 1 flores en anthesis sincrónica, lo que podría incrementar las probabilidades de polinización cruzada entre inflorescencias provenientes de distintas plantas. Lloyd y Schoen (1992) consideran que en aquellas especies que producen más de una flor en anthesis simultánea, la geitonogamia entre sus flores es virtualmente inevitable y ya que tanto la geitonogamia como la fecundación por polinización cruzada requieren de vectores animales para lograr el éxito, es muy posible que *P. nubigena* también presente polinización cruzada. Incluso, Wendt *et al.* (2002) han reportado la ocurrencia de polinización cruzada exitosa en otras especies de *Pitcairnia* como *P. flammea* y *P. albiflos*, que también poseen rasgos ornitófilos y son autocompatibles al igual que *P. nubigena*. Tales hallazgos, sumados a los rasgos ornitófilos de las flores de *P. nubigena* y a la evidencia aportada en este trabajo sobre visitas florales por aves nectarívoras, muestran que *P. nubigena* cuenta con dos mecanismos de polinización capaces de producir frutos: polinización cruzada con la participación de vectores animales y autopolinización.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue parcialmente financiado por el Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico, Tecnológico y de las Artes, CDCHTA, de la Universidad de Los Andes, mediante proyecto C1719-11-01-F. El Sr. Jorge Bravo nos permitió

el acceso y nos dio hospedaje en las instalaciones de la Estancia La Bravera, por lo cual le estamos muy agradecidos. El Dr. Pascual J. Soriano, el Dr. Javier C. Estrada S., la Dra. Francisca Ely y un revisor anónimo realizaron aportes que contribuyeron a mejorar sustancialmente el presente manuscrito.

LITERATURA CITADA

- ALTSHULER, D.L. 2003. Flower color, hummingbird pollination, and habitat irradiance in four neotropical forests. *Biotropica* 35(3):344–355.
- ARIZMENDI, M. 2001. Multiple ecological interactions: Nectar robbers and hummingbirds in a highland forest in Mexico. *Canadian Journal of Zoology*, 79: 997-1006.
- ASHMAN, T.L. y D.J. SCHOEN. 1997. The cost of floral longevity in *Clarkia tembloriensis*: An experimental investigation. *Evolutionary Ecology* 11:289–300.
- ATAROFF, M. y L. SARMIENTO. 2003. Diversidad en Los Andes de Venezuela. I Mapa de Unidades Ecológicas del Estado Mérida. CD-ROM, Ediciones Instituto de Ciencias Ambientales y Ecológicas (ICAE), Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.
- AZUAJE, R.A. 2013. Fenología y disponibilidad de recursos para los visitantes florales de *Pitcairnia nubigena* (Bromeliaceae) en una selva nublada andina venezolana. Tesis de Licenciatura, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela. 52pp.
- BASTIDAS, A. 2012. Ensamble de aves y polinización de *Psammisia hookeriana* Klotzsch (Ericaceae) en una selva nublada de Los Andes venezolanos. Tesis de Licenciatura, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela. 51pp.
- BETANCOURT, R.Z. 2009. Colibríes como vectores de polen en *Palicourea demissa* (Rubiaceae) una planta diestilica de la selva nublada tropical andina. Tesis de Licenciatura, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela. 54pp.
- CHARLESWORTH, D. 2006. Evolution of plant breeding systems. *Current Biology* 16: R726 – R735.
- CRONK, Q. e I. OJEDA. 2008. Bird-pollinated flowers in an evolutionary and molecular context. *Journal of Experimental Botany* 59(4):715–727.
- ELY, F., M. LUJÁN, G. BUSTOS, L. OJEDA, N. SANTOS, F. SANTIAGO, D. CASTILLO, H.

