

SISTEMAS REPRODUCTIVOS DE CUATRO ESPECIES DE BROMELIACEAE EN VENEZUELA

Nelson Ramírez* y Herbert Briceño

Laboratorio de Biología Reproductiva de Angiospermas, Centro de Botánica Tropical,
Instituto de Biología Experimental, Facultad de Ciencias, Universidad Central de
Venezuela. Calle Suapure, Colinas de Bello Monte. Caracas - Venezuela.

*nramirez220252@gmail.com

RESUMEN

Los sistemas reproductivos y la producción natural de frutos y semillas de cuatro especies de Bromeliaceae fueron estudiados usando cinco pruebas experimentales. La separación espacial de los órganos sexuales, hercogamia, y la separación temporal de la expresión sexual, dicogamia fueron también determinadas. Los índices reproductivos mostraron ausencia de agamosperma en todas las especies, ausencia de autopolinización espontánea en *Catopsis nutans*, autopolinización parcial en dos especies de *Tillandsia* y autopolinización asistida parcialmente limitada en *Tillandsia elongata* var. *subimbricata*. Las tres especies de *Tillandsia* fueron parcialmente xenógamas y parcialmente autoincompatibles, aunque *Tillandsia funckiana* con índices de autofertilidad cercanos a cero puede ser considerada xenógama. Las tres especies de *Tillandsia* mostraron diferentes niveles de depresión endogámica. La eficiencia reproductiva natural mostró variaciones de acuerdo a las características del sistema reproductivo: (1) la autopolinización espontánea no contribuyó con la eficiencia natural en *Catopsis nutans*, tuvo una contribución parcial en *Tillandsia funckiana* y *T. schiedeana*, y se mostró deficiente en *T. elongata* var. *subimbricata*. (2) La autopolinización inducida no contribuye con la producción natural de frutos y semillas en *C. nutans*, y tiene una contribución parcial en *T. elongata* var. *subimbricata*, *T. funckiana* y *T. schiedeana*. (3) La relación de los valores de eficiencia para la polinización cruzada/polinización natural mostró que la polinización natural es menos eficiente que la polinización cruzada en las tres especies de *Tillandsia*. Estos resultados son discutidos con relación a las características reproductivas florales y ecológicas de las especies.

Palabras clave: autoincompatibilidad, autogamia, depresión endogámica, dicogamia, eficiencia reproductiva natural, hercogamia, sistema reproductivo, xenogamia.

Reproductive systems of four Bromeliaceae species in Venezuela

Abstract

Reproductive systems and the natural fruit and seed production of four Bromeliaceae species were studied using five experimental tests. Spatial separation of sexual organs, herkogamy, and the temporal variation of sex expression, dichogamy, were also determined. Reproductive indexes showed absence of agamospermy in all species, absence of spontaneous self-pollination in *Catopsis nutans*, partial self-pollination in two species of *Tillandsia*, and limited partially assisted self-pollination in *Tillandsia elongata* var. *subimbricata*. Partial xenogamy and partial self-incompatibility were found in the three species of *Tillandsia*, although *Tillandsia funckiana* exhibited a nearly zero self-fertility index and therefore may be considered a xenogamous species. Different levels of inbreeding depression were also found in the three species of *Tillandsia*. Natural reproductive efficiency showed variations

Recibido: junio 2018

Aceptado: noviembre 2018

according to the characteristics of breeding systems: (1) spontaneous self-pollination did not contribute to the natural reproductive efficiency in *Catopsis nutans*, contributed partially in *Tillandsia funckiana* and *T. schiedeana*, and was deficient in *T. elongata* var. *subimbricata*; (2) induced self-pollination did not contribute to the natural production of seeds and fruits in *Catopsis nutans* and contributed partially in *T. elongata* var. *subimbricata*, *T. funckiana*, and *T. schiedeana*; (3) relationship of efficiency values for cross/natural pollination showed that natural reproductive efficiency was less effective than cross-pollination in the three species of *Tillandsia*. These results are discussed in relation to floral and ecological characteristics.

Keywords: Autogamy, Breeding system, Dichogamy, Herkogamy, Inbreeding depression, Natural reproductive efficiency, Self-incompatibility, Xenogamy.

INTRODUCCIÓN

Bromeliaceae es una familia restringida a las Américas con solo una especie africana, las cuales son especies herbáceas, terrestres o epifitas, principalmente polinizadas por aves e insectos (Holst y Luther, 2004). Con relación al modo de reproducción sexual, Benzing (2000) señala la carencia de información consistente sobre los sistemas reproductivos en Bromeliaceae y considera que las especies son predominantemente xenógamas. Sin embargo, estudios recientes han demostrado un patrón de autoincompatibilidad y autocompatibilidad en Bromeliaceae, algunas veces entre especies del mismo género donde la mayoría han sido reportadas autocompatibles (Soltis *y col.*, 1987; Matallana *y col.*, 2010; Bianchi y Vesprini, 2014). Esta tendencia puede ser asociada con el hábito herbáceo de las plantas que puede mostrar diferentes tendencias en cuanto al sistema reproductivo. La condición de autocompatibilidad ha sido repetidamente asociada con el hábito herbáceo. En este sentido, monocotiledóneas herbáceas y perennes de un soto bosque nublado fueron encontradas predominantemente autocompatibles, con sistemas sexuales monoicos y dicogamia, intra- e inter-floral (Ramírez y Seres, 1994), aunque en otros ambientes, especies herbáceas perennes, pueden ser autoincompatibles (Jaimes y Ramírez, 1999). La autocompatibilidad en especies herbáceas es también asociada con la condición colonizadora de especies con ciclo de vida corto, mientras que especies herbáceas perennes pueden estar relacionadas con ciclos de vida largos, hábitats estables y autoincompatibilidad (Jaimes y Ramírez, 1999). En este sentido, el crecimiento asexual por estolones de muchas Bromeliáceas le confiere la condición perenne, lo cual pudiera estar relacionada con sistemas de autoincompatibilidad. Sin embargo, el sistema de autocompatibilidad es considerado un modo reproductivo común en Bromeliaceae (Matallana *y col.*, 2010), aunque representantes de esta familia polinizadas por insectos y colibríes pueden ser también agamospermas como en el caso de *Dickia brevifolia* (Rogalski *y col.*, 2009) y cleistogamas en especies de *Tillandsia* (Bianchi y Vesprini 2014). Por otra parte, el modo de polinización no parece tener un efecto importante, ya que la autocompatibilidad y la autoincompatibilidad ocurren en especies de Bromeliaceae polinizadas por colibríes (Grases y Ramírez, 1998; Wolowski *y col.*, 2013), uno de los

modos de polinización más común en esta familia (Holst y Luther, 2004; Matallana *y col.*, 2010). Además, el sistema reproductivo en Bromeliáceas parece estar influenciado taxonómicamente. El grupo taxonómico más numeroso de Bromeliáceas es la subfamilia Tillandsioideae, la cual incluye el género *Tillandsia* que presenta el mayor número de especies (Holst y Luther, 2004). Tanto a nivel de subfamilia como a nivel del género *Tillandsia* es frecuente encontrar especies autocompatibles (Soltis *y col.*, 1987; Matallana *y col.*, 2010; Bianchi y Vesprini, 2014). Sin embargo, la autoincompatibilidad también puede ocurrir en el género *Tillandsia* (Ramírez-Morillo *y col.*, 2009; Matallana *y col.*, 2010; Wolowski *y col.*, 2013; Bianchi y Vesprini, 2014). Por lo tanto solo parece ocurrir una tendencia a la autocompatibilidad en el género *Tillandsia*.

Otra forma de promover la polinización cruzada son la dicogamia o separación temporal en la expresión sexual y la hercogamia, separación espacial de los órganos sexuales (Lloyd y Webb, 1986; Webb y Lloyd, 1986; Ramírez y Seres 1994; Barrett, 2003). Estas formas de promover la polinización cruzada y evitar la interferencia en la presentación de polen y la receptividad estigmática son encontradas en *Tillandsia* (Ramírez-Morillo *y col.*, 2009), las cuales pueden representar barreras flexibles e incompletas y, por lo tanto consideradas como mecanismos parciales en la promoción de la polinización cruzada (Lloyd y Webb, 1986; Webb y Lloyd, 1986).

Por otra parte, el sistema reproductivo en plantas con flores puede tener un efecto directo sobre la producción de frutos y semillas. En general, las especies autocompatibles tienen una eficiencia reproductiva mayor que las especies autoincompatibles (Sutherland, 1986). El análisis del efecto de los sistemas reproductivos sobre la producción de frutos y semillas está basado en el sistema binario de compatibilidad – autoincompatibilidad (Sutherland, 1986). Una metodología reciente permite evaluar la contribución específica del sistema reproductivo sobre la producción de frutos y semillas, en el cual se estima la participación potencial de la agamosperma, autopolinización espontánea, autopolinización y polinización cruzada en la eficiencia reproductiva natural (Ramírez y Nassar, 2016). Esta nueva metodología permite inferir sobre la eficiencia reproductiva natural bajo diferentes escenarios de apareamiento. De acuerdo a lo anterior, el presente estudio evalúa el sistema reproductivo de cuatro especies de Bromeliaceae con relación a la capacidad de autopolinización y polinización cruzada, así como la posible asociación con la variación temporal en la maduración sexual y la separación espacial de los órganos sexuales. El patrón resultante del sistema de entrecruzamiento sobre la presencia de la depresión endogámica fue también evaluado. Finalmente, el posible efecto de las características del sistema reproductivo sobre la producción natural de frutos y semillas fue determinado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Especies y áreas de estudio. Cuatro especies de Bromeliaceae fueron estudiadas en umbráculos del Laboratorio de Biología Reproductiva de Angiospermas, Instituto de Biología Experimental, UCV. Las plantas procedían de las siguientes localidades venezolanas: *Catopsis nutans* (Sw.) Griseb, planta epífita de flores anaranjadas, procedente de remanente de bosque montano asociado a la quebrada La Gavidia, sector Santa Bárbara, Ciudad de Mérida, Estado Mérida. *Tillandsia elongata* Kunth var. *subimbricata* (Baker) L.B. Sm., planta epífita de coloración amarillenta en hojas y brácteas de las inflorescencias, con flores moradas, procedente del bosque seco de la carretera Charallave-Cúa e inmediaciones a la Población de Cúa, Estado Miranda. *Tillandsia funkiana* Baker, planta terrestre en terraplenes, con flores rojas asociadas a hojas de coloración rojizas, procedente de arbustales xeromorfos en la carretera San Cristóbal - San Antonio, Estado Táchira. *Tillandsia schiedeana* Steud., planta epífita con flores amarillas, procedente de bosques deciduos asociados a ríos, en las inmediaciones de Las Trincheras, Estado Carabobo.

Estrategia reproductiva. Las flores fueron caracterizadas de acuerdo a: (1) hercogamia, la separación de las anteras y estigmas durante la antesis y (2) dicogamia, la separación temporal en la maduración sexual, la cual fue establecida en condiciones de campo. La hercogamia fue determinada midiendo con un vernier la separación anteras - estigma en 10 flores de diferentes individuos. Posteriormente se determinó si la separación era estadísticamente diferente de cero. La dicogamia fue establecida por observación en 10 flores bajo condiciones de campo. Si la maduración de los órganos sexuales ocurría simultáneamente se consideraba como adicogamia y si la maduración sexual estaba separada temporalmente se consideraba dicogamia. Si la dehiscencia de las anteras ocurría previa a la receptividad estigmática, entonces se consideraba protandra, pero si la receptividad estigmática ocurría previa a la dehiscencia de las anteras, entonces se consideraba protógina.