- TAJAN y M. CASTRO. Formaciones Vegetales en la Estancia La Bravera. <http://www.estancialabravera.com/jardin%20botanico/formaciones-vegetales.html>. Consultado 12/09/2012
- ENGWALD, S. 1999. Diversität und ökologie der vaskulären epiphyten in einem berg.und einem tieflandregenwald in Venezuela. Tesis de Doctorado, Universität Bonn, Bonn. 362pp.
- ENGWALD, S., V. SCHMIT-NEUERBURG y W. BARTHLOTT. 2000. Epiphytes in rain forests of Venezuela- diversity and dynamics of a biocenosis. Pp. 425-434, in S.W. Breckle, B. Schweizer y U. Arndt (eds.). Results of worldwide ecological studies. Proceedings of the 1st Symposium by the A.W.F. Schimper Foundation.
- FORD, H.A. 1985. Nectarivory and pollination by birds in southern Australia and Europe. *Oikos* 44(1):127-131.
- HILTY, S.L. 2003. Birds of Venezuela. Princeton University Press, New Jersey. 878pp.
- HOLST, B.K. 1994. Checklist of Venezuelan Bromeliaceae with notes on species distribution by state and levels of endemism. *Journal of Selbayana* 1:132-149. http://www.selby.org/index.php?src=gendocs&link=bic_venbro1&category=Research. Consultado 01/10/2010.
- HORNUNG, C. 1998. Flora de las Bromeliáceas del estado Mérida. Tesis de Licenciatura, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela. 377pp.
- HORNUNG, C. 2006. Nectar production in *Pitcairnia imbricata* (Bromeliaceae). *Journal of Botanical Science* 56(6):260-269.
- HORNUNG, C. y J. GAVIRIA. 1999. Clave y glosario ilustrado para la determinación de las Bromeliaceae del Estado Mérida, Venezuela. *Plantula* 2(3):119-140.
- HORNUNG, C. y J. GAVIRIA. 2013. Sinopsis del género *Pitcairnia* (Bromeliaceae) para el estado Mérida, Venezuela. *Acta Botanica Venezuelica* 36(1):61-80.
- HOPKINS, W.G. 2006. Plant development (The green world). Chelsea House Publishers, Philadelphia. 145pp.
- INOUYE, D.W. 1980. The terminology of floral larceny. *Ecology* 61(5):1251-1253
- KEARNS, C.A. y D.W. INOUYE. 1993. Techniques for pollination biologists. University Press of Colorado, Nwot, Colorado. 383pp.
- LASSO, E. y M.E. NARANJO. 2003. Effect of pollinators and nectar robbers on nectar production and pollen deposition in *Hamelia patens* (Rubiaceae). *Biotropica* 35(1):57-66.
- LLOYD, D. y D. SCHOEN. 1992. Self and cross fertilization in plants. I. Functional dimensions. *International Journal of Plant Sciences* 153(3):358-369.
- MACHADO, C. y J. SEMIR. 2006. Fenologia da floração e biologia floral de bromeliáceas ornitófilas de uma área da Mata Atlântica do Sudeste brasileiro. *Revista Brasileira de Botânica* 29(1):163-174.
- MALOOF, J.E. y D.W. INOUYE. 2000. Are nectar robbers cheaters or mutualists? *Ecology* 81(10):2651-2661.
- MANTALLANA, G., M. GODINHO, F. GUILHERME, M. BELISARIO, T. COSER y T. WENDT. 2010. Breeding systems of Bromeliaceae species: evolution of selfing in the context of sympatric occurrence. *Plant Systematics and Evolution* 289:57-65.
- MCDADE, L. y J. WEEKS. 2004. Nectar in hummingbird-pollinated neotropical plants I: patterns of production and variability in 12 species. *Biotropica* 36(2):196-215.
- MORILLO, G., B. BRICEÑO y F. OLIVA-ESTEVA. 2009. Bromeliaceae de los páramos y subpáramos andinos venezolanos. *Acta Botánica Venezuelica* 32(1):179-224.
- NARA, A.K. y A.C. WEBBER. 2002. Biología floral e polinização de *Aechmea beeriana* (Bromeliaceae) en vegetação de baixio na Amazônia Central. *Acta Amazonica* 32(4):571-588.
- NAVARRO, L. 1999. Pollination ecology and effect of nectar removal in *Macleania bullata* (Ericaceae). *Biotropica* 31(4):618-625.
- OLIVA-ESTEVA, F. y J.A. STEYERMARK. 1987. Las bromeliáceas de Venezuela. Nativas y Cultivadas. Ediciones Armitano, Caracas. 373pp.
- ORNELAS, J.F. 1996. El origen y evolución de los colibríes. *Ciencias* 42:38-47.
- ORTEGA-OLIVENCIA, A., T. RODRIGUEZ-RIANO, F. VALTUENA, J. LOPEZ y J.A. DEVESA. 2005. First confirmation of a native bird-pollinated plant in Europe. *Oikos* 110(3):578-590.
- PELLMYR, O. 2002. Pollination by animals. Pp. 157-184, in C.M. Herrera y O. Pellmyr (eds). *Plant / animal interactions: An evolutionary approach*.