El sistema reproductivo fue determinado de acuerdo a un programa de cuatro pruebas controladas (Ruíz-Zapata y Arroyo, 1978): (1) Agamospermia. Yemas florales fueron emasculadas y aisladas para establecer la posible producción de frutos y semillas sin polinización. (2) Autopolinización automática. Las flores fueron aisladas en estado de yemas hasta la formación de frutos y semillas. (3) Autocompatibilidad. Yemas aisladas y autopolinizadas manualmente durante la antesis permitieron determinar la capacidad de producir frutos y semillas por autopolinización manual o dirigida. (4) Polinización cruzada. Yemas emasculadas, polinizadas durante la antesis con polen de plantas diferentes y posteriormente aisladas hasta la producción de frutos y semillas, permite cuantificar la eficiencia de la polinización cruzada. La eficiencia natural en la producción de frutos y semillas fue determinada en flores que desarrollaban frutos y semillas de

forma natural sin ningún tipo de manipulación y bajo las condiciones naturales donde crecían las especies. La eficiencia de cada prueba fue establecida por: (1) la relación fruto/flor (frutos producidos por prueba entre el número total de flores) y (2) la relación semilla/óvulo (número total de semillas producidas por prueba entre el número total de óvulos estimado multiplicando el número de flores por el número promedio de óvulos/flor). El número de óvulos por flor fue determinado en flores de diferentes individuos. El número de semillas totales por fruto y el número de semillas abortadas (reconocidas por su tamaño notablemente más pequeño, mal formadas o aplastadas) por fruto fue determinado en frutos maduros y restado del total de semillas por fruto.

El sistema reproductivo fue establecido usando la metodología estadística propuesta recientemente por Ramírez y Nassar (2016), y calculado en <http://jafetnassar.wixsite.com/compositebs>.

Índices reproductivos. Dos niveles fueron empleados para determinar cada uno de los cuatro índices: (1) a nivel de frutos, usando los valores del total de frutos producidos por flor bajo experimentación y (2) a nivel de semillas, usando los valores de semillas sanas producidas por óvulos bajo experimentación (número de óvulos promedio por flor multiplicado por el número de flores bajo experimentación). (1) Índice de agamospermia. Calculado como el cociente de la eficiencia reproductiva de flores emasculadas dividido por la eficiencia reproductiva de flores bajo polinización cruzada. (2) Índice de autopolinización espontánea. Calculado como el cociente entre la eficiencia reproductiva de flores aisladas en estado de yemas de la actividad de polinizadores y la eficiencia reproductiva de flores autopolinizadas manualmente. (3) Índice de autofertilidad. Calculado como el cociente entre la eficiencia reproductiva de flores aisladas en estado de yemas de la actividad de polinizadores y la eficiencia reproductiva de flores bajo polinización cruzada. (4) Índice de autoincompatibilidad. Calculado por el cociente entre la eficiencia reproductiva de flores autopolinizadas manualmente y la eficiencia reproductiva de flores bajo polinización cruzada.

Depresión endogámica y exogámica. La depresión endogámica y depresión exogámica fueron determinadas a dos niveles: frutos y semillas. La depresión endogámica o por autopolinización fue calculada por el índice de depresión endogámica de Charlesworth y Charlesworth (1987): $IDEn = 1 - (w_s/w_c)$, donde w_s es la producción de frutos/flor o semillas/óvulo autopolinizadas y w_c es la producción de frutos/flor o semillas/óvulo por polinización cruzada. El índice de depresión endogámica solo fue determinado cuando la relación w_s/w_c era significativamente diferente de cero y de uno. La depresión por exogamia fue determinada solo cuando la relación w_s/w_c resultó significativamente mayor que uno, usando el índice de depresión exogámica (Ramírez y Nassar, 2016): $IDEx = 1 - (1/(w_s/w_c))$. Los valores de ambos índices son mayores de cero y menores de uno.

La eficiencia natural en la producción de frutos y semillas. La eficiencia reproductiva natural (definida aquí como la producción de frutos por flor y la producción de semillas por óvulos medida bajo condiciones naturales) fue evaluada con relación a la eficiencia de las pruebas experimentales (Ramírez y Nassar, 2016). En este sentido, la eficiencia reproductiva natural de frutos y semillas fue contrastada con la eficiencia en la producción de frutos y semillas de las pruebas experimentales, y las siguientes relaciones fueron determinadas: (1) eficiencia de flores emasculadas/eficiencia natural, (2) eficiencia de flores aisladas de la actividad de polinizadores/eficiencia natural, (3) eficiencia de flores autopolinizadas manualmente/eficiencia natural y (4) eficiencia de flores bajo polinización cruzada/eficiencia natural. Las siguientes cuatro posibles alternativas pueden ser obtenidas para cada una de las relaciones señaladas. (1) Cero, la prueba experimental no contribuye con la eficiencia natural. (2) Valores mayores de cero y menores de uno, la prueba experimental puede contribuir parcialmente con la eficiencia natural. (3) Uno, la prueba experimental puede tener un rol primario en la eficiencia natural. (4) mayor de uno, la prueba experimental dirigida es mayor que la producción natural, lo cual indica déficit en la eficiencia o polinización natural.

RESULTADOS

Dicogamia y hercogamia. Las flores de las cuatro especies de Bromeliaceae tienen diferentes colores, además de la coloración llamativa de las brácteas asociadas a las flores. La variación temporal (dicogamia) y espacial (hercogamia) en la expresión sexual mostró diferentes combinaciones: *T. funckiana* y *C. nutans* son protandras y hercógamas [separación antera – estigma en milímetros: *C. nutans* ($\blacktriangle = 0.5$, $ds = 0.1$) y *T. funckiana* ($\blacktriangle = 3.5$, $ds = 0.9$)]. Por el contrario, *T. elongata* var. *subimbricata* y *T. schiedeana* son adicógamas, siendo la primera hercogama ($\blacktriangle = 0.4$, $ds = 0.1$) y la segunda no hercógama ($\blacktriangle = 0$, $ds = 0$). Sin embargo, la hercogamia y la dicogamia son consideradas incompleta ya que fue observado solapamiento de los órganos sexuales en algún momento de la vida floral.

Pruebas experimentales. Los resultados de las pruebas experimentales para las cuatro especies de Bromeliaceae están en la Tabla 1. Ninguna de las especies estudiadas produjo frutos ni semillas en flores emasculadas, por lo tanto no hay evidencias de agamosperma. Las tres especies de *Tillandsia* mostraron niveles variables de producción de frutos y semillas por autopolinización espontánea, mientras que *C. nutans* no mostró autopolinización espontánea. El mayor valor de autopolinización espontánea a nivel de frutos y semillas fue observado en *T. elongata* var. *subimbricata*, seguido por *T. schiedeana*; un porcentaje de autopolinización espontánea menor al 8% ocurrió en *T. funckiana*. De forma similar, las tres especies de *Tillandsia* mostraron niveles variables de producción de frutos y semillas por autopolinización manual, mientras que *C. nutans* no

produjo frutos ni semillas por autopolinización. La eficiencia de la autopolinización manual en las tres especies de *Tillandsia* fue diferente para frutos y semillas. El porcentaje de frutos producidos fue mayor para *T. schiedeana* seguido por *T. elongata* var. *subimbricata* y un valor comparativamente más bajo resultó en *T. funckiana*. En contraste, la producción de semillas por óvulo en flores bajo autopolinización manual fue mayor en *T. elongata* var. *subimbricata* seguido por *T. schiedeana*, y el menor nivel de semillas por óvulo fue para *T. funckiana*. Los porcentajes de frutos por flor y semillas por óvulo por polinización cruzada solo fueron evaluados en las tres especies de *Tillandsia*. Los niveles de producción de frutos y semillas de la polinización cruzada resultaron superiores al 50% para cada una de las especies. Los mayores porcentajes fueron encontrados en *T. funckiana*, seguido por *T. elongata* var. *subimbricata* y *T. schiedeana*.

Tabla 1. Resultados de las pruebas experimentales para cuatro especies de Bromeliaceae.

Pruebas experimentales	Especies			
	<i>T. elongata</i> var. <i>subimbricata</i>	<i>T. funckiana</i>	<i>T. schiedeana</i>	<i>C. nutans</i>
Promedio de óvulos/flor	95,5	141,6	103,5	*
Producción de frutos/flor (%)				
Emasculadas	0/15(0,0)	0/32(0,0)	0/20(0,0)	0/20(0,0)
Autopolinización espontánea	30/47(63,8)	3/38(7,9)	13/42(30,9)	0/36(0,0)
Autopolinización manual	9/21(42,9)	4/23(17,4)	25/43(58,1)	0/12(0,0)
Polinización cruzada	9/14(64,3)	11/13(84,6)	22/41(53,7)	*
Eficiencia natural	45/90(50,0)	52/100(52,0)	19/43(44,2)	90/164(54,9)
Producción de semillas				
Emasculadas	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)
Autopolinización espontánea	2660(59,3)	341(6,7)	1003(23,1)	0(0,0)
Autopolinización manual	812(40,5)	433(13,3)	1520(34,2)	0(0,0)
Polinización cruzada	830(62,1)	1474(80,1)	2271(53,5)	*
Eficiencia natural	4158(48,4)	6480(45,8)	2270(51,0)	12177(*)

*- Información no disponible

Sistemas reproductivos. Los índices reproductivos y las correspondientes categorías reproductivas están detallados en la Tabla 2. Los resultados de las pruebas estadísticas mostraron que ninguna de las especies estudiadas es agamosperma. El índice de autopolinización espontánea mostro que *C. nutans* no presenta autopolinización espontánea. Por el contrario, autopolinización espontánea parcial fue determinada en *T. funckiana* y *T. schiedeana*. Los índices mayores de uno en *T. elongata* var. *subimbricata* indican que la eficiencia de la autopolinización dirigida o manual está parcialmente limitada, es decir, la autopolinización espontánea es más eficiente que la autopolinización dirigida. En el caso del índice de autofertilidad fue determinado xenogamia parcial para las tres especies de *Tillandsia*. Sin embargo, en *T. funckiana* el índice de autofertilidad a nivel de fruto correspondió a la categoría de xenogamia y el índice a nivel de semilla mostró un valor muy bajo cercano a la xenogamia, lo cual permite ubicar a *T. funckiana* en la categoría de xenogamia. En contraste, los altos valores de los índices de autofertilidad parcial, cercanos a uno muestran una tendencia a la autogamia en *T. elongata* var. *subimbricata*. El índice de autoincompatibilidad mostro que

las tres especies de *Tillandsia* pueden ser consideradas parcialmente autoincompatibles, aunque los bajos valores de los índices en *T. funckiana* muestran niveles cercanos a la autoincompatibilidad. Por otra parte, el índice de autoincompatibilidad a nivel de fruto para *T. schiedeana* resultó en la categoría de parcialmente exoincompatible, definido por valores de eficiencia bajos para la polinización cruzada relativo a la autopolinización manual (Ramírez y Nassar, 2016). No obstante, este índice presentó un valor cercano a uno, el cual está en el límite de la autocompatibilidad.

Tabla 2. Índices reproductivos a nivel de frutos y semillas y sus categorías respectivas establecidas estadísticamente para cuatro especies de Bromeliaceae.

Especies	Índices Reproductivos									
	Agamosperma ¹		Autopolinización espontánea ²		Autofertilidad ³		Autoincompatibilidad ⁴		Depresión endogámica ⁵	
	Fruto	Semilla	Fruto	Semilla	Fruto	Semilla	Fruto	Semilla	Fruto	Semilla
<i>C. nutans</i>	0.00 ^{NAG}	0.00 ^{NAG}	0.00 ^{SAE}	0.00 ^{SAE}	*	*	*	*	*	*
<i>T. elongata</i> var. <i>subimbricata</i>	0.00 ^{NAG}	0.00 ^{NAG}	1.49 ^{AAPL}	1.46 ^{AAPL}	0.99 ^{PX}	0.95 ^{PX}	0.67 ^{PAI}	0.65 ^{PAI}	0.33 ^{DE}	0.35 ^{DE}
<i>T. funckiana</i>	0.00 ^{NAG}	0.00 ^{NAG}	0.45 ^{AEP}	0.48 ^{AEP}	0.09 ^X	0.08 ^{PX}	0.21 ^{PAI}	0.17 ^{PAI}	0.79 ^{DE}	0.83 ^{DE}
<i>T. schiedeana</i>	0.00 ^{NAG}	0.00 ^{NAG}	0.53 ^{AEP}	0.68 ^{AEP}	0.58 ^{PX}	0.43 ^{PX}	1.08 ^{PEI}	0.64 ^{PAI}	0.08 ^{**}	0.36 ^{DE}

1 NAG = No agamosperma. 2 SAE = sin autopolinización espontánea, AEP = autopolinización espontánea parcial, AAPL = autopolinización asistida parcialmente limitada. 3 X = xenógama, PX = parcialmente xenógama. 4 PAI = parcialmente autoincompatible. PEI = parcialmente exoincompatible. 5 DE = depresión endogámica. *Datos no disponibles, ** = valor de depresión exogámica.