- Blackwell Science, Oxford. 328pp.
- PERRETA, M.G. y A.G. VEGETTI. 2005. Patrones estructurales en las plantas vasculares: una revisión. *Gayana Botanica* 62(1):9-19.
- RAMOS, J., M. PASCUAL, L. SALLES y E. CHAGAS. 2008. Receptividad del estigma y ajuste del protocolo para la germinación in vitro de granos de polen en cítricos. *Interciencia* 33(1):51-55.
- RENGIFO, C., M. ZAMBRANO y A. NAVA, 2005. Lista de aves de La Azulita, Municipio Andrés Bello, Mérida-Venezuela. Serie Aves de Mérida, Volumen 2. Editorial Venezolana, Mérida, Venezuela. 79pp.
- ROJAS, S. 2007. Estrategias de extracción de néctar por pinchaflores (Aves: *Diglossa* y *Diglossopsis*) y sus efectos sobre la polinización de plantas de los altos Andes. *Ornitología Colombiana*, 5: 21-39.
- SERES, A. y N. RAMÍREZ. 1995. Biología floral y polinización de algunas monocotiledóneas de un bosque nublado venezolano. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 82(1):61-81.
- SIQUEIRA-FILHO, J. e I. MACHADO. 2001. Biología reproductiva de *Canistrum aurantiacum* E. Morren (Bromeliaceae) em remanescente da floresta atlántica, nordeste do Brasil. *Acta Botânica Brasilica* 15(3):427-443.
- SMITH, L. y R. DOWNS. 1974. *Pitcairnioideae* (Bromeliaceae). *Flora Neotropica* 14(1):1-660.
- SPSS. 1993. Manual del usuario de SPSS Statistics Base 17.0. <http://web.udl.es/Biomath/Bioestadistica/SPSS/v17/SPSS%20Statistics%20Base%20User's%20Guide%2017.0.pdf>. Consultado 14/09/2010.
- STILES, F.G., A.V. AYALA y M. GIRÓN. 1992. Polinización de las flores de *Brachyotum* (Melastomataceae) por dos especies de *Diglossa* (Emberizidae). *Caldasia* 17(1):47-54.
- TRAVESET, A., M. WILLSON y C. SABAG. 1998. Effect of nectar-robbing birds on fruit set of *Fuchsia magellanica* in Tierra del Fuego: a disrupted mutualism. *Functional Ecology* 12:459-464.
- VALOIS-CUESTA, H. y S. NOVOA-SHEPPARD. 2006. Ecología reproductiva de *Palicourea demissa* (Rubiaceae): Néctar y colibríes en una selva nublada de Los Andes venezolanos. *Revista institucional Universidad Tecnológica del Chocó* 25:40-46.
- WEBB, C.J. y D.G. LLOYD. 1986. The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms II. Herkogamy. *New Zealand Journal of Botany* 24(1):163-178.
- WENDT, T., M. CANELA, D. KLEIN y R. RIOS. 2002. Selfing facilitates reproductive isolation among three sympatric species of *Pitcairnia* (Bromeliaceae). *Plant Systematics and Evolution* 232(1):201-212.
- ZAR, J.H. 1999. *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall, New Jersey. 663pp+212App.

Recibido 20 de marzo de 2014; revisado 17 de junio de 2014; aceptado 20 de julio 2014