Depresión por endogamia. Las tres especies de *Tillandsia* mostraron niveles de depresión endogámica a nivel de fruto y semilla, a excepción de *T. schiedeana* que mostro depresión exogámica a nivel de fruto (Tabla 2). Los mayores valores de depresión endogámica fueron encontrados a nivel de frutos y semillas en *T. funckiana*. En contraste, *T. schiedeana* mostro valores muy bajos de depresión exogámica a nivel de frutos (ver métodos para detalles), asociados con niveles intermedios de depresión endogámica a nivel de semilla.

La Eficiencia natural. La producción natural de frutos por flor mostro valores similares y cercanos al 50% para todas las especies, con la excepción de *T. schiedeana* con el 44.2% de frutos producidos por flor. Similarmente, la producción de semillas por óvulo fue muy parecida para las tres especies de *Tillandsia* (Tabla 1).

La producción natural de frutos y semillas y su relación con las características del sistema reproductivo mostro diferentes resultados en las especies estudiadas (Tabla 3). La producción de semillas sin polinización (agamosperma) no tiene efecto en la eficiencia natural en ninguna de las cuatro especies. La autopolinización espontánea no tiene efecto en la producción natural de frutos y semillas de *C. nutans* y una contribución parcial de la autopolinización espontánea a la producción natural de frutos y semillas en *T. funckiana* y *T. schiedeana*, no obstante, esta contribución es baja para la producción natural de semillas en *T. funckiana*. Índices mayores de uno en *T. elongata* var. *subimbricata* muestran una autopolinización espontánea mayor que la eficiencia

natural, la cual indica fallas o deficiencia en la eficiencia natural. La autopolinización inducida no contribuye con la producción natural de frutos y semillas en *C. nutans*. La autopolinización dirigida o manual tiene una contribución parcial en la producción de frutos y semillas en *T. elongata* var. *subimbricata* y *T. funkiana* y a nivel de semillas en *T. schiedeana*, siendo menor la contribución de la autopolinización dirigida a la producción natural de frutos y semillas en *T. funkiana*. Por el contrario, la eficiencia de flores autopolinizadas manualmente fue mayor que la producción natural de frutos para *T. schiedeana*, lo cual indica deficiencia en la contribución de la polinización natural a la eficiencia reproductiva. La relación de los valores de eficiencia para la polinización cruzada/polinización natural mostro deficiencia en la polinización natural para todas las especies, es decir la eficiencia en la producción de frutos y semillas de la polinización natural es inferior a la obtenida por polinización cruzada en las especies estudiadas para las localidades y periodo reproductivo examinado. Es importante señalar que la relación entre valores de eficiencia de polinización cruzada y polinización natural a nivel de semilla resultó muy cercano a uno para *T. schiedeana*, lo cual revela que la polinización cruzada puede tener un rol primario en la eficiencia reproductiva natural.

Tabla 3. Relación entre cuatro tipos de producción experimental de frutos y semillas y la eficiencia reproductiva natural de frutos y semillas para cuatro especies de Bromeliaceae.

Especies	Agamospermia		Autopolinización espontánea		Autopolinización dirigida		Polinización cruzada	
	Fruto	Semilla	Fruto	Semilla	Fruto	Semilla	Fruto	Semilla
<i>C. nutans</i>	0.00 ^{SP}	0.00 ^{SP}	0.00 ^{SP}	0.00 ^{SP}	0.00 ^{SP}	0.00 ^{SP}	*	*
<i>T. elongata</i> var. <i>subimbricata</i>	0.00 ^{SP}	0.00 ^{SP}	1.28 ^{DP}	1.22 ^{DP}	0.86 ^{PC}	0.84 ^{PC}	1.29 ^{DP}	1.28 ^{DP}
<i>T. funkiana</i>	0.00 ^{SP}	0.00 ^{SP}	0.40 ^{PC}	0.14 ^{PC}	0.33 ^{PC}	0.29 ^{PC}	1.62 ^{DP}	1.75 ^{DP}
<i>T. schiedeana</i>	0.00 ^{SP}	0.00 ^{SP}	0.70 ^{PC}	0.45 ^{PC}	1.32 ^{DP}	0.67 ^{PC}	1.21 ^{DP}	1.05 ^{DP}

SP = sin contribución a la eficiencia natural, PC = Parcial contribución a la eficiencia natural, DP = deficiencia en la eficiencia o polinización natural.

* Datos no disponibles.

DISCUSIÓN

Los resultados sobre los sistemas reproductivos en las cuatro especies de Bromeliaceae mostraron ausencia de agamospermia, niveles variables de autopolinización espontánea, xenogamia parcial y autoincompatibilidad parcial en las tres especies de *Tillandsia*. La ausencia de agamospermia en las especies estudiadas concuerda con la ausencia de reproducción asexual por semillas reportada (Firetti, 2018), sin embargo, hay casos de agamospermia en Bromeliaceae (Rogalski *y col.*, 2009) y por lo tanto no se puede descartar este modo de reproducción en otros representantes de esta familia de plantas. Por el contrario, la autopolinización espontánea es frecuente en algunas especies de Bromeliáceas (Matallana *y col.* 2010; Wolowski *y col.*, 2013) e incluso la cleistogamia puede ser un modo reproductivo en *Tillandsia* (Bianchi y Vesprini, 2014). En el presente estudio, los índices de autopolinización espontánea mostraron niveles que

incluyen los extremos del espectro. La ausencia de autopolinización espontánea en *C. nutans* podría estar asociada con autoincompatibilidad total unido con la combinación hercogamia – protandria, mecanismos que evitan la interferencia polen – estigma (Lloyd y Webb 1986; Webb y Lloyd 1986; Ramírez y Seres 1994; Barrett, 2003). Las dos especies de *Tillandsia* con autopolinización espontánea parcial exhibieron características florales contrastantes en cuanto a la variación espacial y temporal en la maduración sexual. La combinación hercogamia – protandria encontrada en *T. funckiana* y el mayor valor de hercogamia contrasta con *C. nutans* que posee la misma combinación hercogamia – dicogamia, pero sin autopolinización espontánea. Por lo tanto, la autopolinización espontánea parcial en *T. funckiana* podría estar asociada con la autoincompatibilidad parcial y el solapamiento parcial de la separación espacial y temporal de los órganos sexuales. Estas últimas características corresponden con dicogamia y hercogamia incompletas (Lloyd y Webb, 1986; Webb y Lloyd, 1986) y han sido encontradas en el género *Tillandsia* (Bianchi y Vesprini, 2014). En contraste, la autopolinización espontánea parcial en *T. schiedeana* parece ocurrir en parte por la ausencia de hercogamia y dicogamia; esto podría estar relacionado con cierto nivel de autoincompatibilidad genética (Ramírez y Nassar, 2016) y depresión endogámica. El valor extremo del índice de autopolinización espontánea en *T. elongata* var. *subimbricata* donde la autopolinización dirigida está parcialmente limitada ha sido relacionada con un efecto mecánico negativo de la autopolinización dirigida (Ramírez y Nassar, 2016). En esta especie la autopolinización espontánea es facilitada por la adicogamia, pero puede estar restringida por la hercogamia, aunque la autopolinización espontánea puede ocurrir en flores hercogamas o hercogamas incompletas. De hecho, la hercogamia y dicogamia han sido consideradas como mecanismos parciales en la promoción de la polinización cruzada en *Tillandsia streptophylla* (Ramírez-Morillo y col., 2009). De acuerdo a lo anterior, la autopolinización manual parcialmente limitada en *T. elongata* var. *subimbricata* está relacionada con el posible efecto mecánico de la autopolinización manual y la ausencia de barreras rígidas que evitan la autopolinización.

La xenogamia es un sistema de apareamiento frecuente en angiospermas (Ramírez y Nassar, 2016). Las tres especies del género *Tillandsia* fueron caracterizadas como parcialmente xenógamas de acuerdo a los resultados de los análisis estadísticos, excepto *T. funckiana* que resultó xenógama a nivel de frutos. Al mismo tiempo, *T. funckiana* presentó un índice de autoincompatibilidad a nivel de semillas cercano a cero, lo que indica autoincompatibilidad de acuerdo a los criterios empleados (Ramírez y Nassar, 2016). De acuerdo a lo anterior, *T. funckiana* puede ser considerada como xenógama. Por otra parte, aunque no hay información completa para el cálculo del índice de autofertilidad en *C. nutans*, un valor de cero para la autopolinización manual, permite extrapolar que el índice de autofertilidad resulte cero y consecuentemente

ser consideradas como una especie xenógama. La variación en los valores del índice de autofertilidad en las especies de Bromeliáceas analizadas puede estar relacionada con los niveles de autoincompatibilidad y las características florales reproductivas. Valores muy bajos cercanos a la xenogamia en *T. funckiana* pueden estar asociados con los bajos valores del índice de autoincompatibilidad y con la condición hercógama y protandra, tal como ocurre en *C. nutans*. Valores intermedios del índice de autofertilidad permiten establecer con certeza la xenogamia parcial en *T. schiedeana*, la cual puede estar asociada por una parte con la adicogamia y no hercogamia combinada con niveles de exoincompatibilidad parcial a nivel de frutos que promueven la autopolinización, así como con niveles de autoincompatibilidad parcial a nivel de semillas que podrían contribuir con la polinización cruzada. Los altos valores de los índices de autofertilidad a nivel de frutos y semillas en *T. elongata* var. *subimbricata* corresponden con la condición autógena, lo cual puede estar asociado con altos niveles de autopolinización espontánea, combinada con la adicogamia y baja separación espacial de anteras y estigma.

La autoincompatibilidad ha sido registrada en especies de *Tillandsia* (Aizen y Feinsinger, 1994; Bianchi y Vesprini, 2014), lo cual es aproximada con los resultados obtenidos en el presente estudio. La autoincompatibilidad parcial fue la categoría más frecuente del índice de autoincompatibilidad en un estudio con numerosas especies (Ramírez y Nassar, 2016). Es precisamente en esta categoría donde fueron clasificadas las tres especies de *Tillandsia* estudiadas. Sin embargo, los niveles de autoincompatibilidad parcial mostraron variaciones. Los menores valores de los índices de autoincompatibilidad para frutos y semillas en *T. funckiana* indican niveles cercanos a la autoincompatibilidad, los cuales están asociados con protandria y hercogamia; ambos atributos florales evitan la interferencia polen - estigma (Lloyd y Webb, 1986; Webb y Lloyd, 1986; Barrett, 2003) y son particularmente importantes para evitar reacciones de autoincompatibilidad. La autoincompatibilidad parcial está claramente establecida a nivel de semilla para *T. elongata* var. *subimbricata*, la cual está acompañada de hercogamia, mecanismo que permite evitar la interferencia polen - estigma (Lloyd y Webb, 1986; Webb y Lloyd 1986; Barrett, 2003). En contraste, la autoincompatibilidad parcial en *T. schiedeana* establecida a nivel de semilla contrasta con la condición parcialmente exoincompatible determinada a nivel de fruto, valor muy cercano a la autocompatibilidad. Aparentemente, en esta especie se combinan mecanismos florales asociados con la autopolinización y diferentes eficiencias en la producción de frutos y semillas asociadas con la autopolinización y polinización cruzada. De acuerdo a lo anterior, los sistemas reproductivos en las especies de Bromeliaceae muestran un proceso combinado, compuesto por la autopolinización espontánea, autopolinización dirigida y polinización cruzada. Cada especie presenta características particulares en las cuales la importancia de cada tipo de

cruce junto con mecanismos florales como la hercogamia y dicogamia, determinan variaciones en la constitución genética de la progenie.

La depresión endogámica es asociada con especies que normalmente tienen polinización cruzada. Los valores de depresión endogámica a nivel de semillas son considerados un estimado apropiado para medir el vigor de poblaciones xenógamas (Ramírez y Nassar, 2016). La depresión endogámica en las tres especies de *Tillandsia* mostraron relación con los niveles de autoincompatibilidad, siendo mayor en *T. funckiana*, especie cercana a la autoincompatibilidad y con mecanismos florales que previenen la autopolinización. De hecho, es ampliamente reconocido que la depresión endogámica es frecuente en especies donde usualmente ocurre la polinización cruzada (Richards, 1997). Mayores niveles de depresión endogámica en *T. funckiana* también pueden estar relacionados con la condición terrestre y un desarrollo clonal prolifero, asociado con la capacidad colonizadora de terraplenes en el arbustal xerofítico. Estos caracteres contrastan con las dos especies epifitas relativamente aisladas en árboles portadores y con aves polinizadoras que comparten con muchas otras especies epifitas. Tales características ecológicas pueden promover altos niveles de autopolinización que podrían promover la eliminación de alelos deletéreos. Sin embargo, un muy bajo nivel de depresión exogámica en *T. schiedeana* a nivel de fruto podría representar la ausencia de algún efecto deletéreo de la autopolinización asociado con altos niveles de autocompatibilidad.

La producción natural de frutos y semillas en las cuatro especies presentaron valores intermedios, cercanos al 50%, lo cual es mayor a lo encontrado en especies hermafroditas, autoincompatibles y polinizadas por aves (Sutherland, 1986). Las flores tubulares, sin aroma, con pétalos y brácteas de colores llamativos, rojo, amarillo, anaranjado y azul de las especies estudiadas concuerdan con el síndrome de ornitofilia (Faegri y van der Pijl, 1979). La producción de frutos en muchas especies ornitófilas (Ramírez, 1995) es inferior a lo encontrado en el presente estudio, aunque la producción de semillas por óvulo es superior en la muestra de diversas especies (Ramírez, 1995). Sin embargo, la producción de frutos y semillas puede ser considerablemente variables entre especies ornitófilas (Grases y Ramírez, 1998). En contraste, valores similares en la producción de frutos por flor y semillas por óvulo en las especies estudiadas puede ser atribuido a la afinidad taxonómica y principalmente a los niveles de compatibilidad encontrados en las especies de *Tillandsia*. Sin embargo, la eficiencia reproductiva natural de cada especie difiere en cuanto a la contribución relativa de cada uno de los mecanismos involucrados en la producción de frutos y semillas.

La agamosperma no contribuye a la producción de semillas, lo cual concuerda con la ausencia de esta forma de reproducción en las especies estudiadas. Por otra parte, la autopolinización espontánea contribuye

parcialmente en la producción de frutos y semillas en *T. funckiana* y *T. schiedeana*. Sin embargo, la contribución de la autopolinización espontánea a la eficiencia reproductiva natural es mayor en *T. schiedeana* comparada con *T. funckiana*, lo cual está asociado con los niveles de autopolinización espontánea. En contraste, los altos niveles de autopolinización espontánea superiores a la eficiencia natural en *T. elongata* var. *subimbricata* sugiere que la reducida eficiencia natural está determinada por factores diferentes al sistema reproductivo (Ramírez y Nassar, 2016), tal como la depredación de semillas o herbivoría. Es decir, la eficiencia natural es afectada negativamente por agentes externos diferentes al sistema reproductivo. La contribución parcial de la autopolinización dirigida a la eficiencia reproductiva natural es diferente en las especies de Bromeliaceae y parece depender de los niveles de autoincompatibilidad de cada especie, así como de la eficiencia de los polinizadores. En *C. nutans* la producción natural de frutos y semillas no depende de la autopolinización, por lo tanto la condición xenógama determina la producción de frutos. Consecuentemente, la producción de frutos depende principalmente de la actividad de los polinizadores en *C. nutans*. No obstante, en las especies de *Tillandsia* con niveles muy variables de autopolinización a nivel de frutos (17.4-58.1%) y semillas (13.3-40.5%), mostraron menor variación en la eficiencia natural en la producción de frutos por flor (44.2-52.0%) y semillas por óvulo (48.4-51.0%). Este resultado contrasta con lo esperado, donde especies obligadas al entrecruzamiento presentan menores niveles de producción de frutos que especies con la capacidad de autopolinización (Sutherland, 1986). En este sentido, la contribución variable de la autopolinización dirigida a la eficiencia reproductiva natural en las especies de *Tillandsia* parece estar relacionada solo parcialmente con los niveles de autofertilidad y que la eficiencia reproductiva natural parece resultar de la contribución de los diferentes formas de producción de frutos y semillas presentes en cada especie.

La relación entre la eficiencia reproductiva en la producción de frutos y semillas por polinización cruzada y la eficiencia reproductiva natural mostro valores indicativos de disminución en la producción de frutos y semillas en las especies de *Tillandsia*. La deficiencia en la polinización natural ocurrió a pesar que las especies de *Tillandsia* tienen diferentes niveles de autopolinización espontánea y autopolinización dirigida que podrían minimizar la deficiencia de la polinización natural. Esta particularidad en las tres especies de *Tillandsia* parece obedecer a las características genéticas del sistema reproductivo, mecanismos florales como hercogamia y dicogamia, junto con la actividad de los polinizadores. La mayor deficiencia en la eficiencia natural en *T. funckiana* está relacionada con altos niveles de autoincompatibilidad, xenogamia, hercogamia y protandria que condicionan la producción natural de frutos y semillas a la actividad efectiva de los polinizadores. En contraste, *T. schiedeana* la polinización cruzada mostró niveles óptimos en la

producción de semillas, mientras que la polinización cruzada resultó deficiente para la producción de frutos. Por lo tanto, la actividad y calidad de la polinización parece tener niveles adecuados para la producción de semillas, contrariamente, la producción de frutos está limitada por la efectividad de la polinización cruzada.

La disparidad en el rol que desempeña la polinización cruzada en la eficiencia reproductiva natural de frutos y semillas puede estar relacionada con la calidad y cantidad de las cargas de polen depositadas sobre los estigmas. Estudios previos han demostrado que la formación de frutos está limitada por la carga de polen, siendo mayor la producción de frutos formados cuando la carga de polen es suficientemente grande para cubrir la producción del mayor número de semillas por fruto (Snow, 1982; McDade, 1983). En este sentido, las tres especies de *Tillandsia* tienen muchos óvulos por ovario que requieren de grandes cargas de polen para una elevada producción de semillas por fruto. Sin embargo, la eficiencia reproductiva natural a nivel de fruto resultó menor que a nivel de semillas en *T. schiedeana*. Además, los valores de eficiencia reproductiva natural a nivel de fruto eran inferiores a los valores de eficiencia de la autopolinización y polinización cruzada respectivamente. Por lo tanto, la relación entre de la eficiencia reproductiva natural y la polinización cruzada a nivel de fruto puede estar asociada con la calidad y cantidad de granos de polen depositados sobre los estigmas en *T. schiedeana*. En este sentido, la producción de frutos parece estar condicionada por la deposición de una elevada carga de polen sobre los estigmas que permita el desarrollo de frutos con bajos niveles de aborto de óvulos y alta producción de semillas.

En conclusión, ninguna de las especies produjo semillas por agamosperma. Las especies tienen un sistema reproductivo parcialmente autoincompatible, parcialmente xenógamo y la autopolinización espontánea puede ser parcial o estar parcialmente limitada. Sin embargo, los índices reproductivos mostraron ligeras variaciones. Además, los valores de depresión endogámica resultaron similares para las tres especies de *Tillandsia*. La producción natural de frutos y semillas es aproximadamente similar en las tres especies de *Tillandsia*, pero la contribución de la autopolinización espontánea, autopolinización dirigida y polinización cruzada varió de acuerdo a la especie de planta.

AGRADECIMIENTOS

Gracias a dos árbitros anónimos por sus observaciones. A B. Holts y Y. Vivas por la identificación de las especies. A W. Durán por la asistencia técnica de Laboratorio.

LITERATURA CITADA

- Aizen, M.A. y P. Feinsinger. 1994. Forest fragmentation, pollination, and plant reproduction in a Chaco dry forest, Argentina. *Ecology* 75: 330–351.
- Barrett, S.C.H. 2003. Mating strategies in flowering plants: the outcrossing-selfing paradigm and beyond. *Philos. Trans. Roy. Soc. London B*. 358: 991-1004.
- Benzing, D.H. 2000. Bromeliaceae: profile of an adaptive radiation. University Press Cambridge, Cambridge.
- Bianchi, M.B. y J.L. Vesprini. 2014. Contrasting breeding systems in six species of *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) from woody areas of Santa Fe Province: Argentina. *Plant Biosystems* 148: 956-964.
- Charlesworth, D. y B. Charlesworth. 1987. Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 18: 237-268.
- Faegri, K. y L. van der Pijl. 1979. The principles of pollination ecology. Third Edition. Pergamon Press. Oxford.
- Firetti, F. 2018. Apomixis in neotropical vegetation, in: Vegetation, Charter 7, 129-149. Published by Intech. DOI: 10.5772/intechopen.69411
- Grases, C. y N. Ramírez. 1998. Biología Reproductiva de cinco especies ornitófilas en un fragmento de bosque caducifolio secundario en Venezuela. *Rev. Biol. Trop.* 46: 1093-1106.
- Holst, B.K. y H.E. Luther. 2004. Bromeliaceae. En: *Flowering plants of the neotropics*. N. Smith, S. A. Mori, A. Henderson, D. Wm. Stevenson & S. V. Heald, (Eds.). Princeton University Press, Princeton, New Jersey. Pp. 418-421.
- Jaimes, I. y N. Ramírez. 1999. Breeding systems in a secondary deciduous forest in Venezuela: The importance of life form, habitat, and pollination specificity. *Plant Syst. Evol.* 215: 23-36.
- Lloyd, D.G. and C.J. Webb. 1986. The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigma in angiosperms I. Dichogamy. *New Zealand J. Bot.* 24: 135-162.
- McDade, L.A. 1983. Pollination intensity and seed set in *Trichanthera gigantea* (Acanthaceae). *Biotropica* 15: 122-124.
- Matallana, G., M.A.S. Godinho, F.A.G. Guillerme, M. Belisario, T.S. Coser, y T. Wendt. 2010. Breeding systems of Bromeliaceae species: evolution of selfing in the context of sympatric occurrence. *Plant Syst. Evol.* 289: 57-65.
- Ramírez, N. 1995. Producción y costo de frutos y semillas entre modos de polinización en 232 especies de plantas tropicales. *Rev. Biol. Trop.* 43: 151-159.
- Ramírez, N. y A. Seres. 1994. Plant Reproductive biology of herbaceous monocots in a Venezuelan tropical cloud forest. *Plant Syst. Evol.* 190: 129-142.
- Ramírez, N. y J. Nassar. 2016. Breeding systems in angiosperms: novel inferences from a new analytical approach. *Plant Syst. Evol.* 303: 119-137.
- Ramírez-Morillo, I.M., F. Chi-May, G. Carnevali y F. May-Pat. 2009. It takes two to tango: self-incompatibility in the bromeliad *Tillandsia streptophylla* (Bromeliaceae) in Mexico. *Rev. Biol. Trop.* 57: 761-770.
- Richards, A.J. 1997. Plant breeding systems. Second Edition, Chapman & Hall, London, UK.
- Rogalski, J.M., A. Reis, M. Sedres dos Reis y K.V. Hmeljevski. 2009. Biología reproductiva da reófito *Dyckia brevifolia* Baker (Bromeliaceae), no rio Itajaí-Açu, Santa Catarina, Brasil. *Rev. Brasil. Bot.* 32: 691-702.
- Ruiz-Zapata, T. y M. K. Arroyo. 1978. Plant reproductive ecology of a secondary deciduous tropical forest in Venezuela. *Biotropica* 10: 221-230.
- Snow, A. 1982. Pollination intensity and potential seed set in *Passiflora vitifolia*. *Oecologia* 55: 231-237.

- Soltis, D.E., A.J. Gilmartin, L. Rieseberg y S. Gardner 1987. Genetic variation in the epiphytes *Tillandsia ionantha* and *T. recurvata* (Bromeliaceae). *Am. J. Bot.* 74: 531-537.
- Sutherland, S. 1986. Patterns of fruit-set: What controls fruit-flower ratios in plants? *Evolution* 40: 117-128.
- Webb, C.J. y D.G. Lloyd. 1986. The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigma in angiosperms II. Herkogamy. *New Zealand J. Bot.* 24: 163-178.
- Wolowski, M., C.F. Saad, T.L. Ashman y L. Freitas. 2013. Predominance of self-compatibility in hummingbird-pollinated plants in the neotropics. *Naturwissenschaften* 100: 69-79.